

**EFEKTIVITAS KOMBINASI HORMON 2,4-D DAN THIDIAZURON (TDZ)
TERHADAP INISIASI KALUS KOPI ARABIKA
Coffea arabica var. lini-s ASAL KABUPATEN BANTAENG
SECARA *IN VITRO***



**NURUL AMALIA
H041201033**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
SARJANA S-1 MIPA (S1) S1
FASULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EFEKTIVITAS KOMBINASI HORMON 2,4-D DAN THIDIAZURON (TDZ)
TERHADAP INISIASI KALUS KOPI ARABIKA
Coffea arabica var. lini-s ASAL KABUPATEN BANTAENG
SECARA *IN VITRO***

NURUL AMALIA

H041 20 1033



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2024

**EFEKTIVITAS KOMBINASI HORMON 2,4-D DAN THIDIAZURON (TDZ)
TERHADAP INISIASI KALUS KOPI ARABIKA
Coffea arabica var. lini-s ASAL KABUPATEN BANTAENG
SECARA *IN VITRO***

NURUL AMALIA
H041 20 1033

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Biologi

Pada



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
& MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

SKRIPSI**EFEKTIVITAS KOMBINASI HORMON 2,4-D DAN THIDIAZURON (TDZ)
TERHADAP INISIASI KALUS KOPI ARABIKA
Coffea arabica var. lini-s ASAL KABUPATEN BANTAENG
SECARA *IN VITRO*****NURUL AMALIA
H041201033**

Skripsi

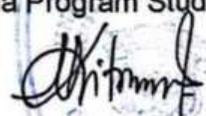
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi pada tanggal
"01 Oktober 2024" dan dinyatakan memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Biologi
Departemen Biologi
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar



Optimized using
trial version
www.balesio.com

Itama,


Latunra, M.Si
1992031001Mengetahui,
Ketua Program Studi
Dr. Magdalena Litaay, M.Sc.
NIP 196409291989032002

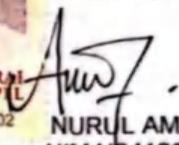
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, karya ilmiah berjudul "Efektivitas Kombinasi Hormon 2,4-D dan Thidiazuron (TDZ) Terhadap Inisiasi Kalus Kopi Arabika *Coffea arabica* var. lini-s Asal Kabupaten Bantaeng Secara *In Vitro*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si sebagai Pembimbing Utama. Skripsi ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 15-07-2024




NURUL AMALIA
NIM HD41201033



UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan mengucapkan *Alhamdulillahirabbil'alamin*, jika seandainya lautan dijadikan tinta dan pepohonan menjadi kalam untuk mencatat segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT, yang melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, maka tidaklah cukup meskipun ditambah dengan tujuh kali banyaknya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW yang mengantarkan manusia dari zaman Terima kasih kepada Angkatan 2020 (Biotropic) telah mau belajar, tumbuh, dan berkembang bersama-sama. Kedepannya tetap saling menginspirasi untuk menjadi versi terbaik dari diri kita sendiri. Terima kasih, Angkatan 2020 (Biotropic) karena telah menjadi bagian tak terpisahkan dari perjalanan luar biasa ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesarnya dengan segenap kerendahan hati dan penghargaan yang tak terbendung hingga tak terhingga sedalam-dalamnya untuk semua pihak yang mendukung dan terlibat dalam penelitian hingga akhir penyusunan karya ilmiah ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada kerabat dan keluarga terkhusus untuk ayahanda Aminuddin dan ibunda Ramlah, S.Sos. serta adinda Nur Amria, yang senantiasa menyayangi penulis, memenuhi segala kebutuhan penulis, yang selalu mendukung dan memotivasi penulis setiap saat termasuk dalam penyusunan skripsi ini, semoga segala budi dan bantuan tulus yang telah diberikan menjadi amal jariah serta mendapat imbalan yang berlipat ganda dari Allah Subhanahu Wa Ta'ala, semoga di masa yang akan datang karya ilmiah ini bisa berguna dan bermanfaat sebagai referensi tambahan bagi banyak orang, *Aamiin Allahumma Aamiin*.

Penulis juga menyampaikan penghargaan setinggi-tingginya dan terima kasih kepada Bapak Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si. selaku pembimbing utama atas kesediannya meluangkan banyak waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan motivasi kepada penulis, mulai dari awal penyusunan sampai penyelesaian skripsi ini. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Si., selaku rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc., selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc., selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan terima kasih atas ilmu, masukan, saran dan dukungannya.
4. Ibu Prof. Dr. Dirayah R Husain, DEA. Dan Ibu Mustika Tuwo, S.Si., S.Pd, M.Sc. selaku dosen penguji, terima kasih atas segala arahan dan saran serta motivasi



ing diberikan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
, S.Si., M.Si. selaku kakak tingkat penulis. Yang selalu memotivasi
mengarahkan penulis, mulai berkenalan tahun 2021 hingga saat ini.
abat Penulis, terima kasih atas dukungan, bantuan do'a, dan
nya selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini
pada Rahmawati, S.Si. yang selalu menjadi teman cerita dan turut

membantu dan memotivasi penulis dalam penyusunan skripsi ini, Hasnawati, S.Si. teman yang dengan kebaikan hatinya selalu membantu dan mengajar penulis selama perkuliahan hingga saat ini, Melati Reski Wulandari teman yang selalu membawa keceriaan, kehadirannya yang selalu membuat penulis terhibur, Rivaldi Pratama, S.Si. satu-satunya teman lelaki yang akrab dengan penulis selama perkuliahan, yang selalu siap membantu ketika penulis merasa kesusahan.

7. Sahabat-sahabat SMP penulis, kepada Alipa dea nahdla R, S.AB. yang sudah menjadi sahabat lama, turut membantu dalam proses penyusunan skripsi ini, selalu ada dalam suka maupun duka penulis, sahabat yang memiliki effort ketika penulis membutuhkan sesuatu, dan Maharani yang juga merupakan sahabat lama penulis, yang selalu menjadi sahabat yang sabar, selalu membuat penulis merasa nyaman, dan jadi tempat curhat penulis.
8. Teman-teman Biologi Angkatan 2020, terima kasih atas do'a, dan kebersamaannya selama perkuliahan,
9. Asmin, yang selalu menemani penulis, sehingga penulis sangat bersemangat untuk meng-upgrade diri, termasuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Kepada teman-teman, yang menemani penulis dalam pengambilan sampel penelitian skripsi ini.
11. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga segala kebaikan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dapat bernilai ibadah di sisi Allah SWT. Akhir kata, penulis memohon maaf atas kesalahan yang disengaja maupun tidak disengaja dalam rangkaian penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Penulis,



Nurul Amalia



ABSTRAK

Nurul Amalia Efektivitas Kombinasi Hormon 2,4-D dan Thidiazuron (TDZ) Terhadap Inisiasi Kalus Kopi Arabika *Coffea arabica* var. lini-s Asal Kabupaten Bantaeng Secara *In Vitro*. Dibimbing oleh Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si.

