

EMBRIOGENESIS SOMATIK SEL DAUN KOPI ARABIKA
lini-s 795 TORAJA (Coffea arabika var. lini-s 795)
SECARA *IN VITRO* DENGAN PENAMBAHAN
2,4 *DICHLOROPHENOXYACETID ACID* (2,4 D)
DAN 6-*FURFURLAMINO PURINE*
(KINETIN)

YOAS
H052191002



DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

EMBRIOGENESIS SOMATIK SEL DAUN KOPI ARABIKA
lini-s 795 TORAJA (Coffea arabika var. lini-s 795)
SECARA IN VITRO DENGAN PENAMBAHAN
2,4 DICHLOROPHENOXYACETID ACID (2,4 D)
DAN 6-FURFURLAMINO PURINE
(KINETIN)

*Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai
Gelar Magister Program Studi Biologi Departemen Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin*

YOAS
H052191002

DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

TESIS

Embriogenesis Somatik Sel Daun Kopi Arabika *lini-s 795*
Toraja (*Coffea arabica* var. *lini-s 795*) Secara *In Vitro*
dengan Penambahan 2,4 *Dichlorophenoxyacetid*
acid (2,4 D) dan 6-*Furfurylamino purine*
(Kinetin)

Disusun dan diajukan oleh

YOAS
H052191002

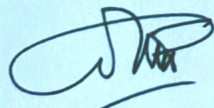
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal, **31 Maret 2021**
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat

Ketua

Anggota

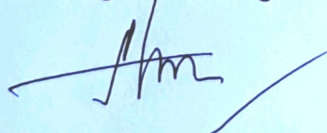


Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si
NIP: 19670207 199203 1 001



Dr. Eva Johannes, M.Si.
NIP: 19610217 198601 2 001

Ketua Program Studi,
Magister Biologi



Dr. Ir. Slamet Santosa, M.Si.
NIP: 19620726 198702 1 001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin,



Dr. Eng Amiruddin, M.Si
NIP: 19720515 1997002 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yoas

NIM : H052191002

Program Studi : S2 Biologi

Menyataka dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 01 April 2021

Yang menyatakan,



Yoas

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan yang maha kuasa atas berkat dan penyertaanNya sehingga penulis diberikan kesabaran, kesempatan serta kemudahan untuk menyelesaikan tugas akhir penulis yang berjudul “Embriogenesis Somatik Sel Daun Kopi Arabika *lini-s 795 Toraja (Coffea arabika var. Lini-s 795) Secara In Vitro dengan Penambahan 2,4 Dichlorophenoxyacetid acid (2,4 D) dan 6-Furfurylamino purine (Kinetin)*” sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan tugas akhir (Tesis) di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Penulis juga tidak lupa mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua penulis, Ayahanda Kornelius dan Marthen Manan, Ibunda Rosida dan Idawati, juga kepada istri tercinta Adhe Wardana, anakku Calysta dan Eleora, serta saudara-saudaraku, beserta keluarga besar yang selalu mendoakan, memberi semangat, motivasi kepada penulis.

Penulis menyadari sepenuhnya, dalam penyusunan tesis ini tidak terlepas dari hambatan dan tantangan. Namun berkat kerja keras dan motivasi dari pihak-pihak langsung maupun tidak langsung yang memper lancar jalannya penyusunan tesis ini. Olehnya itu, secara mendalam saya menyampaikan banyak terimakasih kepada Dr. Andi Ilham Latunra.,M.Si selaku ketua penasehat yang selalu memberikan bimbingan, arahan dan motivasi kepada penulis. Terima kasih juga saya ucapkan kepada Dr. Eva

Johannes, M.Si selaku anggota penasehat, yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. Bapak Dr.Eng Amiruddin. M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya.
2. Bapak Dr.Slamet Santosa, M.Si selaku Ketua Prodi Jurusan Biologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala ilmu, arahan serta bimbingan kepada penulis.
3. Ibu Dr. Rosana Agus, M.Si, Dr. Sjafaraenan, M.Si dan bapak Dr. Fahrudin, M.Si selaku penguji.
4. Seluruh dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis selama perkuliahan, serta staf pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan urusan administrasi.
5. Teman-teman seperjuangan dalam Lab kultur jaringan Putri Damayanti, Nuri, Eka, Ardi, kak Irny, terimakasih untuk motivasi, kerjasama dan bantuannya kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian.
6. Teman-teman Biologi angkatan 2019, terima kasih atas kerjasama dan motivasinya selama ini, semoga kita semua senantiasa diberikan kemudahan dalam urusan kita.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati saya mengucapkan terimakasih banyak untuk semua pihak yang telah terlibat, semoga tesis ini bermanfaat bagi penulis dan juga kepada para pembaca.

