

**INDUKSI KALUS PRIMER PADA EKSPLAN DAUN KOPI ROBUSTA
KLON BP 358 SEBAGAI RESPONS TERHADAP JENIS DAN
KONSENTRASI SITOKININ DALAM
MEDIA DASAR NPCM**

(Skripsi)

Oleh

**MUHAMMAD ALIPHA HAPIYATNA
1854161008**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

INDUKSI KALUS PRIMER PADA EKSPLAN DAUN KOPI ROBUSTA KLON BP 358 SEBAGAI RESPONS TERHADAP JENIS DAN KONSENTRASI SITOKININ DALAM MEDIA DASAR NPCM

Oleh

MUHAMMAD ALIPHA HAPIYATNA

Perbanyak tanaman kopi robusta secara *in vitro* melalui jalur regenerasi embriogenesis somatik sangat dipengaruhi oleh penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) dan konsentrasinya. Induksi kalus primer merupakan salah satu tahapan yang penting dalam perbanyak tanaman kopi robusta secara *in vitro* melalui embriogenesis. Induksi kalus primer dapat dilakukan dengan penggunaan kombinasi auksin dan sitokinin, ataupun penggunaan sitokinin tunggal. Respons setiap tanaman terhadap penggunaan ZPT dan konsentrasinya tentu berbeda-beda antar spesies. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis sitokinin (BA dan 2-iP) yang lebih baik untuk menginduksi kalus primer kopi robusta secara *in vitro*, mengetahui konsentrasi yang terbaik untuk menginduksi kalus primer, dan mengetahui interaksi antara jenis dan konsentrasi sitokinin untuk menginduksi kalus primer kopi robusta klon BP 358 secara *in vitro*. Eksplan dipotong berukuran 1 x 1 cm, yang mengandung tulang daun bagian tengah dan ditanam dalam media dasar Samson *et al.* (2006). Rancangan penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL) faktorial 2x4. Faktor pertama yaitu jenis sitokinin (BA dan 2-iP) dan faktor kedua yaitu konsentrasi sitokinin (0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, 2 mg/l) dengan 3 ulangan. Kombinasi perlakuan pada penelitian ini yaitu BA 0,5 mg/l; BA 1 mg/l; BA 1,5 mg/l; BA 2 mg/l; 2-iP 0,5 mg/l; 2-iP 1 mg/l; 2-iP 1,5 mg/l; dan 2-iP 2 mg/l. Masing-masing ulangan terdiri 5 botol kultur yang ditanami 3 eksplan per botol. Homogenitas data diuji menggunakan Uji Bartlett, kemudian dilakukan uji analisis

ragam dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media induksi kalus primer dengan penambahan BA 0,5 mg/l; BA 1 mg/l; BA 1,5 mg/l; BA 2 mg/l; 2-iP 0,5 mg/l; 2-iP 1 mg/l; 2-iP 1,5 mg/l; dan 2-iP 2 mg/l mampu menginduksi kalus primer dengan persentase 100%. Penambahan media dengan jenis sitokinin 2-iP dan konsentrasi 2 mg/l menghasilkan pembentukan kalus primer tercepat, menghasilkan pembentukan kalus primer per eksplan (skoring) tertinggi pada 4 MST, dan menghasilkan bobot segar kalus primer tertinggi pada 8 MST.

Kata kunci: BA, 2-iP, kalus primer, robusta, BP 358, *In Vitro*

**INDUKSI KALUS PRIMER PADA EKSPLAN DAUN KOPI ROBUSTA
KLON BP 358 SEBAGAI RESPONS TERHADAP JENIS DAN
KONSENTRASI SITOKININ DALAM
MEDIA DASAR NPCM**

Oleh

MUHAMMAD ALIPHA HAPIYATNA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Agronomi dan Hortikultura
Fakultas Pertanian, Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi

: INDUKSI KALUS PRIMER PADA EKSPLAN DAUN KOPI ROBUSTA KLON BP 358 SEBAGAI RESPONS TERHADAP JENIS DAN KONSENTRASI SITOKININ DALAM MEDIA DASAR NPCM

Nama Mahasiswa

: Muhammad Alifha Hapiyatna

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1854161008

Program Studi

: Agronomi

Fakultas


: Pertanian



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua


Prof. Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.

NIP 196104021986031003


Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.

NIP 196108031986032002

2. Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura



Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.

NIP 196110211985031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

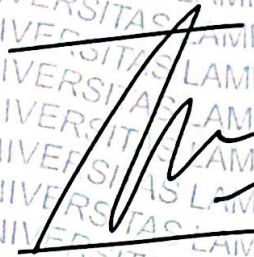
Ketua

: Prof. Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.



Sekretaris

: Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.



Penguji

Bukan Pembimbing : Dr. Sri Ramadiana, S.P., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 27 Februari 2023

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Induksi Kalus Primer pada Ekspan Daun Kopi Robusta Klon BP 358 sebagai Respons terhadap Jenis dan Konsentrasi Sitokinin dalam Media Dasar NPCM”** merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil Salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 01 Maret 2023
Penulis



Muhammad Alipha Hapiyatna
NPM 1854161008

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bogor pada tanggal 14 Maret 1999, merupakan anak pertama dari lima bersaudara dari Bapak Suyatman dan Ibu Iin Parlina. Pendidikan yang ditempuh penulis adalah SD Negeri 1 Nanggung (2005-2011), MTs Negeri 2 Bogor (2011-2014), SMA Negeri 1 Cibungbulang (2014-2017). Pada tahun 2018, penulis diterima di Universitas Lampung (UNILA) melalui jalur SMM PTN-BARAT (Seleksi Masuk Mandiri Perguruan Tinggi Negeri di Wilayah Barat Indonesia) sebagai mahasiswa Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian.

Pada tahun 2021 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Way Halim, Kecamatan Way Halim, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung yang dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan bulan Maret. Pada tahun yang sama penulis melaksanakan Praktik Umum di Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Lampung yang sudah berganti nama menjadi Badan Standarisasi Instrumen Pertanian (BSIP) Lampung, dengan judul “Tahapan Pasca Panen Kedelai Varietas Biosoy 1 di Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian Tegineneng” yang dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan bulan September. Selain itu penulis juga aktif di organisasi kemahasiswaan Himpunan Mahasiswa Agronomi dan Hortikultura (HIMAGRHO).

Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Teknik Perbanyakan Tanaman kelas Agrotektonogi pada tahun 2021. Pada tahun 2022 penulis kembali menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Kultur Jaringan dan Teknologi Kultur Jaringan kelas Agronomi (angkatan 2019 dan 2020) dan kelas Agroteknologi (2019 dan 2020).

PERSEMBAHAN

Sebagai rasa bakti, hormat, dan tanggung jawab, kupersembahkan karya sederhana ini Kepada:

**Keluarga yang kucintai dan kusayangi Bapak Suyatman, Ibu Iin Parlina,
Kemal C.A.P, A.Md.Si., M Azwa Shidiq, Nishita Syahfuada, dan Ifra
Khumaira**

Almamater tercinta

Universitas Lampung

Motto

“Sedikit berbeda lebih baik daripada sedikit lebih baik”

(Panji Pragiwaksono)

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri”

(Q.S. Ar-Ra'd ayat 13)

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S. Al-Baqarah ayat 286)

“Kesuksesan itu datang ketika kesiapan bertemu dengan kesempatan”

(Bernardinus Y.K.)