Latar Belakang. Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) merupakan komoditas perdagangan penting yang mengalami keterbatasan produksi tahunan, sehingga diperlukan metode perbanyak yang efisien. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat dan Thidiazuron (TDZ) terhadap inisiasi *Coffea arabica* L. dan konsentrasi optimal kombinasi 2,4-D dan TDZ terhadap inisiasi daun kopi arabika *Coffea arabica* L. **Metode.** Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor perlakuan yaitu konsentrasi Thidiazuron (TDZ) (0 ppm, 1 ppm, 3 ppm, dan 5 ppm) dan konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (0 ppm, 0,5 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm). Parameter pengamatan meliputi lama pertumbuhan kalus, berat basah kalus, warna kalus, dan tekstur kalus. Dengan menggunakan Data kuantitatif dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk membandingkan pengaruh masing-masing perlakuan. **Hasil.** Kombinasi konsentrasi 2,4-D dan TDZ memiliki pengaruh yang signifikan terhadap inisiasi kalus dari eksplan daun kopi arabika. Berbagai kombinasi konsentrasi hormon ini menghasilkan kalus dengan tekstur dan warna yang berbeda-beda. Kombinasi 2,4 D dan TDZ juga memberikan pengaruh yang signifikan terhadap waktu tumbuh kalus dan biomassa kalus. **Kesimpulan.** Konsentrasi optimal kombinasi 2,4-D dan TDZ yang dapat digunakan untuk inisiasi kalus daun kopi Arabika adalah 2,4-D dengan konsentrasi 2ppm dan TDZ dengan konsentrasi 1 ppm dengan waktu tumbuh selama 47 Hari dengan berat kalus 0,25 , warna kalus putih kekuningan dengan tekstur remah, tekstur ini menunjukkan potensi tertinggi untuk berkembang menjadi kalus embriogenik, yang penting dalam perbanyak tanaman kopi secara in vitro. konsentrasi 2,4-D dan TDZ (Thidiazuron) dalam induksi kalus menunjukkan beberapa hasil yang dapat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan hormon yang sama. Pada konsentrasi optimal yaitu dengan penambahan 2 ppm 2,4-D dan 1 ppm tdz efektif dalam meningkatkan induksi kalus

Kata kunci: *kopi arabika; kultur kalus; 2,4- Dichlorophenoxyacetic acid; Thidiazuron*



ABSTRACT

Nurul Amalia Effectiveness of Combination of 2,4-D and Thidiazuron (TDZ) Hormones on Callus Initiation of Arabica Coffee *Coffea arabica* var. lini-s from Bantaeng Regency In Vitro. Supervised by Dr. Andi Ilham Latunra, M.Sc.

Background. Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) is an important trade commodity that experiences annual production limitations, so an efficient propagation method is needed. **Objectives.** This study aims to determine the effect of the combination of 2,4-D and TDZ concentrations on the initiation of *Coffea arabica* L. and the optimal concentration of the combination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic and Thidiazuron (TDZ) on the initiation of Arabica coffee leaves *Coffea arabica* L. **Methods.** The study was conducted using a completely randomized design (CRD) with two treatment factors, namely the concentration of Thidiazuron (TDZ) (0 ppm, 1 ppm, 3 ppm, and 5 ppm) and the concentration of 2,4-Dichlorophenoxyacetate (0 ppm, 0.5 ppm, 1.5 ppm, and 2 ppm). Observation parameters include callus growth period, callus wet weight, callus color, and callus texture. By using Quantitative data were analyzed using the Kruskal-Wallis test and continued with the Mann-Whitney test to compare the effect of each treatment. **Results.** The combination of 2,4-D and TDZ concentrations has a significant effect on callus initiation from Arabica coffee leaf explants. Various combinations of these hormone concentrations produce callus with different textures and colors. The combination of 2,4 D and TDZ also has a significant effect on callus growth time and callus biomass. **Conclusion.** The optimal concentration of 2,4-D and TDZ combination that can be used for Arabica coffee leaf callus initiation is 2,4-D with a concentration of 2ppm and TDZ with a concentration of 1 ppm with a growth time of 47 days with a callus weight of 0.25, yellowish white callus color with a crumbly texture, this texture shows the highest potential to develop into embryogenic callus, which is important in in vitro coffee plant propagation. The concentration of 2,4-D and TDZ (Thidiazuron) in callus induction showed some results that could be compared to previous studies using the same hormone. At the optimal concentration, namely with the addition of 2 ppm 2,4-D and 1 ppm tdz, it is effective in increasing the induction of callus.

Keywords: *Arabica coffee; callus culture; 2,4- Dichlorophenoxyacetic acid; Thidiazuron*



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori	4
1.2.1 Kopi arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	4
1.2.2 Klasifikasi <i>Coffea arabica</i> L.....	5
1.2.3 Morfologi kopi arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	6
1.2.4 Media MS.....	7
1.2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	8
1.2.6 Kultur jaringan Kalus	11
1.2.7 Sterilisasi.....	13
1.3 Tujuan Penelitian	14
1.4 Manfaat Penelitian	14
1.5 Waktu dan Tempat	15
BAB 2 METODE PENELITIAN	15
2.1 Alat dan Bahan	15
2.1.1 Alat	15
2.1.2 Bahan	15
2.1.3 Media Penelitian.....	15
2.1.4 Media Kultur.....	16
2.1.5 Sterilisasi Alat dan Bahan	16
2.1.6 Kultur Jaringan Kalus.....	16
2.1.7 Larutan Stok ZPT.....	16
2.1.8 Pembuatan Larutan Stok 2,4-D.....	16