Makassar, Maret 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACK	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
E. Ruang Lingkup Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Kopi (<i>Coffea L</i>)	6

B. Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kopi	7
C. Embriogenesis Somatik	10
D. Media Kultur	12
E. Zat Pengatur Tumbuh	13
F. Kerangka Konseptual	14
G. Definisi Operasional	16
 BAB III. METODE PENELITIAN	 17
A. Rancangan Penelitian	17
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	18
C. Bahan dan Alat	18
D. Objek Penelitian	19
E. Teknik Pengumpulan Data	19
1. Preparasi Sampel	19
2. Sterilisasi Alat	19
3. Pembuatan Larutan Stok 2,4 D dan Kinetin	20
4. Pembuatan Medium Kultur	20
5. Induksi Kalus Embriogenik	21
6. Pengamatan	22
F. Analisis Data	23
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	 24
A. Hari Muncul Kalus	24
B. Warna Kalus	28

C. Tekstur Kalus	31
D. Berat Basah Kalus	34
E. Persentase Kalus Embriogenik	38
F. Embrio Somatik Bentuk Globular	41
BAB V. PENUTUP	45
A. Kesimpulan	45
B. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perlakuan dan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh	21
Tabel 2. Hasil Uji DMRT Rata-Rata Hari Muncul Kalus	26
Tabel 3. Warna Kalus	29
Tabel 4. Tekstur Kalus	32
Tabel 5. Hasil Uji DMRT Berat Basah Kalus	36
Tabel 6. Hasil Uji DMRT Kalus Embriogenik	39
Tabel 7. Hasil Uji DMRT Embrio Somatik	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka Konseptual.....	15
Gambar 2. Grafik Rata-Rata Hari Muncul Kalus	24
Gambar 3. Warna Kalus	29
Gambar 4. Tekstur Kalus	32
Gambar 5. Grafik Rata-Rata Berat Basah Kalus	34
Gambar 6. Grafik Persentase Rata-Rata Kalus Embriogenik	38
Gambar 7. Grafik Rata-Rata Kalus Embrio Somatik	41
Gambar 8. Dokumentasi	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja	53
Lampiran 2. Pembuatan larutan MS, 2,4 D dan Kinetin	54
Lampiran 3. Sterilisasi Eksplan	55
Lampiran 4. Penanaman dan subkultur	56
Lampiran 5. Pemeliharaan dan pengamatan	57
Lampiran 6. Hasil pengamatan kalus embriogenik dan embrio somatik kopi arabika lini-s 795 Toraja dengan penambahan 2,4 D dan kinetin	58
Lampiran 7. Tabel anova dan uji DMRT hari muncul kalus.....	63
Lampiran 8. Tabel anova dan uji DMRT berat basah kalus	64
Lampiran 9. Tabel anova dan uji DMRT kalus embriogenik.....	65
Lampiran 10. Tabel anova dan uji DMRT embrio somatik	66

ABSTRAK

Perbanyak kopi pada umumnya masih menggunakan biji, stek, okulasi dan sambung pucuk. Namun cara perbanyak seperti ini masih memiliki keterbatasan dalam jumlah bahan tanam. Dengan embriogenesis somatik memungkinkan untuk memproduksi bibit yang relatif seragam dalam skala besar dan dalam waktu yang relatif singkat. Penelitian ini menganalisis tentang pengaruh pemberian 2,4 dichlorophenoxy acetid acid (2,4 D) dan 6 furfuryl amino purine (kinetin) dalam proses pembentukan kalus embriogenik dan embrio somatik asal daun kopi arabika var. *lini-s 795*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun kopi arabika var. *lini-s 795*. Penelitian ini menggunakan 9 perlakuan dan 1 kontrol serta menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan. Parameter yang diamati kecepatan eksplan membentuk kalus, persentase kalus embriogenik, warna kalus, tekstur kalus, berat basah kalus, dan jumlah globular. Hasil pengamatan menunjukkan semua perlakuan berhasil membentuk kalus kecuali perlakuan kontrol, perlakuan yang paling cepat menghasilkan kalus adalah Y9 (2,4D 2 ppm dan kinetin 2 ppm). Berat basah kalus tertinggi diperoleh pada perlakuan Y1 (2,4 D 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm) dengan berat 1,46 gram, kalus embriogenik terbanyak diperoleh pada perlakuan Y1 (2,4 D 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm) dengan persentase 98% dan embrio somatik bentuk globular terbanyak didapat pada perlakuan Y7 (2,4D 2 ppm dan kinetin 0,5 ppm) yaitu 68,33.

