

MULTIPLIKASI TUNAS KOPI ARABIKA MENGGUNAKAN KINETIN DAN 6-BENZYLAMINOPURINE

Meynarti Sari Dewi Ibrahim¹⁾, dan RR. Sri Hartati²⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357

²⁾Pusat penelitian dan Pengembangan Perkebunan
Jalan Tentara Pelajar No.1.Bogor 16111
Email : meynartisaya@yahoo.com

ABSTRAK

Multiplikasi tunas kopi secara *in vitro* dapat dimanfaatkan untuk perbanyakan klonal tanaman, menduplikasi tanaman hasil mutasi, fusi protoplas, kultur anther dan rekayasa genetik. Tujuan penelitian adalah untuk mengevaluasi daya multiplikasi tunas kopi Arabika hasil perbanyakan melalui embriogenesis somatik (ES). Penelitian dilakukan di laboratorium kultur jaringan, Unit Pengembangan Benih Unggul Pertanian, Badan Litbang Pertanian. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 10 ulangan. Media yang digunakan adalah media Murasige and Skoog (MS) dengan memodifikasi vitamin. Perlakuan yang diuji adalah penambahan Kinetin dan 6-Benzylaminopurine (BAP) dengan konsentrasi 0,0; 0,5; 1,0 dan 2,0 mg L⁻¹. Peubah yang diamati adalah jumlah tunas, tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar. Hasil penelitian menunjukkan kopi Arabika hasil embriogenesis somatik yang diperbanyak melalui kultur *in vitro* menggunakan media MS yang diberi Kinetin dan BAP memiliki daya multiplikasi cukup tinggi. Kinetin dan BAP memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah tunas, tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah akar. Jumlah tunas dan jumlah daun terbanyak didapatkan pada pemberian BAP 2,0 mg L⁻¹ dengan jumlah tunas dan daun berturut-turut 4,60 dan 14,00 buah, tinggi tanaman tertinggi pada media dengan penambahan Kinetin 1,0 mg L⁻¹, sementara jumlah akar terbanyak pada media kontrol.

Kata kunci: *Coffea spp*, embriogenesis somatik, *in vitro*, perbanyakan

ABSTRACT

The multiplication coffee shoots through in vitro technique can be used widely such as clonal plant propagation, mutant duplication, protoplast fusion, anther culture and genetic engineering. The research aim was to evaluate multiplication shoots Arabica coffee resulted by somatic embryogenesis (ES). The study was conducted in tissue culture laboratory, Superior Seed Development Unit of Agriculture, Indonesian Agency for Agricultural Research and Development. The experiment was arranged in a completely randomized design with 10 replications. The medium used Murasige media and Skoog (MS) with modified vitamin. The treatments tested were the addition of Kinetin and 6-Benzylaminopurine concentrations of 0.0; 0.5; 1.0 and 2.0 mg L⁻¹. The observed variables were the percentage of shoots and roots, plant height, leaf number and root number. The results showed that propagated of Arabica coffee by somatic embryogenesis through in vitro technique culture on media MS containing kinetin and BAP have high frequency of shoot multiplicatin. Kinetin and BAP had significant effect on the number of shoots, plant height, leaf number and root number. The number of shoots and leaves most established on BAP 2.0 mg L⁻¹ by the number of shoots and leaves respectively 4.60 and 14.00, the highest plant height on media with addition of kinetin 1 mg L⁻¹, while the highest number of roots on media control.

Keywords: *Coffea spp*, somatic embryogenesis, *in vitro*, propagation.

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu minuman penyegar yang diminati oleh banyak orang. Dari beberapa jenis kopi yang ada, Kopi Arabika merupakan jenis kopi yang memiliki cita rasa yang lebih baik dibandingkan dengan yang lainnya. Perbanyakan tanaman kopi Arabika selain dilakukan secara konvensional dengan menggunakan biji (generatif), stek dan sambung pucuk (vegetatif), dapat dilakukan secara non konvensional dengan memanfaatkan teknik kultur jaringan (Ibrahim *et al.*, 2013a; Ibrahim, 2015b). Penggunaan teknik kultur jaringan dalam perbanyakan kopi Arabika dapat dilakukan melalui jalur organogenesis (multiplikasi tunas pucuk, adventif dan aksilar) dan embriogenesis somatik (Ibrahim, 2015a ; Ibrahim, 2015c ; Ibrahim *et al.*, 2013b).