2.3.2.2 Pembuatan Larutan Stok TDZ.....	16
2.4 Pembuatan Media.....	17
2.4.1 Pembuatan Media MS.....	17
2.4.2 Pembuatan Media MS +2,4-D	17
2.4.3 Pembuatan Media MS +TDZ.....	17
2.4.4 Pembuatan Media MS+ 2,4 D + TDZ	18
2.5 Tahap Pengamatan.....	18
2.5.1 Penanaman Eksplan.....	18
2.5.2 Waktu Pertumbuhan Kalus.....	18
2.5.3 Karakteristik Morfologi Kalus.....	18
2.5.3 Biomassa Kalus.....	19
2.6 Analisis Data.....	19
BAB 3 HASIL DAN PEMBAHASAN	20
3.1 Waktu Tumbuh Kalus kopi arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	20
3.2 Berat Basah Kalus Kopi arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	24
3.3 Warna Kalus Kopi Kopi arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	27
3. 4.Tekstur Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	29
BAB 4 KESIMPULAN DAN SARAN	31
4.1 Kesimpulan	31
4.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	37



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Komposisi media (<i>Murashige</i> dan <i>Skoog</i>) MS).....	7
Tabel 2. Kombinasi perlakuan Media MS + TDZ + Hormon 2,4-D.....	15
Tabel 3. Hasil Uji Lanjut Mann-Whitney pada Waktu Tumbuh Kalus	22
Tabel 4. Hasil Uji Lanjut Mann-Whitney pada Berat Basah Kalus.....	25
Tabel 5. Warna kalus kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	27
Tabel 6. Tekstur kalus kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L	29
Tabel 7. Data hasil pengamatan hari tumbuh kalus kopi Arabika.....	45
Tabel 8. Tes Normalitas Hari tumbuh kalus.....	45
Tabel 9. Tes Homogenitas Hari tumbuh kalus.....	45
Tabel 10. Uji Kruskal-Wallis Hari Tumbuh Kalus.....	46
Tabel 11. Uji Mann Whitney Hari Tumbuh Kalus.....	46
Tabel 12. Data hasil pengamatan berat basah kalus.....	47
Tabel 13. Uji Normalitas Pada Berat Basah Kalus.....	48
Tabel 14. Uji Homogenitas Pada Berat Basah Kalus.....	48
Tabel 15. Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Pada Berat Basah Kalus.....	48
Tabel 16. Uji Mann Whitney Pada Berat Basah Kalus.....	49



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman kopi arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	5
Gambar 2. Rumus bangun TDZ.....	10
Gambar 3. Grafik Rata-rata Waktu Tumbuh Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L. pada 58 HST.....	20
Gambar 4. . Grafik Rata-rata Berat Basah Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L. pada 58 HST.....	24
Gambar 5 Warna Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	28
Gambar 6. Tekstur Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	30
Gambar 7. Desain Penelitian.....	38
Gambar 8. Sterilisasi Alat dan Ruang.....	39
Gambar 9. Pembuatan larutan stok ZPT 2,4 D dan TDZ.....	39
Gambar 10. Pembuatan media pertumbuhan	40
Gambar 11. Pengambilan sampel daun kopi Arabika.....	41
Gambar 12. Inisiasi eksplan daun Kopi Arabika.....	42
Gambar 13. Pemeliharaan eksplan.....	42
Gambar 14. Pengamatan eksplan.....	42
Gambar 15. Hasil Pengamatan Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	43



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi sebagai komoditas unggulan perdagangan telah diproduksi di lebih dari 50 negara berkembang, termasuk Indonesia. Indonesia berpengaruh besar sebagai produsen kopi terkemuka di dunia. Data *Food and Agriculture Organization of United Nation* (FAO) menunjukkan kontribusi Indonesia sebagai negara penghasil kopi terbesar keempat di dunia setelah Kolombia, Brasil, dan Vietnam Berdasarkan data FAO, rata-rata produksi kopi Indonesia dari tahun 2016-2020 sebesar 725,68 ribu ton per tahun, dan rata-rata ekspor sebesar 368,14 ribu ton per tahun (Pusdatin, 2020). Varietas kopi Indonesia, termasuk kopi arabika dan kopi robusta memiliki karakteristik rasa dan aroma yang unik, tergantung pada wilayah tempat tanamnya. Kopi yang ada di Indonesia diperdagangkan dalam bentuk biji kopi hijau, kopi bubuk, kopi instan, dan berbagai macam produk (Sativa et al., 2014).

Kopi merupakan tanaman perkebunan yang sudah lama menjadi tanaman yang dibudidayakan salah satunya adalah kopi arabika. Tempat yang cocok untuk pertumbuhan kopi arabika berada pada ketinggian 1.000 hingga 1.700 meter di atas permukaan laut. Di lokasi yang lebih rendah dari 1.000 meter, tanaman kopi arabika rentan terkena penyakit karat daun, sedangkan pada ketinggian lebih dari 1.700 meter, produksinya tidak maksimal karena pertumbuhan vegetatifnya lebih cepat dibandingkan pertumbuhan generatif (Karim et al., 2024). Budidaya kopi Arabika bukan hanya menjadi sumber pendapatan bagi petani, tetapi juga memainkan peran penting dalam ekonomi nasional (Society et al., 2018).

Coffea arabica var. lini-s dari Bantaeng memang terkenal karena kualitasnya yang tinggi. Varietas ini tumbuh di daerah dengan ketinggian antara 800 hingga 1400 meter di atas permukaan laut (Latunra et al., 2023). Kopi arabika var. lini-S, yang juga dikenal sebagai S-line, memiliki cita rasa unggul dan nilai ekonomi yang tinggi. Varietas ini awalnya dikembangkan di India untuk menghasilkan bibit kopi yang tahan terhadap



lah satu jenis yang terkenal dari hasil pengembangan ini adalah S-anam di Indonesia dan negara-negara Asia Pasifik lainnya (Andini i kopi arabika merupakan salah satu bahan perdagangan penting an jaringan perdagangan antar bangsa dari negara-negara ra-negara maju yang merupakan konsumen utama. Namun, jumlah

produksi kopi arabika terbatas untuk produksi setiap tahunnya. Jumlah rata-rata produksi kopi arabika hanya mencapai 798,4 Ton/tahun (Badan Pusat Statistik, 2023) yang tidak sebanding dengan permintaan kopi, sehingga perlu metode untuk mendapatkan kopi dalam waktu yang singkat dalam jumlah yang banyak (Jannah et al., 2017).