Kata Kunci : Embriogenesis somatik, *Coffea arabika*, 2,4 D, kinetin.

ABSTRACT

In general, coffee propagation still uses seeds, cuttings, grafting and shoot grafting. However, this method of propagation still has limitations in the amount of planting material. With somatic embryogenesis, it is possible to produce relatively uniform seedlings on a large scale and in a relatively short time. This study analyzed the effect of providing 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4 D) and 6-furfuryl-aminopurine (kinetin) in the process of forming embryogenic callus and somatic embryos from *var.lini-s 795arabica* coffee leaves. This research was conducted at the Tissue Culture Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University. The plant material used were *var.lini-s 795 arabica* coffee leaves. This study used 9 treatments and 1 control and used a completely randomized design with 3 replications. The parameters observed were the speed of the explants forming callus, the percentage of embryogenic callus, callus color, callus texture, callus wet weight, and the total of globules. The observation showed that all treatments were successful in forming callus except the control treatment. The fastest treatment to produce callus was Y9 (2.4D 2 ppm and kinetin 2 ppm). The highest wet weight of callus was obtained in the treatment of Y1 (2.4 D 0.5 ppm and kinetin 0.5 ppm) with a weight of 1.46 grams, the most embryogenic callus was obtained in treatment of Y1 (2.4 D 0.5 ppm and kinetin 0.5 ppm) with a percentage 98% and the most somatic embryos in the form of golbular were obtained in the treatment of Y7 (2.4D 2 ppm and kinetin 0,5 ppm), which was 68.33.

Keywords: Somatic Embryogenesis, *Coffea arabika*, 2,4 D, kinetin.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Tanaman kopi (*Coffea spp.*) merupakan salah satu tanaman perkebunan yang sudah lama dibudidayakan dan memiliki peran penting dalam bidang perekonomian nasional. antara lain ; sebagai sumber devisa negara, pencipta lapangan kerja, pendorong agribisnis dan agroindustri, dan pendukung konservasi lingkungan (Aryani, 2013).

Kopi yang ada di Indonesia memiliki nilai tinggi di pasar dunia. Hal ini merupakan indikasi bahwa klon yang ada di Indonesia termasuk klon yang disukai karena memiliki cita rasa yang baik, oleh karena itu perlu di produksi dalam jumlah besar. Jenis kopi yang terkenal di Indonesia adalah robusta dan arabika. Kopi arabika memiliki aroma yang khas dan cita rasa yang lebih baik dibandingkan dengan kopi robusta, sehingga harganya selalu tinggi dalam dunia perdagangan. Namun, kopi robusta masih mendominasi dalam jumlah produksi kopi di Indonesia yaitu sebesar 85% dan sisanya adalah kopi arabika (Direktorat jenderal perkebunan, 2017).

Tana Toraja dan Toraja Utara merupakan kabupaten yang ada di provinsi Sulawesi Selatan dan merupakan salah satu daerah penghasil kopi terbaik yang ada di Indonesia. Keadaan geografis dan tekstur tanah yang mendukung, menyebabkan kopi tumbuh subur di Toraja. Namun,

sebagian besar tanaman kopi rakyat sudah berusia tua/rusak/kurang terpelihara, serta masih tetap tingginya serangan hama penyakit dan juga sebagian masyarakat mengalihfungsikan perkebunan kopi menjadi perkebunan sayur (Marampa', 2016).