Perbanyakan kopi melalui jalur organogenesis dengan multiplikasi tunas menghasilkan jumlah bibit yang jauh lebih sedikit dibandingkan dengan menggunakan embriogenesis somatik (Ibrahim, 2015a; Ibrahim *et al.*, 2013b). Meskipun demikian, multiplikasi tunas sangat diperlukan dalam menduplikasi bahan tanaman hasil mutasi, fusi protoplas, kultur anther, dan rekayasa genetik.

Keberhasilan multiplikasi tunas dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain respon tanaman (genotipe tanaman), jenis media tumbuh dan garam-garam yang digunakan, vitamin, zat pengatur tumbuh (ZPT) yang tepat, serta kondisi lingkungan kultur (Goerge & Sherrington, 2008). Benzylaminopurin (BAP) dan kinetin merupakan jenis ZPT dari golongan sitokinin yang umum digunakan dalam proses multiplikasi tanaman secara *in vitro*. Sitokinin ini yang sering digunakan dalam teknik *in vitro* karena bersifat lebih stabil dibandingkan jenis sitokinin lainnya, harganya relatif lebih murah, bisa disterilisasi menggunakan autoclaf, mudah didapat, dan efektif.

Pada kultur jaringan tanaman kopi, multiplikasi tunas menggunakan ZPT BAP atau Kinetin dilaporkan oleh Moses *et al.* (1985), Sondahl *et al.* (1985), Pasqual and Barros (1991), Ebrahim *et al.* (2007) dan Gawad *et al.* (2012). Selain pada kopi, BAP atau Kinetin juga telah dipergunakan dalam multiplikasi tunas pisang (Jafari *et al.*, 2011 ; Bhasole *et al.*, 2011), nenas (Ibrahim *et al.*, 2013d), tebu (Tolere *et al.*, 2014), ginkgo biloba (Mantovani *et al.*, 2013) dan ubi kayu (Khumaida dan Fauzi, 2013). BAP dan kinetin selain digunakan dalam multiplikasi tunas kopi juga digunakan dalam embriogenesis somatik kopi (Ibrahim *et al.*, 2013c, Ibrahim *et al.*, 2015b; Etienne, 2005; Samson *et al.*, 2006)

Penggunaan BAP dan Kinetin baik secara tunggal maupun kombinasi keduanya pada kultur kopi Arabika varietas Sigarar Utang belum pernah dilakukan. Penelitian bertujuan mengevaluasi daya multiplikasi tunas kopi Arabika setelah diperbanyak menggunakan embriogenesis somatik (ES).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium kultur jaringan, Unit Pengembangan Benih Unggul Pertanian, Badan Litbang Pertanian mulai bulan Mei 2014 sampai bulan Desember 2014. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah stek satu ruas dari planlet kopi Arabika varietas Sigarar Utang hasil embriogenesis somatik. Media dasar yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige dan Skoog) dengan vitamin yang telah dimodifikasi. Percobaan disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 ulangan. Faktor yang diuji adalah ZPT BAP dan Kinetin dengan konsentrasi 0,0 ; 0,5 ; 1,0 dan 2,0 mg/L⁻¹ baik secara tunggal atau kombinasi.

Planlet kopi Arabika hasil embriogenesis somatik sebelum digunakan di subkultur ke media MS tanpa ZPT. Hal ini dilakukan untuk menetralkan perlakuan ZPT sebelumnya. Planlet di potong per ruas di dalam laminar air flow (LAF). Selanjutnya, eksplan di sub kulturkan ke dalam media perlakuan. Botol diinkubasikan pada ruang kultur dengan suhu 23 ± 1 °C dan pencahayaan selama 16 jam terang dan 8 jam gelap. Peubah pertumbuhan diamati setiap satu bulan sekali. Peubah yang diamati adalah: persentase jumlah tunas dan akar, jumlah tunas, jumlah daun, tinggi tanaman dan jumlah akar. Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA, dan jika ada perbedaan yang nyata akan dilanjutkan dengan DMRT pada taraf nyata dan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Eksplan Bertunas dan Berakar