“Jika mimpimu belum ditertawakan orang lain, berarti mimpimu masih kecil”

(Sujiwo Tejo)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhana Wa Ta'ala karena atas rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Induksi Kalus Primer pada Ekspan Daun Kopi Robusta Klon BP 358 sebagai Respons terhadap Jenis dan Konsentrasi Sitokinin dalam Media Dasar NPCM”**. Pada kesempatan kali ini penulis menyampaikan rasa terima kasih dan apresiasi yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang terlibat dalam proses penelitian maupun dalam penyelesaian skripsi, yaitu kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc. selaku pembimbing utama sekaligus pemberi ide penelitian yang telah meluangkan waktu, memberikan nasihat, saran, dan bimbingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc. selaku Pembimbing kedua sekaligus dosen pembimbing akademik penulis yang telah meluangkan waktu, memberi nasihat, saran, dan bimbingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Sri Ramadiana, S.P., M.Si. selaku penguji yang telah memberikan saran dan nasihat dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Keluarga tercinta yang selalu memberikan semangat, nasihat, motivasi, dukungan moral maupun materiil sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
7. Intania Puput Saputri, S.P. yang selalu memberikan semangat, motivasi, doa, energi positif, dan ketersediannya yang selalu menemani penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan, Mba Hayane A. Warganegara, S.P., M.Si., Mba Rahmadyah Hamiranti, S.P., M.Si., Mba Siti Munawaroh., S.P., M.P., Mba Emi Yunida, S.P., M.P., Mba Forency Galenica, S.P., M.P., Ifan Maulana, S.P., Susanto, S.P., Panca Rahayu Anggi, S.P., Titin Agustin, S.P., Wahyudi, S.P., Ajeng Windi Astuti, S.P., Meisy Lestari, S.P., Ni Sayu Putu Arianti, S.P., dan adik-adik magang 2019 Lika, Riska, Jessy, Anggun, dan Wahyu yang telah meramaikan suasana lab, memberikan semangat, bantuan, dan motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman-teman penulis dari Himalang (Galang, Maqrus, Cahya adi, Ifan, Amir, Rafi, dan Kelvin) dan GT (Dinda, Noly, Dian, dan Caca) yang selalu menghibur, memberikan semangat, motivasi, dan memberikan warna selama penulis menempuh studi di Jurusan Agronomi.
10. Serta teman-teman Agronomi dan Hortikultura Angkatan 2018 dan seluruh orang baik yang ada disekitar penulis yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan yang dilakukan dan semoga skripsi ini dapat memberikan kebermanfaatan.

Bandar Lampung, 01 Maret 2023

Muhammad Alipha Hapiyatna

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	6
1.3 Kerangka Pemikiran.....	6
1.4 Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Botani Tanaman Kopi	9
2.2 Teknik Perbanyakan Tanaman Kopi Secara Konvensional.....	10
2.3 Teknik Perbanyakan Tanaman Kopi Melalui Embriogenesis Somatik..	11
2.4 Zat Pengatur Tumbuh	13
III. BAHAN DAN METODE.....	14
3.1 Tempat dan Waktu	14
3.2 Persiapan dan Penanaman Kultur	14
3.3 Sterilisasi Alat.....	16
3.4 Pembuatan Media Kultur	16
3.5 Metode Penelitian	18
3.6 Variabel Pengamatan	19
3.6.1 <i>Pengamatan secara visual</i>	19
3.6.2 <i>Waktu terbentuk kalus primer</i>	19
3.6.3 <i>Persentase eksplan berkalus (%)</i>	19
3.6.4 <i>Bobot segar kalus primer</i>	19
3.6.5 <i>Pembentukan kalus primer per eksplan (skoring)</i>	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	21

4.1 Hasil Penelitian.....	21
4.1.1 <i>Perkembangan umum eksplan</i>	21
4.1.2 <i>Hasil analisis ragam.....</i>	23
4.1.3 <i>Induksi kalus primer</i>	24
4.1.3.1 <i>Waktu muncul kalus primer</i>	24
4.1.3.2 <i>Persentase eksplan berkalus</i>	26
4.1.3.3 <i>Pembentukan kalus primer per eksplan (Skoring).....</i>	26
4.1.3.4 <i>Penampilan visual kalus primer 4 MST.....</i>	27
4.1.3.5 <i>Bobot segar kalus primer.....</i>	28
4.1.3.6 <i>Penampilan visual kalus primer 8 MST.....</i>	29
4.2 Pembahasan.....	31
4.2.1 <i>Perkembangan eksplan dan pembentukan kalus primer</i>	31
V. SIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 <i>Simpulan</i>	35
5.2 <i>Saran</i>	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komponen Media Regenerasi Modifikasi Samson et al., (2006).....	17
2. Skoring pembentukan kalus primer dan kalus putih per eksplan	20
3. Rekapitulasi hasil analisis ragam pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap waktu muncul kalus, skoring kalus, dan bobot segar kalus primer.....	24
4. Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap persentase eksplan berkalus.....	40
5. Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap waktu pembentukan kalus primer.....	40
6. Hasil uji homogenitas ragam dengan uji Bartlett terhadap rata-rata waktu terbentuk kalus primer pada kultur daun kopi Robusta klon BP 358.	40
7. Analisis ragam variabel waktu terbentuk kalus pada eksplan daun kopi Robusta klon BP 358.	41
8. Pengaruh interaksi jenis sitokinin dan konsentrasi terhadap waktu terbentuk kalus primer pada eksplan daun kopi Robusta klon BP 358. ...	41
9. Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap pembentukan kalus primer per eksplan berdasarkan skoring pada 4 MST.	42
10. Hasil uji homogenitas ragam dengan uji Bartlett terhadap rata-rata pembentukan kalus primer per eksplan berdasarkan skoring pada 4 MST pada kultur daun kopi Robusta klon BP 358.	42
11. Analisis ragam variabel pembentukan kalus primer per eksplan berdasarkan skoring 4 MST pada eksplan daun kopi Robusta klon BP 358.	42
12. Pengaruh interaksi jenis sitokinin dan konsentrasi terhadap rata-rata pembentukan kalus primer per eksplan berdasarkan skoring pada 4 MST pada kultur daun kopi Robusta klon BP 358.	43

13.	Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap bobot segar kalus primer pada 8 MST.....	43
14.	Hasil uji homogenitas ragam dengan uji Bartlett terhadap bobot segar kalus primer 8 MST pada kultur daun kopi Robusta klon BP 358.....	43
15.	Analisis ragam variabel bobot segar kalus primer 8 MST pada eksplan daun kopi Robusta klon BP 358.	44
16.	Pengaruh interaksi jenis sitokinin dan konsentrasi terhadap bobot segar kalus primer pada 8 MST pada kultur daun kopi Robusta klon BP 358. ...	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambar 1. Bagan arah subkultur dari media induksi kalus primer.	15
2. Gambar 2. Keragaan pembentukan kalus primer per eksplan berdasarkan skoring (a) skor 1 (terlihat kalus terbentuk hingga 25% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan), (b) skor 2 (terlihat kalus terbentuk >25% hingga 50% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan), (c) skor 3 (terlihat kalus terbentuk >50% hingga 75% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan), (d) skor 4 (terlihat kalus terbentuk >75% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan).	20
3. Gambar 3. Perkembangan eksplan daun kopi Robusta pada (a) saat tanam, (b) 14 hari setelah tanam, (c) 4 minggu setelah tanam, dan (d) 8 minggu setelah tanam pada media induksi kalus primer.	22
4. Gambar 4. Penampilan visual kalus berumur 12 MST (4 MST di media IKE) yang berasal dari media, (a) NPCM + BA 0,5 mg/l, (b) NPCM + BA 1 mg/l, (c) NPCM + BA 1,5 mg/l, (d) NPCM + BA 2 mg/l, (e) NPCM + 2-iP 0,5 mg/l, (f) NPCM + 2-iP 1 mg/l, (g) NPCM + 2-iP 1,5 mg/l, (h) NPCM + 2-iP 2 mg/l.	23
5. Gambar 5. Pengaruh jenis sitokinin terhadap waktu muncul kalus primer pada kultur daun kopi robusta. nilai tengah yang diikuti huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%.	25
6. Gambar 6. Pengaruh konsentrasi sitokinin terhadap waktu muncul kalus primer pada kultur daun kopi robusta. nilai tengah yang diikuti huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%.	26
7. Gambar 7. Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap pembentukan kalus primer per eksplan pada kultur daun kopi robusta pada 4 MST. nilai tengah yang diikuti huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%.	27