Perbanyakan kopi Arabika umumnya dilakukan secara generatif menggunakan biji atau secara vegetatif menggunakan stek, okulasi, dan sambung pucuk. Namun, cara perbanyakan seperti ini masih memiliki keterbatasan dalam jumlah bahan tanam. Dengan teknik kultur jaringan memberikan alternatif dalam perbanyakan kopi. Teknik ini memungkinkan untuk memproduksi bibit yang relatif seragam dalam skala besar dengan kualitas tanaman sama seperti induknya dalam waktu yang relatif singkat, dan bebas hama penyakit (Pinto *et al.*, 2019). Berbagai pendekatan telah dipertimbangkan untuk perbanyakan kultur jaringan kopi diantaranya, organogenesis, (menggunakan tunas adventif dan aksilar), mikrocutting, dan embriogenesis somatik (Santana-Buzzy *et al.*, 2007; Andres *et al.*, 2008).

Perbanyakan melalui embriogenesis somatik dari berbagai jenis eksplan telah dilakukan dengan menggunakan kultur anther, meristem, biji, hipokotil, epikotil, akar, dan daun. Hasil penelitian Penggunaan eksplan daun pada kopi arabika dalam proses embriogenesis somatik paling responsif dalam menghasilkan embrio somatik dibandingkan bagian tanaman yang lain (Figueroa-Quiroz *et al.*, 2002; Albarra'n *et al.*, 2005; Ahmed *et al.*, 2013; Ibrahim *et al.*, 2013; Kahia *et al.*, 2016).

Selain penggunaan eksplan yang tepat, media dasar dan zat pengatur tumbuh sangat dibutuhkan dalam perbanyakan kopi arabika melalui embriogenesis somatik. Faktor penting dalam induksi dan perkembangan embriogenesis sel somatik adalah komposisi nutrisi pada media kultur (Santos-Briones dan Hernández-Sotomayor, 2006; Méndez-Hernández *et al.*, 2019).

Berdasarkan uraian dari latar belakang di atas maka diperlukan penelitian untuk mencari kombinasi zat pengatur tumbuh yang terbaik dalam induksi kalus embriogenik dengan menggunakan eksplan daun kopi arabika (*Coffea Arabica* var. Lini-s) dan pertumbuhan kalus embriogenik hingga membentuk embrio somatik.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian dalam latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu :

- A. Bagaimanakah pengaruh pemberian 2,4-D dan kinetin dalam induksi kalus embriogenik dengan menggunakan eksplan daun kopi arabika (*Coffea arabica* var. Lini-s 795) ?
- B. Bagaimanakah pertumbuhan kalus embriogenik hingga membentuk embrio somatik ?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis Pengaruh 2,4-D dan kinetin dalam induksi kalus embriogenik dengan menggunakan eksplan daun kopi arabika (*Coffea arabica* var. Lini-s 795).
2. Menganalisis pertumbuhan kalus embriogenik hingga membentuk embrio somatik.

D. Manfaat Penelitian

Dengan dilakukannya penelitian ini dengan latar belakang yang sudah dipaparkan maka akan diperoleh manfaat sebagai berikut :

1. Dapat memberikan tambahan ilmu pengetahuan tentang penambahan zat pengatur tumbuh yang terbaik dalam embriogenesis somatik daun kopi arabika.
2. Dapat menghasilkan jumlah bibit tanaman kopi arabika yang homogen dan unggul sesuai indukan.
3. Dapat menjadi salah satu cara untuk melestarikan kopi arabika var. Lini-s 795 yang ada di Toraja.

E. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini menggunakan eksplan daun kopi arabika var. Lini-s 795 yang diperoleh dari Lembang Perindangan kec. Gandangbatu Sillanan. Selanjutnya penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium kultur Jaringan, Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kopi (*Coffea L*)

Tanaman kopi merupakan tanaman perkebunan yang berasal dari Benua Afrika, tepatnya dari negara Ethiopia pada abad ke-9. Suku Ethiopia memasukan biji kopi sebagai makanan mereka yang dikombinasikan dengan makanan-makanan pokok lainnya, seperti daging dan ikan. Tanaman ini mulai diperkenalkan di dunia pada abad ke-17 di India. Selanjutnya, tanaman kopi menyebar ke Benua Eropa oleh seorang yang berkebangsaan Belanda dan terus dilanjutkan ke negara lain termasuk ke wilayah jajahannya yaitu Indonesia (Panggabean, 2011).