Perbanyakan tanaman kopi dapat dilakukan melalui metode generatif menggunakan biji, metode vegetatif seperti stek atau sambung pucuk, serta metode non-konvensional dengan teknik kultur *in vitro* (Pratama et al., 2023). Teknik kultur *in vitro* ini memungkinkan perbanyakan tanaman kopi dengan cara yang lebih terkendali. Teknik kultur jaringan akhir-akhir ini telah banyak dilakukan termasuk untuk beberapa jenis tanaman kopi. Teknik ini didasarkan atas sifat totipotensi sel tumbuhan yang berarti kemampuan setiap sel tumbuhan untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh bila diberikan lingkungan yang sesuai dengan cara ini dapat dihasilkan bibit tanaman kopi yang seragam dalam jumlah besar (Arimarsetiowati, 2012).

Penelitian mengenai perbanyakan tanaman kopi secara *in vitro* telah banyak dilakukan. Namun, kemampuan regenerasi tanaman sering kali bersifat spesifik, artinya tanaman dari genotipe yang berbeda dapat memberikan respons yang berbeda dalam regenerasi tunas atau embrio. Hal ini juga dibahas dalam studi oleh Hapsoro et al. (2019), yang mengevaluasi pengaruh 2-isopentenyladenine (2-iP), Benzyladenine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), dan Thidiazuron (TDZ) pada embriogenesis somatik *in vitro* kopi Robusta unggul Lampung. Oleh karena itu, perlu didapatkan prosedur regenerasi *in vitro* tanaman kopi arabika yang sesuai dengan genotipe tanaman, sehingga ketersediaan bibit dalam jumlah banyak dapat diwujudkan.

Faktor penentu keberhasilan dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan tumbuhan salah satunya adalah media yang digunakan. Media yang banyak digunakan dalam kultur jaringan adalah media Murashige Skoog (MS). Media ini mengandung garam dan nitrat dengan konsentrasi lebih tinggi dibanding media lain sehingga sukses digunakan pada berbagai tanaman. Selain media MS, penambahan zat pengatur tumbuh penting ditambahkan ke dalam media kultur *in vitro*. Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah senyawa organik yang dapat merangsang, menghambat, atau mengubah pola uhan, (Ernita et al., 2023). Terdapat dua golongan ZPT yang penting dalam kultur *in vitro* yaitu auksin dan sitokinin. ZPT yang berasal dari bahan anorganik atau sintetik, namun ZPT bisa juga organik. ZPT yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sangat menentukan arah perkembangan suatu kultur jaringan,



sehingga mempengaruhi proses pertumbuhan dan morfogenesis. Zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin mendorong pembentukan akar, sementara ZPT sitokinin dapat merangsang pembentukan tunas seperti pada penelitian tentang pengaruh Naphthalene Acetic Acid (NAA) dan kinetin terhadap multiplikasi tunas jahe (Mawaddah et al., 2021). *2,4-Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) termasuk dalam kelompok auksin dan sering diterapkan dalam teknik kultur jaringan (GOOD, 2015). 2,4-D adalah jenis auksin yang memiliki kemampuan untuk memicu pembentukan sel (Zulaikha et al., 2022). Pada tanaman dikotil, pemberian hormon 2,4-D dalam konsentrasi yang rendah yaitu kurang dari 5 mg/L, dapat merangsang proses induksi kalus. 2,4-D merupakan auksin kuat yang diketahui efektif untuk menginduksi terbentuknya kalus dari berbagai jaringan tanaman (Nafi'ah, 2021). Menurut Mawaddah (2020), 2,4-D memiliki sifat lebih stabil jika dibandingkan dengan auksin lain seperti Indole Acetic Acid (IAA), karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada saat sterilisasi (Khalida et al., 2019).

Berdasarkan macam-macam sitokinin dalam memicu regenerasi eksplan, thidiazuron (TDZ) merupakan salah satu bentuk dari sitokinin. Hal ini dilandasi pemikiran Wardiyati (2018) bahwa TDZ merupakan senyawa sitokinin yang dapat menginduksi perbanyakan tunas lebih cepat dari pada sitokinin jenis lain seperti zeatin, benzylaminopurin, dan kinetin serta mempunyai pengaruh yang sangat cepat dalam menumbuhkan eksplan. TDZ dapat berperan dalam menstimulasi produksi sitokinin endogen dan memiliki peran sebagai inhibitor sitokinin oksidase yang merupakan enzim menghilangkan keaktifan sitokinin tipe adenin bebas. Oleh karena itu, TDZ dapat meningkatkan kerja sitokinin lain, baik sitokinin eksogen ataupun sitokinin endogen (Restanto et al., 2018). Restanto et al. (2018) melaporkan bahwa penggunaan TDZ 1,0 mg/l memberikan hasil yang paling baik pada pembentukan tunas pada tanaman anggrek (*Phalaenopsis* sp). Sedangkan penelitian Ikhsandi (2018) melaporkan bahwa penggunaan TDZ dengan konsentrasi 1 mg/l memacu pembelahan sel pada pisang ambon kuning sehingga dapat menghasilkan tunas yang tinggi yaitu 5,19 tunas per eksplan.



pengatur tumbuh TDZ, terdapat beberapa faktor lain yang mempengaruhi multiplikasi tunas pada tanaman kopi. Salah satu kendala utama dalam teknik kultur jaringan adalah mendapatkan eksplan dengan tingkat kontaminasi mikroba yang rendah di dalam botol kultur. Kontaminasi mikroba memang menjadi salah satu tantangan utama dalam kultur jaringan

tanaman. Mikroba ini bisa berasal dari permukaan eksplan atau secara endogen dari dalam eksplan itu sendiri (Sucahyo et al., 2023). Meskipun bahan kimia seperti antijamur dan antibakteri sering digunakan dalam kultur jaringan, penggunaannya dapat merugikan pertumbuhan dan diferensiasi eksplan yang dikultur.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian mengenai budidaya kalus daun kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dengan teknik kultur in vitro perlu dilakukan untuk memahami pengaruh kombinasi konsentrasi 2,4-D dan TDZ terhadap inisiasi kalus daun kopi Arabika secara kultur in vitro. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna untuk meningkatkan efisiensi dan keberhasilan kultur jaringan kopi Arabika.