8. Gambar 8. Penampilan visual kalus pada eksplan berumur 4 MST pada perlakuan, (a) BA 0,5 mg/l, (b) BA 1 mg/l, (c) BA 1,5 mg/l , (d) BA 2 mg/l, (e) 2-iP 0,5 mg/l, (f) 2-iP 1 mg/l, (g) 2-iP 1,5 mg/l, (h) 2-iP 2 mg/l..... 28
9. Gambar 9. Pengaruh jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap bobot segar kalus 8 MST. nilai tengah yang diikuti huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata menurut uji BNT 5%. 29
10. Gambar 10. Penampilan visual kalus pada eksplan berumur 8 MST pada perlakuan, (a) BA 0,5 mg/l, (b) BA 1 mg/l, (c) BA 1,5 mg/l , (d) BA 2 mg/l, (e) 2-iP 0,5 mg/l, (f) 2-iP 1 mg/l, (g) 2-iP 1,5 mg/l, (h) 2-iP 2 mg/l..... 30

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi robusta merupakan salah satu komoditi yang strategis dan memiliki nilai jual yang tinggi. Selain itu, kopi robusta sangat digemari untuk dikonsumsi oleh mayoritas masyarakat di Indonesia. Berdasarkan Pusat Data dan Sistem Informasi Kementerian Pertanian (2018), Konsumsi Kopi Nasional sepanjang periode 2016 - 2021 diprediksi tumbuh rata – rata 8,22 %/tahun. Pada 2021, pasokan kopi diprediksi mencapai 795 ribu ton dengan konsumsi 370 ribu ton. Berdasarkan data tersebut, menjamurnya kedai-kedai kopi atau *coffee shop* yang menjadikan kopi sebagai bahan dasar utama untuk diolah menjadi berbagai macam minuman di berbagai daerah di Indonesia merupakan suatu fenomena yang lumrah. Hal ini disebabkan karena konsumsi kopi menjadi suatu *tren* baru dikalangan generasi muda.

Mengacu pada data International Coffee Organization (ICO) pada tahun 2020, Indonesia menempati peringkat keempat dengan jumlah produksi 11,95 juta karung (60 kg per karung) sebagai negara pengekspor kopi dunia setelah Brazil, Vietnam, dan Kolombia. Peringkat pertama negara produsen kopi terbesar dunia yaitu Brazil dengan produksi 63,4 juta karung, selanjutnya pada peringkat kedua ditempati oleh negara Vietnam dengan produksi 29 juta karung, peringkat ketiga ditempati oleh negara Kolombia dengan produksi 14,3 juta karung, Indonesia berada diperingkat keempat sebagai negara produsen kopi dunia dengan produksi 11,95 juta karung pada tahun 2020.

Lampung merupakan salah satu provinsi produsen kopi terbesar di Indonesia. Pada tahun 2020 Lampung menempati peringkat kedua sebagai provinsi penghasil

kopi terbesar di Indonesia setelah provinsi Sumatera Selatan. Peringkat pertama provinsi produsen kopi terbesar di Indonesia yaitu Sumatera Selatan dengan produksi kopi 198.945 ton, selanjutnya diikuti provinsi Lampung sebagai peringkat kedua produsen kopi terbesar di Indonesia dengan produksi 117.311 ton (Badan Pusat Statistik, 2020).

Lampung merupakan salah satu provinsi produsen utama kopi robusta di Indonesia. Pada tahun 2018 provinsi Lampung memiliki luas areal mencapai 157,6 ribu hektar. Luasan lahan tersebut tersebar di daerah Lampung Barat mencapai 54 ribu ha, Tanggamus 41,5 ribu ha, dan Lampung Utara 25,7 ribu ha. Pada tahun 2018 total produksi kopi robusta di provinsi Lampung mencapai 110.570 ton (Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung, 2019).

Perkebunan kopi robusta di Indonesia masih didominasi oleh perkebunan rakyat. Sama halnya dengan di provinsi Lampung yang dimana perkebunan kopi robusta didominasi oleh perkebunan milik rakyat. Komposisi bentuk usaha perkebunan kopi di Indonesia didominasi oleh Perkebunan Rakyat (PR) dengan porsi 96% dari total area di Indonesia, dan 2% sisanya merupakan Perkebunan Besar Negara (PBN), serta 2% merupakan Perkebunan Besar Swasta (PBS) (Kusmiati dan Windiarti 2011). Perkebunan yang dikelola oleh rakyat memiliki salah satu kelemahan yaitu produksi kopi pada perkebunan rakyat (PR) cenderung mengalami penurunan dikarenakan produktivitas tanaman masih rendah akibat banyaknya tanaman tua dan rusak di kebun. Berdasarkan hal tersebut, perlu adanya peremajaan atau *replanting* tanaman kopi robusta agar produksi dan kualitas biji kopi robusta yang dihasilkan lebih optimal. Petani kopi robusta di Indonesia cenderung menggunakan bibit yang berasal dari biji untuk digunakan sebagai bahan tanam karena keterbatasan akses untuk mendapatkan bibit klon-klon kopi unggul. Tanaman kopi robusta merupakan tanaman yang menyerbuk silang sehingga memiliki sifat anakan yang beragam walaupun berasal dari indukan yang sama. Hal tersebut menyebabkan bibit yang berasal dari biji memiliki sifat yang tidak sama dengan induknya karena keragaman sifat tanaman kopi robusta yang tinggi. Salah satu penyebab tingkat keragaman sifat tanaman

kopi robusta yang tinggi disebabkan oleh sifat tanaman kopi yang *self-incompatible*.

Tanaman kopi robusta merupakan tanaman yang memiliki sifat *self-incompatible* (Anim-Kwapong *et al.*, 2010). *Self-incompatible* menyebabkan individu tanaman mempunyai susunan genetik dengan tingkat heterosigositas tinggi (Borojevic, 1990). Hasil penelitian dari Evizal *et al.* (2015) menyatakan bahwa *self-incompatible* menyebabkan segregasi pada keturunannya dan memiliki variabilitas produksi yang besar. Berdasarkan hal tersebut, penanaman kopi robusta dianjurkan ditanam secara poliklonal (3-4 klon) secara berselang-seling untuk setiap satuan hamparan kebun (Hulupi, 2008). Oleh karena itu, perbanyakan tanaman kopi robusta dianjurkan dengan perbanyakan secara vegetatif dengan teknik setek ataupun *grafting* untuk mendapatkan tanaman dengan sifat yang sama dengan induknya.

Beberapa keunggulan perbanyakan tanaman secara vegetatif yaitu dapat menghasilkan tanaman dengan sifat yang sama dengan induknya. Selain itu, waktu berbuahnya lebih cepat dibandingkan dengan tanaman yang diperbanyak secara generatif. Namun, perbanyakan secara vegetatif memiliki kelemahan yaitu *entres* dibutuhkan dalam jumlah yang banyak, perakaran yang dihasilkan merupakan akar serabut sehingga akarnya dangkal, dan cabang tanaman yang digunakan untuk setek ataupun *grafting* tidak semuanya dapat digunakan sebagai bahan tanam, sehingga bibit tanaman kopi robusta yang dihasilkan menjadi terbatas (Ibrahim *et al.*, 2013).

Salah satu alternatif perbanyakan tanaman kopi robusta yaitu dengan teknik kultur jaringan. Keunggulan dari teknik kultur jaringan yaitu tanaman yang dihasilkan memiliki sifat yang sama dengan induknya (*true-to-type*), pertumbuhannya seragam, bibit yang dihasilkan bebas dari patogen penyebab penyakit karena berasal dari kultur steril, dan dapat menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Perbanyakan tanaman kopi robusta dengan teknik kultur jaringan umumnya menggunakan jalur

regenerasi embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik merupakan suatu proses dimana struktur bipolar yang menyerupai embrio zigotik berkembang dari satu sel non-zigotik tanpa adanya hubungan pembuluh dengan jaringan asalnya (Ibrahim, 2015).