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa semua eksplan mampu membentuk tunas, akan tetapi tidak semua perlakuan dapat membentuk akar (Tabel 1). Kemampuan eksplan bertunas tercepat terjadi dua minggu setelah kultur, diperoleh pada kombinasi media BAP $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ + Kinetin $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, diikuti oleh perlakuan lainnya dalam minggu yang sama. Penggunaan sitokinin BAP dan Kinetin dengan konsentrasi terendah ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$) sampai tertinggi ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$) baik secara tunggal maupun kombinasi dan media tanpa ZPT dapat menghasilkan tunas. Hal ini berarti respon eksplan kopi Arabika varietas Sigarar Utang terhadap media MS sangat baik.

Tabel 1. Persentase jumlah eksplan kopi Arabika yang mampu bertunas dan berakar 3 bulan setelah kultur.

Perlakuan ZPT (mg L^{-1})	Jumlah Eksplan (%)	
	Bertunas	Berakar
Kontrol	100%	90 %
BAP 0,5	100%	10 %
BAP 1,0	100%	0 %
BAP 2,0	100%	0 %
Kinetin 0,5	100%	30 %
Kinetin 1,0	100%	0 %
Kinetin 2,0	100%	0 %
BAP 1,0 + Kinetin 1,0	100%	0 %
BAP 2,0 + Kinetin 2,0	100%	0%

Berbeda dengan persentase pembentukan tunas, jumlah akar yang terbentuk tidak ada yang mencapai 100%. Pengamatan terakhir di bulan ke 3 menunjukkan persentase pembentukan akar tertinggi berada pada perlakuan MS tanpa diberi ZPT. Pemberian ZPT BAP dan Kinetin ternyata dapat menekan pembentukan akar dari eksplan yang dihasilkan walaupun ditambahkan dengan konsentrasi yang rendah.

Jumlah Tunas

Komposisi ZPT BAP dan Kinetin berpengaruh sangat nyata terhadap rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan (Tabel 2). Walaupun jumlah tunas pada perlakuan BAP $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ + Kinetin $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ di bulan ke 3 tidak berbeda nyata dengan BAP $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, pemberian BAP $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ lebih direkomendasikan. Hal ini karena disamping untuk penghematan biaya, media dasar MS yang ditambahkan BAP $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ juga menghasilkan jumlah tunas per eksplan yang lebih banyak. Media ini mampu

menghasilkan rata-rata tunas sebanyak 4,60 tunas per eksplan, dengan beberapa ulangan mampu menghasilkan 6 tunas (data tidak ditampilkan).

Rataan jumlah tunas yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi dari beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian Gawad *et al.* (2012) mendapatkan 2,52 tunas kopi pada pemberian BAP 2,0 mg L⁻¹, 1,13 tunas pada Kinetin 2,0 mg L⁻¹, dan jumlah tertinggi hanya 2,88 tunas pada perlakuan BAP 6,0 mg L⁻¹. Penelitian ini juga memperlihatkan penambahan BAP dari 2,0 sampai 6,0 mg L⁻¹ tidak memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap jumlah tunas yang dihasilkan. Hasil penelitian Kahia (1993) menggunakan kopi varietas lain juga tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan Gawad *et al.* (2012).

Tabel 2. Jumlah tunas per eksplan pada kultur in vitro kopi Arabika

Perlakuan ZPT (mg L ⁻¹)	Umur (Bulan setelah tanam)		
	1	2	3
Kontrol	1,00 c	1,20 d	1,20 b
BAP 0,5	1,60 ab	1,50 bcd	1,90 bcd
BAP 1,0	1,90 a	2,30 ab	2,40 b
BAP 2,0	2,10 a	2,90 a	4,60 a
Kinetin 0,5	1,20 bc	1,50 cd	1,50 cd
Kinetin 1,0	1,60 ab	1,80 bcd	1,90 bcd
Kinetin 2,0	1,90 a	2,20 abc	2,20 bc
BAP 1,0 + Kinetin, 0 1	1,80 a	2,20 abc	2,50 b
BAP 2,0 + Kinetin 2,0	2,00 a	2,30 ab	4,30 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