1.2 Teori

1.2.1 Kopi arabika *Coffea arabica* L.

Kebijakan pemerintah untuk mengembangkan industri kopi berfokus pada peningkatan produksi kopi Arabika, mengingat bahwa kopi Arabika mendominasi pasar kopi dunia, dengan kontribusi mencapai sekitar 75%, sementara Indonesia menyuplai sekitar 10% dari total produksi kopi Arabika dunia. Di sisi lain, kopi Robusta menyumbang 25% dari pasar kopi global, dengan Indonesia berkontribusi sekitar 90% dalam kategori ini, seperti dalam penelitian strategi pengembangan agribisnis kopi Arabika di Kabupaten Gowa (Hasriani, 2023). Provinsi Sulawesi Selatan dikenal sebagai salah satu daerah dengan banyaknya produksi kopi arabika. Buah kopi arabika memiliki periode panen dan tingkat kematangan yang khusus. Saat masih muda, buah kopi arabika berwarna hijau, kemudian berubah menjadi agak kekuningan hingga kemerahan saat setengah tua, dan akhirnya mencapai warna merah terang hingga merah gelap ketika sudah tua (Thamrin, 2014). Tingkat kematangan buah kopi arabika memainkan peran penting dalam menentukan komposisi senyawa kimia dalam biji kopi, terutama kafein. Kadar kafein dalam biji kopi bervariasi tergantung pada tingkat kematangan saat buah kopi dipanen (Nurhapsa et al., 2019).

Kopi arabika (*Coffea arabica*) pertama kali diklasifikasikan oleh seorang ilmuwan Swedia bernama Carl Linnaeus (Carl von Linne) pada tahun 1753. Jenis kopi dengan kandungan kafein 0,8-1,4% ini aslinya berasal dari Brazil dan Ethiopia. Arabica



adalah jenis kopi pertama yang ditemukan dan dibudidayakan hingga saat ini kopi arabika dengan ketinggian 700-1700 mdpl dengan suhu 16-200C, tiga bulan berturut-turut. Jenis kopi arabika ini sangat rentan penyakit karat daun Hemileia vastatrix (HV), terutama bila ditanam di ketinggian kurang dari 700 m, sehingga dalam hal pemeliharaan dan

budidaya kopi arabika perlu perawatan yang lebih. dibanding jenis kopi lainnya. Kopi arabika saat ini harganya jauh lebih tinggi dibandingkan jenis kopi lainnya. Di Indonesia tanaman kopi arabika sebagian besar dapat kita jumpai di daerah pegunungan Toraja, Sumatera Utara, Aceh dan beberapa daerah di Pulau Jawa. Berbagai jenis kopi Arabica ditanam di Indonesia antara lain jenis kopi Arabica Abyssinian, Pasumah, Marago, Typica dan Congensis (Joaquim et al., 2023).

1.2.2 Klasifikasi Kopi Arabika *Coffea arabica* L.

Berdasarkan Latunra (2011), di Indonesia terdapat lebih dari 20 varietas kopi arabika yang ditanam untuk tujuan komersial, dan varietas yang paling umum dibudidayakan saat ini adalah linie s-795. Menurut klasifikasi tanaman kopi arabika linie s-795 oleh Integrated Taxonomic Information System (ITIS) pada tahun 2019, dapat dijelaskan sebagai berikut:

Adapun klasifikasi kopi arabika *Coffea arabica* L. menurut Tjitrosoepomo (2013) adalah sebagai berikut:

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Rubiales
Familia	: Rubiaceae
Genus	: <i>Coffea</i>
Species	: <i>Coffea arabica</i> L.



1.2.3 Morfologi Kopi Arabika *Coffea arabica* L.

Pada umumnya tanaman kopi berbunga Setelah berumur sekitar dua tahun. 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. Kopi arabika dalam pertumbuhan dan perkembangannya membutuhkan waktu 6-8 bulan, bunga umumnya mekar awal musim kemarau dan buah siap dipetik di akhir musim kemarau. Di Awal musim hujan, cabang primer akan memanjang dan membentuk daun-daun baru yang siap mengeluarkan bunga pada awal musim kemarau (Najiyati & Danarti, 2007).

Tanaman kopi termasuk tanaman yang dapat melakukan penyerbukan sendiri (*Self fertile*). Keberhasilan tanaman kopi untuk berbunga hingga menjadi buah sangat dipengaruhi oleh iklim (musim hujan atau kemarau). Penyerbukan umumnya terjadi Setelah musim hujan. Penyerbukan dipengaruhi oleh iklim secara umum (Panggabean, 2011). Kopi arabika tipika *Coffea arabica* L.var.*typica* dikembangkan di lebih dari 60 negara beriklim tropis maupun subtropis. Kopi ini salah satu spesies dari genus *Coffea* yang bersifat menyerbuk sendiri. Kopi Arabika pada umumnya dikembangkan di daerah-daerah dengan ketinggian lebih dari 1000 m dpl (Izzah et al., 2015). Kopi jenis ini sangat rentan terhadap penyakit, karena itu perkebunan kopi arabika hanya terdapat pada beberapa daerah tertentu. Mayoritas varietas kopi Arabika memiliki bunga yang sangat aromatik, yang menghasilkan nektar dan serbuk sari berlimpah untuk menarik serangga penyerbuk (Geeraert et al., 2020).

Buah kopi terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan kulit luar (*exocarp*), daging buah (*mesocarp*), dan kulit tanduk (*endocarp*) yang tipis, tetapi keras. Kulit luar terdiri dari satu lapisan tipis. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau tua yang kemudian berangsur menjadi hijau kuning, kuning, dan akhirnya menjadi merah, merah hitam jika buah tersebut sudah masak sekali. Daging buah yang sudah masak akan berlendir dan rasanya agak manis (Najiyati & Danarti, 2007). Daun kopi memiliki bentuk bulat telur, bergaris ke samping, bergelombang, hijau pekat, kekar, dan meruncing dibagian ujungnya. Daun tumbuh dan tersusun secara



ak batang, cabang dan ranting. Sepasang daun terletak dibidang g dan ranting yang tumbuh mendatar. Kopi Arabika memiliki daun tipis apabila dibandingkan dengan spesies kopi Robusta yang lebar dan tebal. Warna daun kopi Arabika hijau gelap, sedangkan rang (Panggabean, 2011).