Perbanyakan melalui jalur regenerasi embriogenesis somatik sudah banyak dimanfaatkan untuk perbanyakan tanaman. Embriogenesis tanaman kopi robusta biasanya berasal dari eksplan daun muda yang dikulturkan secara *in vitro*. Perbanyakan melalui embriogenesis somatik dari berbagai jenis eksplan telah dilakukan dengan menggunakan kultur anther, meristem, biji, hipokotil, epikotil, akar, dan daun. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa penggunaan eksplan daun muda kopi robusta paling responsif dalam menghasilkan embrio somatik dibandingkan bagian tanaman yang lain (Carneiro, 1999; Oktavia *et al.*, 2003). Pada penelitian Hamiranti (2019), metode embriogenesis somatik dapat menginduksi embrio somatik hingga munculnya kecambah pada tanaman kopi robusta klon Komari dan Siswanto. Pada penelitian Ibrahim dan Hartati (2017) melaporkan bahwa metode embriogenesis somatik dapat menghasilkan kecambah tanaman kopi robusta klon BP 308 dengan penambahan GA₃ 0,1 mg/l pada media regenerasi.

Proses embriogenesis somatik terdiri dari beberapa tahap yaitu induksi kalus primer, proliferasi kalus embriogenik, perkembangan embrio somatik, dan regenerasi planlet (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Pada tanaman kopi robusta perkembangan embrio somatik terdiri dari beberapa fase yaitu globular, hati, torpedo, kecambah, dan planlet (Ibrahim dan Hartati, 2017).

Zat pengatur tumbuh (ZPT) memiliki peranan penting dalam regenerasi eksplan menjadi tanaman utuh pada kultur jaringan. Jenis ZPT yang banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Berbagai kombinasi jenis ZPT telah banyak diteliti untuk melihat pengaruh ZPT pada proses regenerasi eksplan. Kombinasi ZPT auksin dan sitokinin yang sesuai dapat menghasilkan respon yang baik pada eksplan. Pada penelitian Ibrahim dan Hartati (2017) kombinasi 2,4-D

dan thidiazuron dapat menginduksi munculnya kalus. Ibrahim dan Hartati (2013) penggunaan kombinasi 2,4-D dan BA dapat menginduksi terbentuknya kalus. Yasuda *et al.* (1985) penggunaan satu jenis ZPT yaitu BA dapat menginduksi terbentuknya kalus sekaligus menghasilkan embrio somatik.

Pada induksi kalus primer kopi robusta, beberapa peneliti telah melakukan penelitian tentang jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan untuk menginduksi kalus pada tanaman kopi robusta. Beberapa penelitian tersebut diantaranya; Yasuda *et al.* (1985) melaporkan bahwa penggunaan BA dengan konsentrasi 5 μM (1,125 mg), kalus dapat berproliferasi membentuk embrio somatik baru dan planlet terbentuk di permukaan kalus. Pada penelitian Ibrahim dan Hartati (2013) penggunaan kombinasi 2,4-D 1mg/l + BA 2 mg/l dapat menginduksi terbentuknya kalus. Setiawan *et al.* (2019) pada penelitiannya melaporkan bahwa penggunaan media yang mengandung masing-masing 2-iP 1 mg/l, BA 1 mg/l, TDZ 1 mg/L + 2,4-D 0,5 mg/L, atau TDZ 1 mg/L + 2,4-D 1 mg/L dapat menginduksi pembentukan kalus primer dan penggunaan media yang mengandung campuran 2-iP 1 mg/l dan 2,4-D 0,5 mg/l atau 2,4-D 1 mg/l adalah penginduksi kalus primer paling efektif di antara perlakuan yang dicobakan. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan jenis sitokinin tunggal ataupun kombinasi antara sitokinin dan auksin dapat menginduksi munculnya kalus primer. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang jenis dan konsentrasi sitokinin untuk mendapatkan jenis dan konsentrasi sitokinin yang tepat dalam perkembangan kalus primer kopi robusta klon BP 358 secara *in vitro*.

Penelitian ini dilakukan untuk untuk menjawab masalah yang dirumuskan dalam pernyataan berikut:

1. Apakah 2-iP lebih baik dari BA untuk menginduksi kalus primer pada kultur *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358?
2. Apakah terdapat konsentrasi sitokinin terbaik pada induksi kalus primer pada kultur *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358?
3. Apakah terdapat interaksi antara jenis dan konsentrasi sitokinin dalam induksi kalus primer pada kultur *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358?

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, penelitian ini bertujuan sebagai berikut:

1. Mengetahui 2-iP yang lebih baik dari BA untuk menginduksi kalus primer pada kultur *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358.
2. Mengetahui konsentrasi sitokinin terbaik untuk menginduksi kalus primer pada kultur *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358.
3. Mengetahui interaksi antara jenis dan konsentrasi sitokinin terhadap induksi kalus primer pada kultur *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358.

1.3 Kerangka Pemikiran

Kopi robusta biasanya diperbanyak secara vegetatif menggunakan setek batang maupun *grafting*. Kelemahan dari perbanyakan secara vegetatif yaitu membutuhkan bahan tanam yang banyak dari indukannya. Alternatif perbanyakan kopi robusta yaitu dengan kultur jaringan. Hasil tanaman yang diperbanyak menggunakan kultur jaringan memiliki sifat *true-to-type* atau sama dengan induknya, menghasilkan bibit yang banyak dengan waktu yang relatif singkat, dan tanaman yang dihasilkan bebas dari patogen penyebab penyakit.

Salah satu metode regenerasi yang digunakan dalam kultur jaringan adalah embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman secara massal yang menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat. Eksplan yang digunakan dalam embriogenesis somatik tanaman kopi robusta biasanya berasal dari potongan daun muda. Eksplan tersebut kemudian dikulturkan dalam suatu media yang mengandung unsur hara yang lengkap, gula, ZPT, dan dikondisikan pada suhu serta pencahayaan yang sesuai untuk menginduksi munculnya embrio somatik.

Munculnya embrio somatik dipengaruhi oleh konsentrasi ZPT dalam media. ZPT yang umum digunakan dalam induksi kalus yaitu auksin dan sitokinin. Kalus

dapat diinduksi dengan penggunaan ZPT tunggal maupun kombinasi auksin dan sitokinin. Kombinasi auksin dan sitokinin ini berperan dalam pembentukan kalus. Pada saat induksi kalus konsentrasi auksin yang diperlukan lebih tinggi daripada sitokinin, namun untuk fase ekspresi konsentrasi auksin yang diperlukan rendah dan sitokinin yang dibutuhkan tinggi (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Pada induksi kalus primer kopi robusta, beberapa peneliti telah melakukan penelitian tentang jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan untuk menginduksi kalus pada tanaman kopi Robusta. Beberapa penelitian tersebut diantaranya; Yasuda *et al.* (1985) melaporkan bahwa penggunaan BA dengan konsentrasi 5 μM (1,125 mg), kalus dapat berproliferasi membentuk embrio somatik baru dan planlet terbentuk di permukaan kalus. Pada penelitian Ibrahim dan Hartati (2013) penggunaan kombinasi 2,4-D 1mg/l + BA 2 mg/l dapat menginduksi terbentuknya kalus. Setiawan *et al.* (2019) pada penelitiannya melaporkan bahwa penggunaan media yang mengandung masing-masing 2-iP 1 mg/l, BA 1 mg/l, TDZ 1 mg/L + 2,4-D 0,5 mg/L, atau TDZ 1 mg/L + 2,4-D 1 mg/L dapat menginduksi pembentukan kalus primer dan penggunaan media yang mengandung campuran 2-iP 1 mg/l dan 2,4-D 0,5 mg/l atau 2,4-D 1 mg/l adalah penginduksi kalus primer paling efektif di antara perlakuan yang dicobakan. Berdasarkan beberapa hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa kalus dapat diinduksi menggunakan satu jenis ZPT maupun kombinasi auksin dan sitokinin.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dikemukakan, hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penggunaan 2-iP menghasilkan respons yang lebih baik dibandingkan BA dalam membentuk kalus primer pada eksplan *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358.