Jumlah Daun

Pembentukan daun pada eksplan relatif lebih lambat dibandingkan terbentuknya tunas. Sepasang daun pertama baru terbentuk setelah eksplan satu bulan dalam kultur. Pada pengamatan dibulan ke 3 semua perlakuan dapat membentuk daun dengan jumlah tertinggi berada di media yang ditambahkan BAP 2,0 mg L⁻¹. Sejalan dengan jumlah tunas, jumlah daun yang terbentuk juga lebih baik dari penelitian multiplikasi tunas sebelumnya. Pada penelitian Gawad *et al.* (2012) jumlah daun yang dihasilkan hanya 2,00 pada pemberian Kinetin 2,0 mg L⁻¹ dan 3,33 pada BAP 2,0 mg L⁻¹. Perbedaan ini kemungkinan besar dikarenakan sumber eksplan yang digunakan berbeda, dimana pada penelitian Gawad *et al.* (2012) eksplan yang digunakan berupa stek satu ruas bukan hasil kultur *in vitro*.

Tabel 3. Jumlah daun per eksplan pada kultur in vitro kopi Arabika

Perlakuan ZPT (mg L ⁻¹)	Umur (Bulan setelah tanam)		
	1	2	3
Kontrol	0,80	2,80 b	9,60 c
BAP 0,5	1,20	3,60 ab	10,80 bc
BAP 1,0	1,40	3,80 ab	11,20 bc
BAP 2,0	1,20	4,00 a	14,00 a
Kinetin 0,5	1,20	3,40 ab	10,40 c
Kinetin 1,0	1,40	3,60 ab	10,80 bc
Kinetin 2,0	1,20	3,20 ab	11,60 bc
BAP 1,0 + Kinetin 1,0	1,20	3,60 ab	11,40 bc
BAP 2,0 + Kinetin 2,0	1,20	4,00 a	13,20 ab

Keterangan : Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

Tinggi Tanaman

Pemberian ZPT Kinetin memberikan berpengaruh nyata terhadap pertambahan tinggi tanaman. Hal ini terlihat dari pengamatan di bulan 1 sampai ke 3, media yang diberi Kinetin menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang diberi BAP. Pemberian Kinetin 2,0 mg L⁻¹ pada pengamatan di bulan ke 3 setelah kultur menghasilkan tinggi tanaman tertinggi 4,34 cm, sementara pemberian BAP 2,0 mg L⁻¹ hanya 3,52 cm. Hal ini juga sejalan dengan hasil penelitian Gawad *et al.* (2012) dimana pemberian Kinetin 6,0 mg L⁻¹ hanya menghasilkan 1,62 cm, sementara BAP 6,0 mg L⁻¹ mencapai 4,56 cm.

Pemberian BAP dengan konsentrasi lebih dari 0,5 mg L⁻¹ ternyata dapat menurunkan rata-rata tinggi tanaman. Penurunan ini kemungkinan dikarenakan pada konsentrasi yang lebih tinggi, tunas yang terbentuk lebih banyak, sehingga terjadi pembagian hasil asimilat antara jumlah tunas, akibatnya pertumbuhan tinggi menjadi lebih lambat dibandingkan dengan planlet yang mempunyai tunas lebih sedikit.

Jumlah Akar

Pemberian ZPT BAP dan Kinetin secara tunggal maupun kombinasi, baik dengan konsentrasi rendah maupun tinggi dapat menurunkan jumlah akar yang terbentuk. Konsentrasi BAP dan Kinetin mulai berpengaruh nyata terhadap jumlah akar mulai 2 bulan setelah kultur (Tabel 4). Hal ini dikarenakan akar baru mulai terbentuk di bulan ke 2 setelah dikulturkan. Perlakuan kontrol di bulan ke 3 memberikan jumlah akar nyata lebih banyak bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Tabel 4. Tinggi Tanaman Per Eksplan pada Kultur *in Vitro* Kopi Arabika

Perlakuan ZPT (mg L ⁻¹)	Umur (Bulan setelah tanam)		
	1	2	3
Kontrol	1,07 ab	2,28 a	3,89 b
BAP 0,5	1,05 ab	2,27 a	3,98 ab
BAP 1,0	1,01 ab	2,15 ab	3,91 b
BAP 2,0	0,93 b	1,89 b	3,52 c
Kinetin 0,5	1,18 a	2,29 a	4,03 ab
Kinetin 1,0	1,23 a	2,33 a	4,34 a
Kinetin 2,0	1,03 ab	2,06 ab	3,93 b
BAP 1,0 + Kinetin 1,0	1,01 ab	2,22 a	3,99 ab
BAP 2,0 + Kinetin 2,0	1,00 ab	2,05 ab	3,66 bc