Sulawesi Selatan merupakan salah satu provinsi di Kawasan Timur Indonesia yang memiliki potensi pengembangan kopi arabika tipika *Coffea arabica* L.var. *typica*. Hal ini ditunjukkan dengan areal penanaman yang cukup luas serta keadaan agroklimatologi yang sangat mendukung di daerah kabupaten Luwu dan Toraja (Thamrin, 2014). Selain itu kopi arabika juga tersebar di beberapa kabupaten lain yang ada di Sulawesi Selatan yaitu Gowa, Toraja dan Bantaeng. Kopi arabika di Sulawesi Selatan yang tercatat memiliki beberapa varietas seperti, Tipika, Line-S, Catimor, PM 88 dan USDA, Abisenia dan Kartika (Latunra, 2013).

1.2.4 Media MS

Media (*Murashige* dan *Skoog*) MS pertama kali digunakan oleh *Skoog* dalam penumbuhan kultur tembakau. Kemudian oleh *Murashige* disempurnakan dengan cara mengatur komposisi garam anorganiknya. Media MS mengandung 40 mM dalam bentuk NO_3 dan 29 mM dalam bentuk NH_4^+ . Konsentrasi ini lebih besar dibandingkan dengan media lainnya. Walaupun unsur-unsur makro dalam media MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, namun komposisinya mampu mendukung kultur jaringan tanaman lain. Media MS merupakan media umum yang banyak digunakan saat ini, yang mengandung garam dan nitrat yang konsentrasi lebih tinggi dibanding media lain (Najmiah et al., 2022). Berikut ini komposisi yang terkandung dalam media MS, dipaparkan pada tabel 2.1.

Tabel 1. Komposisi media (*Murashige* dan *Skoog*) MS (Perdana et al., 2022)

Bahan Kimia	Formula	Konsentrasi Dalam 1 Liter (Mg/L)
Makronutrien		
Ammonium nitrate	NH_4NO_3	1650
Potassium nitrate	KNO_3	1900
Calcium chloride	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
Magnesium sulfate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
Potassium dihydrogen orthophosphate	KH_2PO_4	170
Mikronutrien		
Mangan sulphate	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30
Zinc sulphate	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60
Cupric	KI	0.86
Copper sulphate	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.026
Mo Ferrous	Na_2MoO_4	0.25
Iron sulphate	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37.2



Sumber Vitamin		
Nicotinic acid	C ₆ H ₅ NO ₂	0.50 0.10
Thiamine hydrochloride	C ₁₂ H ₁₇ ClN ₄ OS.HCl	0.50
Pyridoxine hydrochloride	C ₈ H ₁₂ N ₂ O ₂ .2HCl	2.00
Glycine	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₆	

1.2.5 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

1.2.5.1 Pengertian Zat Pengatur Tumbuh

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) merupakan zat yang ditambahkan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Pemberian ZPT dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman salah satunya mempercepat pertumbuhan akar dan tunas baru. Zat pengatur tumbuh juga dapat diartikan sebagai senyawa yang diberikan ke tanaman untuk meningkatkan proses pembelahan sel agar lebih aktif, dalam jumlah kecil ZPT dapat menstimulir pertumbuhan tanaman dan dalam jumlah yang besar ZPT justru menghambat pertumbuhan (Wuriesyiane & Sawaluddin, 2022). Menurut hasil penelitian (Mutryarny & Lidar, 2018), pemberian ZPT dengan konsentrasi yang berlebihan menyebabkan terganggunya fungsi-fungsi sel sehingga pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Sebaliknya pada konsentrasi yang terlalu rendah pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh menjadi tidak nampak. ZPT dalam media kultur sangat penting karena berperan dalam mendorong atau menghambat pertumbuhan dan menentukan arah perkembangan eksplan yang dikulturkan (Hapsoro, dan Yusnita, 2018).

Pertumbuhan jaringan eksplan didasarkan pada keseimbangan dan interaksi antara zat pengatur tumbuh yang berada didalam eksplan. Zat pengatur tumbuh yang berperan pada pertumbuhan eksplan ditentukan oleh zat pengatur tumbuh yang ada di dalam eksplan (endogen) dan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam medium (eksogen). Oleh karenanya dalam pembuatan medium selain nutrien biasanya perlu juga menambahkan satu atau lebih zat pengatur tumbuh tersebut. Zat pengatur tumbuh yang dapat memacu pertumbuhan seperti auksin, sitokinin, giberelin sering ditambahkan ke



ini dilakukan supaya pertumbuhan jaringan-jaringan dan organ-
baik. Akan tetapi kebutuhan senyawa-senyawa tersebut bervariasi
jaringan yang satu dengan jaringan yang lainnya, dan diyakini variasi
la tingkat endogenous hormon dari sel tersebut. Terdapat empat
ur tumbuh (ZPT) yang penting dalam kultur jaringan tanaman, yaitu

auksin, sitokinin, giberelin dan asam absisat. Zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk pertumbuhan tanaman maupun pembentukan anakan serta perpanjangan akar tergolong kedalam kelompok auksin. Sedangkan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam menstimulasi pembelahan sel, menginduksi pembentukan tunas dan poliferasi tunas aksiler serta dapat membantu pertumbuhan dan perkembangan eksplan termasuk golongan sitokinin (Saepudin et al., 2020).

1.2.5.2 Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D

Golongan Auksin terdiri atas IAA (Indole Acetic Acid), 2,4-D (2,4 DichlorophenoxyAcetic Acid), IBA (Indole Butyric Acid) dan NAA (Naphtalen Acetic Acid), sedangkan dari golongan sitokinin terdiri atas Kinetin, Zeatin dan Benzil Adenin (BA). Auksin umumnya berfungsi terhadap pemanjangan sel, pembentukan kalus dan akar adventif serta menghambat pembentukan tunas aksilar. Fungsi sitokinin adalah pembelahan sel, pembesaran sel, menghambat penuaan bunga dan buah, serta diferensiasi akar dan tunas (Budi, 2020). Salah satu ZPT golongan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus adalah Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D). Jika dibandingkan dengan jenis auksin lainnya, 2,4-D secara efektif dapat merangsang pembentukan kalus karena aktivitas yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus (Setiawati, et al., 2019). Zat pengatur tumbuh yang tergolong dalam kelompok sitokinin yakni kinetin (6-fufury amino purine). Kinetin berfungsi untuk mengatur pembelahan sel dan morfogenesis. Dalam pertumbuhan jaringan tanaman, sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap deferensiasi jaringan (Riono, 2019).