2. Penggunaan konsentrasi sitokinin 2 mg/l menghasilkan respons terbaik dalam membentuk kalus primer pada eksplan *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358.
3. Terdapat interaksi antara jenis sitokinin dan konsentrasi sitokinin dalam memengaruhi pembentukan kalus primer pada eksplan *in vitro* tanaman kopi robusta klon BP 358.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman Kopi

Menurut (Tjitrosoepomo, 2013) tanaman kopi robusta dapat di klasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Coffea
Spesies	: <i>Coffea canephora</i> Pierre ex A. Froehner

Kopi (*Coffea sp.*) merupakan tanaman yang termasuk famili Rubiaceae. Kopi memiliki beberapa jenis yaitu robusta, arabika, dan liberika. Di Indonesia jenis kopi yang banyak dibudidayakan adalah kopi jenis robusta. Kopi robusta banyak ditanam karena tidak memerlukan perawatan yang intensif, dapat ditanam di dataran rendah, memiliki cita rasa yang khas, dan memiliki produktivitas yang lebih tinggi daripada dua jenis kopi lainnya (Rahardjo, 2012).

Kopi robusta termasuk tanaman menyerbuk silang sehingga harus diperbanyak secara vegetatif untuk menjamin mutu genetik benih yang dihasilkan sama dengan induknya. Perbanyak vegetatif menggunakan teknik setek dibatasi oleh terbatasnya produksi tunas air (*entres*) dan jumlah ruas cabang yang dapat

digunakan. Selain itu, kendala lain dalam perbanyakan setek adalah akar yang dihasilkan merupakan akar serabut yang dangkal serta terkonsentrasi di sekitar permukaan tanah, sehingga tanaman kopi menjadi mudah rebah bila ditiup angin serta lebih rentan terhadap kekeringan (Ibrahim dan Hartati, 2017).

Tanaman kopi memiliki daun berbentuk bulat telur, bergelombang, memiliki warna hijau yang pekat, dan meruncing pada bagian ujungnya. Sepasang daun terletak di bidang yang sama di cabang dan ranting yang tumbuh mendatar. Perakaran kopi robusta lebih dangkal daripada kopi arabika, lebih dari 90% dari berat akar terdapat pada lapisan 0 - 3- cm di dalam tanah (Najiyati dan Danarti, 2012).

Tanaman kopi memiliki bunga berwarna putih yang beraroma harum. Bunga tersebut terletak di ketiak daun. Buah kopi robusta memiliki ukuran yang lebih kecil daripada kopi arabika. Buah kopi yang mentah berwarna hijau sedangkan buah yang matang berwarna merah. Buah kopi terdiri dari tiga bagian yaitu lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging buah (mesokarp), dan lapisan kulit tanduk (endokarp). Buah kopi memerlukan waktu 7 - 12 bulan hingga matang (Rahardjo, 2012). Biji kopi robusta juga memiliki karakteristik yang membedakan dengan biji kopi lainnya. Secara umum, biji kopi robusta memiliki kadar kafein yang lebih tinggi dibandingkan kopi arabika. Selain itu, karakteristik yang menonjol yaitu bijinya yang agak bulat, lengkungan bijinya yang lebih tebal dibandingkan kopi arabika, dan garis tengah dari atas ke bawah hampir rata (Panggabean, 2011).

2.2 Teknik Perbanyakan Tanaman Kopi Secara Konvensional

Pada umumnya petani kopi di Indonesia membudidayakan tanaman kopi robusta dengan menggunakan bibit yang diperoleh secara generatif melalui biji (Prastowo *et al.*, 2010). Biji kopi yang diambil dari buah masak dari tanaman induk dikecambahkan selama 30 - 40 hari. Kecambah kemudian ditanam pada media

kompos dan diletakkan di bawah naungan selama 8 bulan. Bibit yang diperoleh kemudian siap ditanam di lahan. Teknik tersebut banyak dilakukan karena mudah dan murah (Prastowo *et al.*, 2010). Namun, perbanyakan tanaman kopi robusta menggunakan biji menyebabkan keragaman sifat yang tinggi pada tanaman yang dihasilkan. Hal tersebut disebabkan karena tanaman kopi robusta memiliki sifat menyerbuk silang (Santoso dan Rahardjo, 2011). Untuk mengatasi hal tersebut, perbanyakan tanaman kopi robusta dianjurkan dengan cara vegetatif untuk mendapatkan bibit kopi robusta dengan sifat yang sama dengan induknya.

Perbanyakan secara vegetatif untuk tanaman kopi robusta dapat dilakukan dengan cara setek dan *grafting*. Setek pada tanaman kopi pada umumnya berasal dari potongan batang yang ditanam dengan tujuan menumbuhkan akar. Penyambungan (*grafting*) adalah penggabungan dari batang atas atau *entres* pada bibit kopi dewasa yang digunakan sebagai batang bawah (Prastowo *et al.*, 2010).

Perbanyakan dengan cara *grafting* menggunakan bahan tanam dari dua klon kopi yang berbeda yang kemudian digabungkan dengan tujuan mendapatkan sifat yang unggul dari kedua klon tersebut. Kelemahan teknik *grafting* yaitu sering terjadi inkompatibilitas antara batang atas dan batang bawah pada tanaman kopi robusta (Ardiyani dan Arimarsetiowati, 2010).

2.3 Teknik Perbanyakan Tanaman Kopi Melalui Embriogenesis Somatik

Salah satu alternatif perbanyakan tanaman kopi robusta yaitu dengan teknik kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan teknik menumbuhkembangkan eksplan (bagian tanaman) secara *in vitro* di media buatan yang mengandung energi dan nutrisi yang lengkap pada kondisi aseptik dengan lingkungan yang terkontrol untuk tujuan tertentu (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Prinsip dari teknik kultur jaringan yaitu pemanfaatan teori plastisitas morfogenetik dan totipotensi sel, yaitu bahwa sel dan jaringan tanaman memiliki kelenturan morfogenetik sehingga dapat berdeferensiasi, dediferensiasi, dan redeferensiasi. Teori totipotensi sel yang dikemukakan oleh Matthias Schleiden dan Schwann (1838-1839) menyatakan

bahwa sel tanaman memiliki informasi dan kemampuan untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh apabila berada pada kondisi yang sesuai. Kedua teori tersebut mengarahkan bahwa sel tanaman dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh.

Perbanyakan tanaman menggunakan teknik kultur jaringan memiliki beberapa kelebihan yaitu hasil tanaman yang diperbanyak bersifat *true-to-type* atau sama dengan induknya, menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat, bibit yang diproduksi tidak bergantung musim, dan bibit yang dihasilkan bebas dari patogen penyebab penyakit karena berasal dari kultur yang steril (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan tanam pada kultur jaringan disebut eksplan. Eksplan dapat beregenerasi menjadi tanaman utuh dapat melalui beberapa cara, salah satunya melalui jalur regenerasi embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik adalah suatu proses dimana struktur bipolar yang menyerupai embrio zigotik berkembang dari satu sel non-zigotik tanpa adanya hubungan pembuluh dengan jaringan asalnya (Ibrahim, 2015). Benih embrio somatik berbentuk struktur bipolar yang menyerupai embrio zigotik. Oleh karena itu, perbanyakan menggunakan embriogenesis somatik lebih disukai daripada organogenesis karena menghasilkan benih yang unipolar (Ibrahim *et al.*, 2013). Embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung.