Penyebaran tumbuhan kopi ke Indonesia sekitar tahun 1646. Oleh Gubernur Jenderal Belanda di Malabar, jenis kopi arabika mocca yang didapat dari Arabia dikirim ke Batavia pada tahun 1696. Karena tanaman ini mati oleh banjir, pada tahun 1699 didatangkan lagi bibit-bibit baru, yang kemudian berkembang di sekitar Jakarta dan Jawa Barat, dan akhirnya menyebar ke berbagai bagian di kepulauan Indonesia (Prastowo, 2010).

Kopi Arabika (*Coffea arabica*) adalah kopi yang paling baik mutu dan cita rasanya dibanding jenis kopi yang lain. Biji kopi Arabika berukuran cukup besar, dengan bobot 18-22 g tiap 100 biji. Warna biji agak coklat dan biji yang terolah dengan baik akan mengandung warna

agak kebiruan dan kehijauan. Biji bermutu baik dengan cita rasa khas kopi Arabika yang kuat dan rasa sedikit asam, kandungan kafein: 1-1,3%. Kopi Arabika memang dikenal terlebih dahulu oleh konsumen di banyak negara, sehingga kelezatan kopi Arabika lebih dikenal superior dibandingkan dengan kopi Robusta (Najiyati dan Danarti, 2007).

Kopi Arabika akan tumbuh lebih baik di dataran tinggi 1000 - 2000 m dpl. Pada lahan yang tinggi tersebut aroma kopi Arabika lebih baik dibandingkan apabila ditanam dilahan yang lebih rendah (Prastowo, 2010). Kelembaban udara yang ideal yaitu antara 70% sampai 89%. Tanaman kopi membutuhkan hujan yang cukup banyak yaitu pada saat perkembangan biji, dan curah hujan tidak terlalu banyak dibutuhkan pada saat berbunga dan perkembangan buah, karena hujan dengan intensitas tinggi akan menyebabkan bunga rontok dari tanaman (AEKI, 2006).

B. Klasifikasi dan morfologi tanaman kopi arabika

Klasifikasi tanaman kopi (*Coffea sp.*) menurut (Rahardjo, 2012) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Rubiales
Family : Rubiaceae
Genus : *Coffea*
Spesies : *Coffea arabica*

Tanaman kopi tidak tahan gangguan angin kencang karena dapat merusak cabang tanaman dan merontokkan bunga sehingga menurunkan produksi. Tanaman kopi tumbuh tegak, bercabang dan tinggi yang dapat mencapai 12 m. Secara umum daun kopi bentuk bulat telur dengan ujung meruncing. Daun tumbuh berhadapan pada batang, cabang dan ranting. Sepasang daun terletak dibidang yang sama dicabang dan ranting yang tumbuh mendatar meruncing (Panggabean, 2011).

Sistem percabangan tanaman kopi agak berbeda dengan tanaman lain. Pertanaman kopi dikenal adanya cabang orthotrop dan plagiotrop. Cabang orthotrop disebut juga cabang reproduksi, cabang ini tumbuh tegak dan lurus dan sifatnya hampir sama dengan batang utama, sementara plagiotrop atau cabang primer merupakan cabang yang tumbuh pada batang utama atau cabang reproduksi dan berasal dari tunas primer. Cabang ini tumbuh kesamping dengan arah pertumbuhan mendatar, lemah dan berfungsi sebagai penghasil bunga. Selain tipe percabangan tersebut dikenal juga adanya cabang sekunder, cabang kipas, cabang pecut, cabang balik dan cabang air (Najiyati & Danarti, 2007; Panggabean, 2011).

Daun kopi memiliki bentuk bulat telur, bergaris ke samping, bergelombang, hijau pekat, kekar, dan meruncing di bagian ujungnya. Daun tumbuh dan tersusun secara berdampingan di ketiak batang, cabang dan ranting. Sepasang daun terletak dibidang yang sama di cabang dan ranting yang tumbuh mendatar. Kopi Arabika memiliki daun yang lebih

kecil dan tipis apabila dibandingkan dengan spesies kopi Robusta yang memiliki daun lebih lebar dan tebal. Warna daun kopi Arabika hijau gelap, sedangkan kopi Robusta hijau terang (Panggabean 2011).