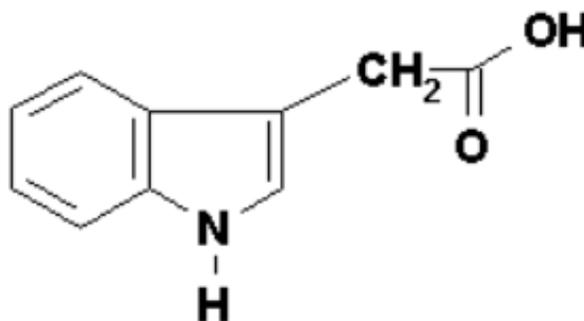
Dalam menginduksi kalus penambahan auksin sering dikombinasikan dengan sitokinin. Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi ZPT endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan. Kombinasi antara auksin dan sitokinin dapat



orfologi dan tekstur kalus yang berbeda setelah dua minggu masa kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) asam 2,4-Diklorofenoksiasetat pada media MS berhasil menginduksi pembentukan kalus dari (Setiawati et al., 2019).

1.2.5.2 Zat Pengatur Tumbuh TDZ

Sitokinin merupakan senyawa organik yang menyebabkan pembelahan sel yang dikenal dengan proses sitokinesis. Menurut (Saepudin et al., 2023) sitokinin mempengaruhi berbagai proses fisiologis di dalam tanaman terutama mendorong pembelahan sel dan diferensiasi. Selain itu sitokinin juga berpengaruh dalam merangsang perbanyakan tunas dan penghambatan pertumbuhan akar. Sitokinin yang biasa digunakan adalah kinetin, zeatin, N6-2-Isopentanyl Adenin (2Ip), 6-Benzyl Amino Purin (BAP), PBA, 2C 1-4 PU, 2.6-C1-4 dan Thidiazuron (TDZ) (Prasetyoroni, 2019). Struktur TDZ disajikan pada (gambar 2).



Gambar 2. Rumus bangun TDZ
(Yusnita, 2003)

Selain sitokinin BA atau kinetin, penggunaan thidiazuron (TDZ) dapat pula meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas. Thidiazuron dapat menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar. Thidiazuron diduga mendorong terjadinya perubahan sitokinin ribonukleotida menjadi ribonukleosida yang secara biologis lebih aktif (Salmawati, 2021).

TDZ merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam perbanyakan *in vitro* karena aktivitasnya menyerupai sitokinin endogen. TDZ berpotensi memicu frekuensi regenerasi pada kacang tanah (*Arachis hipogaea*) secara *in vitro*, dan memacu pembentukan tunas adventif pada beberapa jenis tumbuhan karena dapat menginduksi proses pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel meristem sehingga terbentuk primordia tunas. Thidiazuron dapat meningkatkan kinerja sitokinin yang lain, baik sitokinin endogen maupun sitokinin eksogen. Thidiazuron tergolong sitokinin tipe yang memiliki kemampuan lebih baik dalam induksi tunas daripada seperti benzylaminopurin (BAP), kinetin dan zeatin (Aisah, 2020).



geng Rineksane et al., 2018) menyatakan dengan penambahan 0,5 silkan jumlah tunas terbanyak dengan rata-rata 1,80 pada form Like Bodies (PLB) anggrek *Vanda tricolor*. Penelitian Kartini

(2017) melaporkan bahwa penggunaan Thidiazuron (TDZ) dengan konsentrasi 1 mg/l mampu memacu pembelahan sel pada Satoimo (*Colocasia esculenta* var. *antiquorum*), sehingga menghasilkan tunas yang tinggi, yaitu 5,19 tunas per eksplan. Kemudian penelitian Karyanti (2017) pada anggrek *Vanda douglas*, menyatakan bahwa penambahan tunas terbaik dengan rata-rata jumlah tunas 8.00 diperoleh pada perlakuan konsentrasi TDZ 0,5 mg/l, dibandingkan dengan konsentrasi 1 mg/l dan 1,5 mg/l.

1.2.6 Kultur jaringan Kalus

Kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti sekelompok sel atau jaringan yang ditumbuhkan dalam kondisi aseptik, sehingga bagian tanaman tersebut bisa dapat memperbanyak diri hingga tumbuh menjadi tanaman-tanaman yang baru kembali dengan sifat yang sama. Tujuan dari penggunaan teknik kultur jaringan adalah untuk memperbanyak tanaman dengan waktu yang lebih singkat. Kegunaan kultur jaringan di antaranya untuk memproduksi bibit dalam jumlah besar yang mempunyai sifat unggul, bebas virus, metabolit sekunder, pelestarian plasma nutfah yang hampir punah, percepatan pemuliaan tanaman, termasuk rekayasa genetika tanaman. Meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, namun untuk kultur jaringan sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda agar lebih cepat tumbuh. Bagian yang mudah tumbuh adalah bagian meristem, organ tanaman yang sifat pertumbuhannya agresif (Yuliarti, 2010). Kultur jaringan terbagi atas beberapa macam seperti Protoplas, Embrio, Endosperm, Meristem, dan Kalus.

Kalus merupakan sekumpulan sel amorphous (tidak berbentuk atau belum terdiferensiasi) yang terbentuk dari sel-sel yang membelah terus menerus secara *in vitro* atau di dalam tabung, kalus dapat diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, batang, dan daun. Berdasarkan riset penelitian kalus dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok, yaitu kalus yang berwarna kekuningan, putih kekuningan, dan putih. Kalus berwarna kekuningan dan putih kekuningan merupakan kalus embriogenik, sementara kalus yang berwarna putih merupakan kalus non embriogenik. Kalus yang muncul dari daerah bekas pelukaan akan berwarna putih, lama kelamaan berubah menjadi kalus yang berwarna hijau. Tahapan pembentukan kalus pada eksplan yaitu kalus yang muncul pada bekas potongan pada eksplan awalnya bersifat remah, selanjutnya ketika sel terus lama-kelamaan kalus menjadi kompak dan berwarna putih. Kalus merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, organ butir pati yang tinggi (Faramayuda et al., 2016).



an kalus sangat dipengaruhi oleh jenis eksplan dan zat pengatur
kan. Eksplan daun dengan jaringan yang meristematik akan lebih

mudah membentuk kalus dibanding dengan jaringan yang sudah tua. Eksplan dari daun lebih banyak mengandung senyawa pektat dan protein (Purmaningsih & Ashrina, 2011). Semakin banyak kalus embriogenik yang didapatkan maka semakin besar peluang untuk mendapatkan embrio somatik. Hal ini dikarenakan hanya kalus embriogenik yang dapat berkembang menjadi embrio somatik (Sari et al., 2017).