Pada embriogenesis somatik secara langsung, eksplan yang ditanam pada media inisiasi akan membentuk unit embriogenik yang berkembang langsung menjadi embrio somatik bipolar. Sel-sel embriogenik dalam eksplan tersebut sudah ada dan hanya perlu diletakkan dalam kondisi yang sesuai agar eksplan tersebut dapat berkembang menjadi embrio (Quiroz-Figueroa *et al.*, 2005). Pada embriogenesis somatik tidak langsung inisiasi eksplan diikuti oleh pembentukan kalus (Kumar *et al.*, 2006).

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan regenerasi embriogenesis somatik yaitu kondisi fisiologi tanaman dan jenis formulasi media yang digunakan (Ibrahim *et al.*, 2013). Pada tanaman kopi robusta perkembangan embrio somatik terdiri dari beberapa fase yaitu globular, hati, torpedo, kecambah, dan planlet (Ibrahim dan Hartati, 2017). Maturasi atau pematangan pada embrio somatik dicirikan dengan mengembangnya kotiledon. Sedangkan maturasi embrio zigotik dicirikan dengan morfologi embrio yang sudah matang (Hasoro dan Yusnita, 2018).

2.4 Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik maupun sintesis bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tanaman. Zat pengatur tumbuh dapat dibagi menjadi beberapa golongan yaitu golongan auksin, sitokinin, giberelin dan inhibitor. Zat pengatur tumbuh. ZPT dalam kultur jaringan berperan penting karena berpengaruh dalam menentukan arah perkembangan eksplan. Jenis ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Auksin sering dikombinasikan dengan sitokinin untuk menginduksi kalus.

Sitokinin merupakan ZPT yang dapat menstimulasi pembelahan sel, morfogenesis dan pembentukan klorofil. Pada jalur regenerasi embriogenesis sitokinin berperan dalam pembentukan embrio somatik yang biasanya dikombinasikan dengan auksin pada konsentrasi yang rendah (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Kombinasi sitokinin dengan auksin maupun penggunaan sitokinin tunggal dapat menginduksi pembentukan kalus fase globular (Hatanaka *et al.*, 1991).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga Desember 2022.

3.2 Persiapan dan Penanaman Kultur

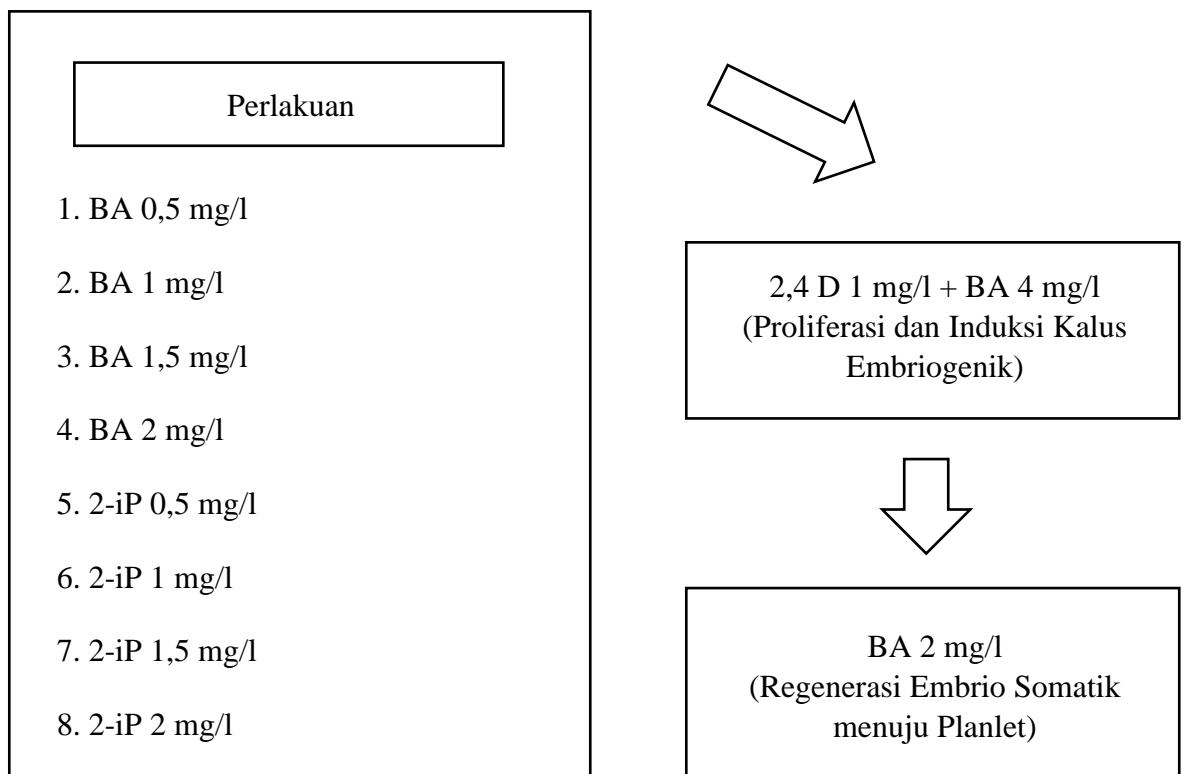
Bahan tanam yang digunakan pada penelitian ini yaitu kopi robusta klon BP 358 yang dipelihara di rumah kaca. Eksplan yang digunakan untuk induksi kalus primer yaitu berupa daun muda dengan panjang 7-12 cm dengan warna hijau mengkilap. Kemudian dilakukan sterilisasi eksplan yang terdiri dari dua tahap. Tahap pertama yaitu eksplan yang telah diambil dari tanaman induk di rumah kaca dicuci dengan detergen cair sebanyak 3 kali, lalu dibilas air mengalir. Selanjutnya, eksplan direndam dalam larutan fungisida berbahan aktif mankozeb dengan konsentrasi 2 g/l selama 15 menit dan dibilas dengan air mengalir.

Sterilisasi tahap kedua dilakukan di *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Eksplan dicelupkan ke dalam larutan etanol 70% selama 3 detik, lalu dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali. Selanjutnya eksplan direndam dan *dishake* dalam larutan pemutih komersial 15% (mengandung NaOCl 5,25%) yang ditambahkan 3 tetes tween 20% selama 5 menit, lalu dibilas air steril sebanyak tiga kali.

Penanaman eksplan diawali dengan membuang bagian tepi daun, lalu eksplan dipotong – potong dengan ukuran 1 x 1 cm. Bagian daun yang ditanam yaitu yang

memiliki tulang daun tengah. Posisi eksplan yang ditanam adalah bagian adaksial yang menyentuh permukaan media. Selanjutnya eksplan di tempatkan pada ruang kultur dengan kondisi gelap pada suhu 24 ± 2 °C selama 4 minggu.

Eksplan ditanam pada media induksi kalus primer (IKP) dengan penambahan ZPT BA 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, 2 mg/l dan 2-iP 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, dan 2 mg/l yang menjadi perlakuan dalam penelitian ini. Selanjutnya eksplan yang telah berumur 4 minggu di media induksi kalus primer disubkultur kembali ke media perlakuan yang sama selama 4 minggu. Setelah eksplan berumur 8 minggu, eksplan disubkultur ke media induksi kalus embriogenik (IKE) dengan penambahan ZPT BA 4 mg/l dan 2,4 D 1 mg/l hingga kalus embriogenik terbentuk. Selanjutnya kalus embriogenik dipindahkan ke media regenerasi embrio somatik (RES) (Gambar 1).



Gambar 1. Bagan arah subkultur dari media induksi kalus primer.