Pada umumnya tanaman kopi berbunga setelah berumur sekitar dua tahun. Mula -mula bunga ini keluar dari ketiak daun yang terletak pada batang utama atau cabang reproduksi. Bunga yang jumlahnya banyak akan keluar dari ketiak daun yang terletak pada cabang primer. Bunga ini berasal dari kuncup -kuncup sekunder dan reproduktif yang berubah fungsinya menjadi kuncup bunga. Kuncup bunga kemudian berkembang menjadi bunga secara serempak dan bergerombol (Budiman, 2012).

Bila bunga sudah dewasa, terjadi penyerbukan dengan pembukaan kelopak dan mahkota yang akan berkembang menjadi buah. Kulit buah yang berwarna hijau akan menguning dan menjadi merah tua seiring dengan pertumbuhannya. Waktu yang diperlukan dari bunga menjadi buah matang sekitar 6-11 bulan, tergantung jenis dan lingkungan. Kopi Arabika membutuhkan waktu 6-8 bulan, sedangkan kopi Robusta 8-11 bulan. Bunga umumnya mekar awal musim kemarau dan buah siap dipetik diakhir musim kemarau. Diawal musim hujan, cabang primer akan memanjang dan membentuk daun-daun baru yang siap mengeluarkan bunga pada awal musim kemarau mendatang (Najiyati dan Danarti, 2007).

Umumnya buah kopi mentah berwarna hijau muda setelah itu berubah menjadi hijau tua, kuning dan pada saat matang berwarna merah atau merah tua. Namun ada juga buah kopi yang saat matangnya berwarna kuning. Salah satu yang sangat populer adalah kopi Arabika kultivar Bourbon. Kultivar ini diduga muncul dari mutasi alami pada kultivar Bourbon berbuah merah atau merupakan rekombinan dari hasil persilangan kultivar Caturra Amerello. Selain kultivar Bourbon di Barsil ada juga kultivar Caturra Amarello yang berwarna kuning (Sera *et al.*, 2003).

C. 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 (von Arnorld *et al.*, 2002). Teknik ini tidak membutuhkan tempat yang luas, dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa mengenal musim, bibit yang dihasilkan lebih sehat karena bebas hama penyakit, mempunyai akar tunggang. Jumlah propagul yang dihasilkan dari embrogenesis somatik tidak terbatas (Purnamaningsih, 2002), kualitas tanama sama seperti induknya dan dapat digunakan sebagai metode konservasi tanaman yang langka dan hampir punah (Ardiyani F, 2017). Pada embriogenesis somatik, setiap sel pada jaringan yang ditanam berpotensi berkembang menjadi satu individu baru, sehingga kapasitas produksi bibitnya dapat mencapai ratusan ribu hingga jutaan bibit (Roostika, 2009).

Dalam pola regenerasi melalui embriogenesis, terdapat beberapa tahapan dari eksplan menjadi tanaman lengkap yang meliputi tahapan induksi kalus, poliferasi kalus, dan diferensiasi kalus menjadi jaringan. Proses pembentukan embrio somatik pada umumnya dimulai dengan terbentuknya tonjolan membulat yang biasanya muncul dari eksplan atau kalus. Perkembangan embriogenesis somatik yang normal akan melalui tahapan proembrio, globular, bentuk hati, torpedo, kolitedon (Ibrahim, 2013).

Pada tahap induksi kalus eksplan ditanam pada media tumbuh untuk menginduksi pembentukan kalus yang bersifat embriogenik (Ibrahim, 2013). Bagian organ yang sering digunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan kopi adalah daun muda (Santana *et al.*, 2007). Penggunaan media MS dengan $\frac{1}{2}$ konsentrasi garam makro dan mikro yang dilengkapi vitamin B5, zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin baik secara tunggal maupun kombinasi dapat menginduksi kalus dan massa proembrio dari eksplan daun kopi arabika varietas Sigarar Utang (Ibrahim, 2012).

Pada bagian daun yang sudah disayat yang bersentuhan dengan media merupakan tempat pengambilan mineral untuk pembentukan kalus (Ahmed *et al.*, 2013). Kalus yang terbentuk dalam kultur *in vitro* dibedakan menjadi dua macam, yaitu kalus embriogenik dan kalus non embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang memiliki potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui embriogenesis. Sedangkan kalus

non embriogenik adalah kalus yang tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman (Surbarnas, 2011).