Proses inisiasi hingga terinduksi menjadi kalus dalam kultur jaringan tanaman melibatkan beberapa langkah penting yang dipengaruhi oleh faktor-faktor eksternal seperti hormon pertumbuhan. Berikut adalah penjelasan (Purmaningsih et al., 2011) mengenai proses tersebut

1. Inisiasi Kalus:

- Pemilihan Eksplan: Bagian tanaman yang dipilih untuk kultur dapat berupa daun, batang, atau akar.
- Sterilisasi Eksplan: Proses sterilisasi penting untuk mencegah kontaminasi mikroba. Biasanya dilakukan dengan merendam eksplan dalam larutan disinfektan.
- Penanaman pada Media Kultur: Eksplan yang telah disterilkan ditanam pada media yang mengandung nutrisi dan zat pengatur tumbuh (ZPT) seperti auksin dan sitokinin. Kombinasi ini merangsang pembentukan kalus.
- Pembengkakan Awal: Eksplan mengalami pembengkakan sebagai respons terhadap luka dan stimulasi hormon, biasanya dalam waktu 6-14 hari setelah penanaman.

2. Induksi Kalus:

- Respon Terhadap Hormon: Auksin dan sitokinin berperan dalam pembelahan dan proliferasi sel. Kombinasi konsentrasi yang tepat dari kedua hormon ini meningkatkan laju induksi kalus.
- Pertumbuhan Kalus: Kalus mulai terbentuk dari jaringan eksplan yang terluka, dengan perubahan dalam tekstur dan warna tergantung pada jenis tanaman dan kondisi kultur.
- Subkultur: Kalus yang terbentuk sering kali dipindahkan ke media baru untuk memperbanyak dan merangsang pertumbuhan lebih lanjut.

3. Pembentukan Kalus:

- Konsentrasi ZPT: Konsentrasi auksin yang lebih tinggi dibandingkan sitokinin sering kali diperlukan untuk induksi kalus yang lebih efektif.



: Cahaya, suhu, dan kelembaban mempengaruhi pertumbuhan kalus bervariasi tergantung pada kondisi ini.

proses dari inisiasi hingga induksi kalus merupakan kombinasi dari yang tepat, penggunaan hormon yang sesuai, dan kondisi kultur yang

optimal, yang sangat penting dalam bioteknologi tanaman untuk regenerasi atau produksi metabolit sekunder.

Terdapat lima fase pertumbuhan kalus, yaitu: 1) fase lag, yaitu fase persiapan pembelahan sel, 2) fase eksponensial yaitu fase di mana laju pembelahan sel tertinggi, 3) fase linier, yaitu fase dari pembelahan sel mulai melambat tetapi laju dari perkembangan sel meningkat, 4) fase perlambatan, di mana laju pembelahan sel dan pemanjangan sel menurun, 5) fase stasioner, di mana jumlah dan ukuran sel konstan stabil dan senyawa metabolit sekunder mulai terbentuk (Purmaningsih & Ashrina, 2011).

1.2.7 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu usaha yang dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi baik yang disebabkan oleh jamur, bakteri, maupun virus. Pada kultur jaringan, biasanya dilakukan sterilisasi peralatan kultur jaringan, media kultur, dan bahan tanam yang digunakan (Wulandari, et al. 2021). Berbagai bahan kimia seperti etanol, air brom (BW), hidrogen peroksida (H_2O_2), merkuri klorida ($HgCl$), natrium hipoklorit ($NaOCl$), kalsium hipoklorit ($CaOCl$), perak nitrat ($AgNO$), fungisida, serta agen anti infeksi seringkali digunakan dalam proses sterilisasi permukaan bahan tanam untuk menunjang keberhasilan dalam memperbanyak tanaman melalui kultur jaringan (Withana, et al., 2022). Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur merupakan masalah yang sering menyerang kultur jaringan tanaman. Kontaminasi dapat diartikan sebagai kondisi lingkungan kultur yang terganggu akibat adanya kontaminan yang masuk baik pada media maupun eksplan (Heriansyah dan Elfi, 2020).

Sumber kontaminasi dapat berasal dari peralatan yang terbuat dari kaca maupun plastik. media kultur, peralatan yang digunakan untuk memindahkan eksplan ke media bahan tanam yang dipakai, serta ruang penanaman dan pertumbuhan eksplan. Persiapan dan pemeliharaan sistem kultur jaringan memerlukan sterilisasi media kultur, wadah kultur, dan sterilisasi permukaan benih atau jaringan tanaman yang dikultur, serta sterilisasi semua peralatan yang digunakan untuk kegiatan kultur jaringan agar dapat terhindar dari kontaminasi (Wulandari, et al, 2021). Sterilisasi ruang kerja juga perlu dilakukan dengan cara mengaplikasikannya pada ruang laboratorium khususnya ruang kultur jaringan. Untuk sterilisasi alat dilakukan dengan pemanasan dalam autoklaf atau panas-kering dengan menggunakan oven. Alat-alat yang digunakan sebagai tempat medium pertumbuhan adalah alat-alat yang digunakan sebagai tempat medium pertumbuhan. Sterilisasi eksplan berprinsip mematikan mikroorganisme tanpa



mematikan jaringan eksplan tersebut. Sterilisasi eksplan dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya dengan menggunakan etanol sebagai bahan perendam serta dapat dilakukan dengan perendaman natrium klorat dan pencucian dengan kalsium hipoklorit karbonat (Apriliyana dan Baiq, 2021).

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi 2,4-D dan TDZ terhadap inisiasi daun kopi arabika *Coffea arabica* L.
2. Untuk mengetahui konsentrasi optimal kombinasi 2,4-D dan TDZ terhadap inisiasi daun kopi arabika *Coffea arabica* L.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian kombinasi hormon 2,4-D dan TDZ terhadap inisiasi daun kopi arabika *Coffea arabica* L. pada media MS secara *in vitro*. Selain itu, melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait Konsentrasi optimal yang baik untuk inisiasi daun kopi Arabika *Coffea arabica* L.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juli 2024. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