3.3 Sterilisasi Alat

Sterilisasi botol kultur dilakukan melalui dua tahap. Tahap pertama yaitu botol kultur disterilisasi menggunakan autoklaf Budenberg selama 30 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,2 kg/cm². Botol kultur yang masih terdapat media, setelah disterilisasi tahap pertama media yang tersisa dibuang, selanjutnya botol dicuci menggunakan detergen sebanyak 2 g/l. Selanjutnya botol kultur direndam dalam air yang berisi detergen 2 g/l dan pemutih komersial sebanyak 100 ml/l selama 24 jam. Botol kultur yang bersih (tidak terdapat sisa media tanam), setelah sterilisasi langsung direndam dalam air yang berisi detergen 2 g/l dan pemutih komersial 100 ml/l. Setelah botol direndam selama 24 jam, botol kultur dicuci kembali hingga bersih. Selanjutnya botol dibilas air mengalir, dan direndam dalam air panas ± 15 menit. Botol ditiriskan lalu mulut botol ditutup plastik, selanjutnya diikat menggunakan karet gelang pada leher botol. Sterilisasi tahap kedua yaitu botol – botol kultur yang sudah bersih disterilisasi menggunakan autoklaf Tomy selama 30 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,2 kg/cm². Alat diseksi yang diperlukan seperti spatula dibungkus menggunakan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diikat karet. Botol scott kosong yang digunakan sebagai wadah larutan stok perlu disterilisasi menggunakan autoklaf Tomy selama 30 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,2 kg/cm².

3.4 Pembuatan Media Kultur

Media yang digunakan adalah media induksi kalus primer (IKP). Pada penelitian ini media IKP yang dikombinasikan dengan BA 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, 2 mg/l dan 2-iP 0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, dan 2 mg/l yang menjadi perlakuan dalam penelitian ini. Media IKP adalah formulasi menurut Samson et al., (2006) yang merupakan modifikasi media Murashige dan Skoog (1962) (Tabel 1).

Tabel 1. Komponen media regenerasi modifikasi Samson *et al.*, (2006)

Komponen Media	IKP (mg/l)	IKE (mg/l)	RES (mg/l)
NH ₄ NO ₃	250	825	825
KNO ₃	400	950	950
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	300	-	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	90	185	185
KH ₂ PO ₄	85	85	85
CaCl ₂ .2H ₂ O	160	220	220
H ₃ BO ₃	3,1	3,1	3,1
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0125	0,0125	0,0125
MnSO ₄ .H ₂ O	90,3	11,2	11,2
Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,125	0,125	0,125
ZnSO ₄ .7H ₂ O	4,3	4,3	4,3
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	0,025	0,025
KI	-	0,83	0,83
Tiamin-HCl	15	20	10
Asam Nikotinat	1	-	1
Piridoxin	1	-	1
Mio-Inositol	130	200	200
Glycine	-	20	2
Cystein	-	40	-
Adenin Sulfat	-	60	40
Malt Extract	-	800	400
Casein Hidrolisat	-	200	400
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	27,8	27,8
NA ₂ EDTA	37,3	37,3	37,3
2,4-D	-	1	-
BA	Sesuai Perlakuan	4	2
2-iP	Sesuai Perlakuan	-	-
Kin	-	-	-
Asam Askorbat	200	200	200
Asam Sitrat	150	150	150
Sukrosa	30000	30000	35000

Keterangan:

IKP = Media induksi kalus primer.

IKE = Media induksi kalus embriogenik.

RES = Media regenerasi embrio somatik.

Beberapa komponen dalam media memiliki konsentrasi yang kecil, sehingga perlu adanya pembuatan larutan stok untuk mempermudah dalam pembuatan media.

Pembuatan larutan stok yang pertama kali dilakukan adalah menimbang

komponen media sesuai yang dibutuhkan. Selanjutnya dilarutkan dengan aquades hingga mencapai volume satu liter. Pembuatan larutan stok ZPT jenis sitokinin yang bersifat basa seperti benziladenin (BA) dan 2-iP, ditimbang terlebih dahulu sebanyak 100 mg, diberi HCl 2-3 ml di dalam gelas beaker, lalu ditambahkan aquades hingga mencapai volume satu liter.

Semua komponen bahan baik yang telah ditimbang maupun yang dibuat larutan stok dimasukkan ke dalam ke beaker sesuai dengan kebutuhan, lalu ditambahkan aquades sebanyak 200-300 ml. Kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen. Larutan media ditera dengan menambahkan aquades hingga mencapai volume satu liter. Selanjutnya pH larutan media diatur hingga mencapai 5,8 dengan penambahan KOH 1 N jika pH awal kurang dari 5,8 dan ditambahkan HCl 1 N jika pH awal melebihi 5,8. Bahan pemat media yang digunakan dalam penelitian ini agar-agar. Agar-agar yang dibutuhkan sebanyak 7 mg/l. Selanjutnya dimasak hingga mendidih. Media dituangkan ke dalam botol-botol kultur sebanyak 25 ml. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf Tomy selama 7 menit dengan suhu 121°C dengan tekanan 1,2 kg/cm². Selanjutnya media didinginkan dan disimpan dalam ruang inkubasi.

3.5 Metode Penelitian

Percobaan ini dilaksanakan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial, faktor pertama yaitu jenis sitokinin (Benziladenin dan 2-iP) dan faktor kedua yaitu konsentrasi sitokinin (0,5 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, 2 mg/l). Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga didapat 24 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari lima botol kultur. Setiap botol kultur diisi 3 eksplan. Homogenitas data diuji menggunakan uji Bartlett dan dilanjutkan analisis ragam (ANARA) dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.6 Variabel Pengamatan

3.6.1 *Pengamatan secara visual*

Pengamatan secara visual dilakukan seminggu sekali hingga kalus terbentuk.

3.6.2 *Waktu terbentuk kalus primer*

Pengamatan ini dilakukan 2 hari sekali mulai 14 hari setelah tanam hingga semua eksplan membentuk kalus primer.

3.6.3 *Persentase eksplan berkalus (%)*

Persentase eksplan berkalus dilakukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus pada 4 MST dari masing-masing perlakuan berdasarkan seluruh jumlah eksplan. Persentase eksplan berkalus dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Persentase eksplan berkalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan berkalus}}{\text{Jumlah eksplan keseluruhan}} \times 100\%$$

3.6.4 *Bobot segar kalus primer*

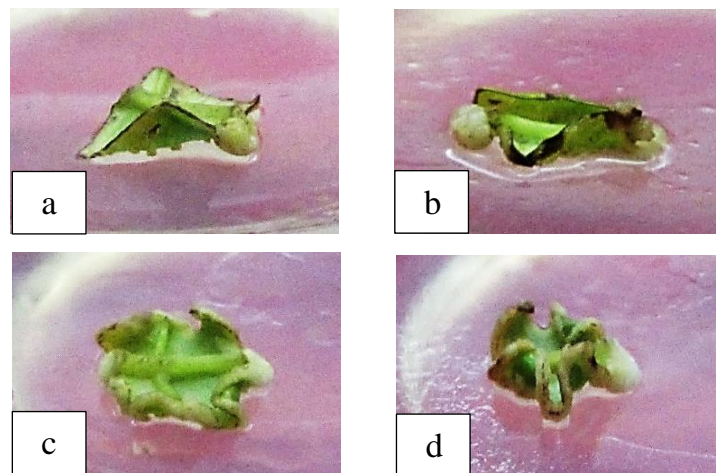
Eksplan yang membentuk kalus primer ditimbang pada 8 MST di dalam *Laminar Air Flow Cabinet*.