D. Media Kultur

Keberhasilan metode embriogenesis somatik sangat tergantung pada media yang digunakan. Media tumbuh berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang akan dihasilkan. Pemilihan media yang akan digunakan dalam kultur *in vitro* sangat tergantung pada jenis tanaman yang dikulturkan, dan bentuk pertumbuhan dari diferensiasi yang diinginkan. Media dasar yang sering digunakan dalam embriogenesis kopi adalah media MS yang telah dimodifikasi untuk meningkatkan dan menurunkan kandungan garam mineral yang ada dalam media (Samson *et al*, 2006 ; Etienne, 2005). Media kultur telah dikomposisikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikulturkan. Unsur-unsur hara yang dibutuhkan dalam embriogenesis somatik kopi antara lain adalah unsur hara makro, unsur hara mikro, vitamin, zat pengatur tumbuh tanaman, sukrosa dan bahan pemat (Ibrahim, 2015).

E. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan komponen penting dalam memberi arah pertumbuhan dan perkembangan sel atau jaringan tanaman. Pada embriogenesis somatik kopi ZPT yang berperan penting adalah dari golongan auksin dan sitokinin. Perbandingan auksin dan sitokinin menentukan seberapa besar proses embriogenesis somatik dalam kultur jaringan tanaman. Auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media kultur mempunyai tujuan untuk mendapatkan morfogenesis dari eksplan yang dikulturkan sampai terbentuk planlet (Ibrahim, 2015). Sama halnya yang diungkapkan oleh Yusnita (2003), mengemukakan bahwa regenerasi tunas dan akar *in vitro* dikontrol secara hormonal oleh ZPT sitokinin dan auksin. Sitokinin dan auksin merupakan dua kelompok ZPT yang merupakan komponen media yang penting dalam kultur jaringan.

a. 2,4-D (*dichlorophenoxyacetid acid*)

2,4-D (*dichlorophenoxyacetid acid*) adalah jenis hormon yang termasuk dalam golongan auksin yang paling efektif dalam kultur embriogenik. Dibandingkan dengan golongan auksin IAA, 2,4-D memiliki sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Indah, 2013).

2,4-D memiliki rumus molekul $C_8H_6Cl_2O_3$ dan telah lama digunakan sebagai salah satu komponen media tumbuh yang mampu menginduksi

kalus embriogenik pada berbagai jenis tanaman. Penambahan 2,4-D dalam media kultur akan dapat merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus (Rahayu *et al*, 2002).

b. Kinetin (6-Furfurylamino purine)

Kinetin merupakan zat pengatur tumbuh dari jenis sitokinin yang telah banyak digunakan dalam kultur jaringan. Sitokinin berperan merangsang pembelahan sel dalam jaringan yang disebut eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas daun. Kinetin memiliki rumus molekul $C_{10}H_9N_5O$ (Kartikasari, 2013).

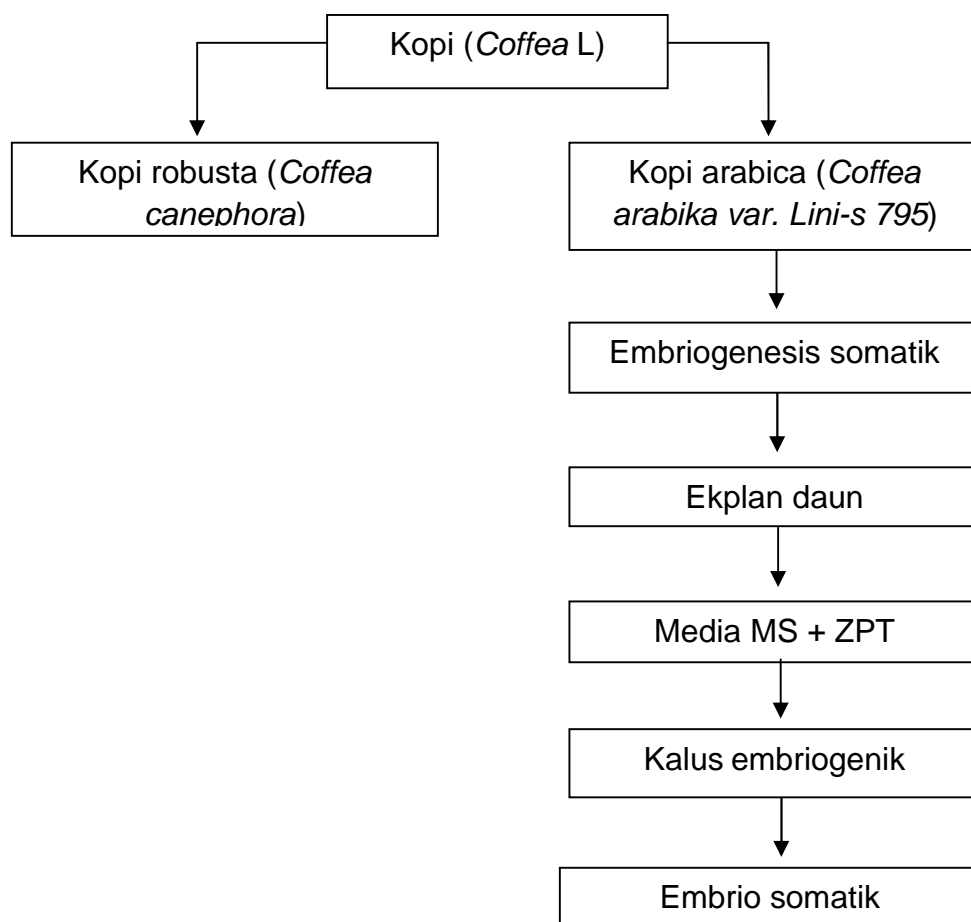
F. Kerangka Konseptual

Kopi merupakan salah satu tanaman perkebunan yang sudah lama dibudidayakan dan berperan dalam bidang perekonomian nasional. Di Indonesia ada dua jenis kopi yang dibudidayakan yaitu kopi robusta dan kopi arabika. Kopi arabika memiliki aroma yang khas dan cita rasa yang enak dibanding kopi robusta, sehingga dalam dunia perdagangan harganya selalu lebih tinggi.

Perbanyakan kopi arabika pada umumnya dilakukan secara generatif menggunakan biji atau secara vegetatif menggunakan stek okulasi dan sambung pucuk. Namun, cara perbanyakan ini memiliki keterbatasan dalam jumlah tanam. Pada penelitian ini diharapkan perbanyakan kopi arabika melalui embriogenesis somatik menjadi solusi dalam perbanyakan tanaman karena mampu menghasilkan bibit dalam

jumlah banyak dalam waktu yang singkat dan bebas hama penyakit. Zat pengatur tumbuh merupakan salah satu faktor penentu dalam embriogenesis somatik karena merupakan komponen penting dalam memberi arah pertumbuhan dan perkembangan sel atau jaringan tanaman.

Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengetahui kombinasi zat pengatur tumbuh yang terbaik dalam induksi kalus embriogenik dan embrio somatik kopi arabika var.Lini-s 795.



Gambar 1. Kerangka Konseptual

G. Definisi Operasional

1. Embriogenesis somatik merupakan suatu proses saat sel somatik berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet.
2. eksplan adalah bagian dari tanaman yang diambil untuk ditumbuhkan pada medium secara aseptik.
3. Kalus embriogenik merupakan kalus yang mampu berkembang menjadi embrio somatik.
4. Embrio somatik mampu berkembang menjadi planlet (tumbuhan lengkap akar, batang dan daun). Dengan awal terbentuknya adalah golbular, hati, torpedo, kotiledon dan planlet.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimentatif secara *in vitro* di laboratorium, variabel yang diamati pada penelitian ini adalah variabel bebas (X) yaitu konsentrasi 2,4-Dichlorophenoxy acetid acid (0,5, 1, 2 ppm) dan 6-Furfuryl amino purine (0,5, 1, 2 ppm,) sedangkan variabel terikat (Y) yaitu eksplan daun kopi arabika var. *Lini-s 795* yang ditumbuhkan secara *in vitro* serta variabel kontrol yaitu eksplan daun kopi arabika yang tidak diberikan penambahan 2,4-D maupun kinetin

Pengambilan sampel daun muda kopi arabika *Lini-s 795* kemudian sampel dibersihkan dan disterilisasi. Selanjutnya, eksplan ditanam pada media MS (Murashige and Skoog) dengan penambahan zat pengatur tumbuh berupa 2,4-D dan kinetin lalu kemudian diamati pertumbuhan kalus selama 2 bulan. kalus yang terbentuk disubkultur ke media yang sama untuk mengamati pertumbuhan kalus embriogenik hingga membentuk embrio somatik.