3.6.5 *Pembentukan kalus primer per eksplan (skoring)*

Pembentukan kalus per eksplan diamati dengan cara skoring pada 4 MST. Persentase pembentukan kalus pada eksplan dapat dikelompokkan berdasarkan skor yang tertera pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Skoring pembentukan kalus primer dan kalus putih per eksplan

Persen pembentukan kalus primer (%)	Skor
0	0
$0 < x \leq 25$	1
$26 < x \leq 50$	2
$51 < x \leq 75$	3
>75	4



Gambar 2. Keragaan pembentukan kalus primer per eksplan berdasarkan skoring (a) skor 1 (terlihat kalus terbentuk hingga 25% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan), (b) skor 2 (terlihat kalus terbentuk >25% hingga 50% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan), (c) skor 3 (terlihat kalus terbentuk >50% hingga 75% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan), (d) skor 4 (terlihat kalus terbentuk >75% bagian tengah tulang daun dan tepi eksplan).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Jenis sitokinin 2-iP memberikan hasil yang lebih baik dibanding BA untuk menginduksi kalus primer kopi robusta klon BP 358 secara *in vitro* yang ditunjukkan oleh semua variabel pengamatan.
2. Konsentrasi 2 mg/l memberikan hasil yang terbaik untuk menginduksi kalus primer kopi robusta klon BP 358 secara *in vitro* yang ditunjukkan oleh semua variabel pengamatan.
3. Induksi kalus primer pada eksplan daun kopi robusta klon BP 358 jenis sitokinin bergantung dengan konsentrasi yang digunakan. Penggunaan jenis sitokinin 2-iP dengan konsentrasi 2 mg/l memberikan hasil terbaik pada variabel pembentukan kalus per eksplan (*skoring*) pada 4 MST (2,50), dan bobot segar kalus primer pada 8 MST (0,1977 gram).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kompetensi kalus primer yang dihasilkan dari BA dan 2-iP berbagai konsentrasi terhadap pembentukan kalus embriogenik hingga menjadi embrio somatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anim-Kwapong, G.J., Anim-Kwapong, E., Oppong, F. K. 2010. Evaluation of some robusta coffee (*Coffea canephora* pierre ex Froehner) clones for optimal density and planting in Ghana. *African Journal Agriculture Research*. 5 (1) : 84-89.
- Ardiyani, F., Arimarsetiowati, R. 2010. *Perkembangan metode perbanyakan tanaman kopi di Indonesia*. Prosiding Simposium Kopi. Bali 4-5 Oktober 2010.
- Badan Pusat Statistik. 2019. *Produksi Tanaman (Ton) 2018*. <https://lampung.bps.go.id/indicator/54/258/1/produksi-tanaman.html>. (Diakses 22 Februari 2022, 11.12 WIB).
- Badan Pusat Statistik. 2020. *Statistik kopi di Indonesia 2020*. <https://www.bps.go.id/publication/2021/11/30/b1b6cf2a6aad1ee2d8a4c656/statistik-kopi-indonesia-2020.html>. (Diakses 22 Februari 2022, 12.45 WIB).
- Bishopp, A., Lehesranta, S., Vaten, A., Help, H., ElShowk, S., Scheres, B., Helariutta, K., Mahonen, A. P., Sakakibara, H., Helariutta, Y. 2011. Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem. *Current Biology* 21: 927–932.
- Borojevic, S. 1990. *Principles and methods of plant breeding*. Elsevier Sci. Pub. Co. Inc. New York. 368 page.
- Evizal, R., Sugiatno, Prasmatiwi, F. E. 2015. Ragam kultivar kopi di Lampung. *Jurnal Agrotrop*. 5 (1) : 80-88.
- GAEKI. 2018. *Areal dan produksi*. <https://gaeki.or.id/areal-dan-produksi/>. (Diakses 20 Februari 2022, 16.00 WIB).
- Kudo, T., Kiba, T., Sakakibara, H. 2010. Metabolism and long-distance translocation of cytokinins. *J. Integr. Plant Biol.* 52, 53–60.
- Kumar, V., Naidu, M., Gokare, R. 2006. Development in coffee biotechnology – *in vitro* plant propagation and crop improvement. *Plant Tissue and Organ Culture*. 63 (1): 25-33.
- ICO. 2020. *World coffee consumption*. <https://www.databoks.katadata.co.id/data/publish>. (Diakses 29 Februari 2022, 17.45 WIB).

- Hamiranti, R. 2019. Embriogenesis somatik *in vitro* kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) klon unggul lokal Lampung. Thesis. Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Hatanaka, T., Arakawa, O., Yasuda, T., Uchida, N., Yamaguchi, T. 1991. Effect of plant growth regulators of somatic embryogenesis in leaf cultures of *Coffea canephora*. *Journal Plant Cell Reports*. 10 : 179-182.
- Hapsoro, D., Yusnita. 2018. *Kultur jaringan – teori dan praktik*. Penerbit ANDI. Yogyakarta.
- Hapsoro, D., Setiawan, D., Hamiranti, R., Yusnita. 2019. Pengaruh 2-iP, BA, 2,4-D, dan TDZ pada embriogenesis somatik *in vitro* kopi robusta unggul Lampung. *J. Agrotek Tropika*. 7 (3) : 527-537.
- Hulupi, R. 2008. *Klon-klon unggul kopi robusta dan beberapa pilihan komposisi klon berdasarkan kondisi lingkungan*. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Jember.
- Ibrahim, M. S. D., Hartati, R. R. S., Rubiyo., Purwito. A., Sudarsono. 2013. Induksi kalus embriogenik dan daya regenerasi kopi arabika menggunakan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dan 6-benzyladenine. *Jurnal Buletin RISTR*. 4 (2) : 91-98.
- Ibrahim, M. S. D. 2015. Faktor penentu keberhasilan perbanyakan kopi (*Coffea spp.*) melalui embriogenesis somatik. *Journal SIRINOV*. 3 (3) : 127-136.
- Ibrahim, M. S. D., Hartati, R. R. S., Rubiyo., Purwito. A., Sudarsono. 2017. Efisiensi media kultur dan aplikasi temporary immersion system pada embriogenesis somatik kopi arabika. *Jurnal Littri*. 23 (1) : 45-54.
- Ibrahim, M. S. D., Hartati, R. R. S. 2017. Peningkatan induksi kalus embriogenik dan konversi embrio somatik kopi robusta klon bp 308. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 4 (3) : 121-123.
- Kusmiati, A., Windiarti, R. 2011. Analisis wilayah komoditas kopi di Indonesia. *J-SEP*. 5 (2) : 47-58.
- Lacombe, B., Achard, P. 2016. Long-distance transport of phytohormones through the plant vascular system. *Current Opinion in Plant Biology* 34 : 1-8.
- Mayang, R. B., Hapsoro, D., Yusnita. 2020. Regenerasi tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.): induksi dan proliferasi kalus, serta induksi tunas. *Jurnal Agrotropika*. 16 (2) : 52-56.
- Najiyati, S., Danarti. 2012. *Kopi, budidaya dan penanganan lepas panen*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Panggabean, E. 2011. *Buku pintar kopi*. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Park, J., Lee, Y., Martinoia, E., Geisler, M. 2017. Plant hormone transporters: what we know and what we would like to know. *BMC Biology* (2017) 15:93. DOI 10.1186/s12915-017-0443-x
- Prastowo, B., Karmawati, E., Rubijo., Siswanto., Indrawanto, C., Munarso, S. J. 2010. *Budidaya dan pasca panen kopi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2018. *Outlook kopi*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal - Kementerian Pertanian 2016.
- Quiroz-Figueroa, F. R., Gonzales, M., Galaz-Avalos, R. M., Vargas, V. M. L. 2005. Direct somatic embryogenesis in *Coffea canephora*. *Plant Cell Culture Protocols*. 318 : 111-117.
- Rahardjo, P. 2012. *Berkebun kopi*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Samson, N. P., Campa, C., Gal, L.L., Noiroto, M., Thomas, G., Lokeswari, T. S., Kochko, A. D. 2006. Effect of primary culture medium composition on high frequency somatic embryogenesis in different coffee species. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 86 : 37-45.
- Santoso, T. I., Rahardjo, P. 2011. Viabilitas planlet pasca aklimatisasi kopi robusta (*Coffea canephora*) setelah penyimpanan. *Pelita Perkebunan*. 27 (2) : 88-97.
- Tjitrosoepomo, G. 2013. *Taksonomi tumbuhan spermatophyta*. UGM Press. Yogyakarta.
- Yasuda, T., Fuji, Y., Yamaguchi, T. 1985. Embryogenic callus induction from *Coffea arabica* leaf explants by benzyladenine. *Plant Cell Physio*. 26 (3) : 595-597.