Keterangan : Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%. Satuan yang digunakan adalah centi meter (cm)

Terbentuknya akar di media kontrol dan media yang mengandung BAP dan Kinetin pada konsentrasi rendah diduga akibat peranan auksin endogen yang terkandung dalam eksplan. Pada konsentrasi sitokinin yang rendah, auksin endogen masih dapat menunjukkan perannya dalam membentuk akar meskipun dalam jumlah yang sedikit. Hal yang sama juga dilaporkan dari hasil penelitian Khumaida dan Fauzi (2013) dan Ogero *et al.* (2012), dimana akar dapat terbentuk pada eksplan dua varietas ubi kayu yang dikulturkan pada media tanpa ZPT dan ZPT konsentrasi rendah. Hasil regresi memperlihatkan bahwa pemberian BAP dilaporkan menurunkan jumlah akar pada kultur *in vitro* ubi (Khumaida dan Fauzi, 2013).

Multiplikasi tunas kopi Arabika pada varietas Sigarar Utang telah berhasil dilakukan dengan menggunakan ZPT BAP dan Kinetin. Hal ini tidak lain karena BAP dan Kinetin yang merupakan ZPT golongan sitokinin mempunyai peranan dalam meningkatkan pembelahan sel, proliferasi tunas dan morfogenesis pucuk (George *et al.*, 2008). Penggunaan ZPT BAP 2,0 mg L⁻¹ merupakan media yang efektif pada multiplikasi tunas kopi Arabika. BAP merupakan ZPT yang paling banyak digunakan untuk memacu penggandaan tunas karena mempunyai respon yang lebih baik dari lainnya (Lestari, 2011). Planlet yang terbentuk terlihat normal (Gambar 1).

Tabel 5. Jumlah Akar Per Eksplan pada Kultur *in Vitro* Kopi Arabika

Perlakuan ZPT (mg L ⁻¹)	Umur (Bulan setelah tanam)		
	1	2	3
Kontrol	0,00	0,30 a	1,40 a
BAP 0,5	0,00	0,00 b	0,30 b
BAP 1,0	0,00	0,00 b	0,00 c
BAP 2,0	0,00	0,00 b	0,00 c
Kinetin 0,5	0,00	0,20 ab	0,10 bc
Kinetin 1,0	0,00	0,00 b	0,00 c
Kinetin 2,0	0,00	0,00 b	0,00 c
BAP 1,0 + Kinetin 1,0	0,00	0,00 b	0,00 c
BAP 2,0 + Kinetin 2,0	0,00	0,00 b	0,00 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

Jumlah tunas yang dihasilkan cukup banyak dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Namun demikian jumlah akar yang dihasilkan relatif sedikit, bahkan pada beberapa perlakuan belum menghasilkan akar. Apabila planlet hendak diaklimatisasi, perlu dilakukan sub kultur ke media pengakaran agar keberhasilan aklimatisasi dapat berhasil dengan baik.



Gambar 1. Keragaan planlet kopi Arabika. **A.** Perlakuan BAP 2,0 mg L⁻¹ pada 2 bulan setelah kultur. **B.** Perlakuan BAP 2,0 mg L⁻¹ pada 3 bulan setelah kultur. **C.** Perlakuan kontrol 3 bulan setelah kultur.

KESIMPULAN

Kopi Arabika varietas Sigarar Utang hasil embriogenesis somatik yang diperbanyak menggunakan kultur *in vitro* dengan media dasar MS yang diberi tambahan ZPT BAP dan Kinetin ataupun tanpa ZPT memiliki daya multiplikasi yang cukup tinggi. Media yang paling efektif menghasilkan jumlah tunas dan daun terbanyak adalah media yang diberi BAP 2,0 mg L⁻¹ dengan jumlah tunas dan daun berturut-turut

4,6 dan 14 buah pada umur 3 bulan. Pemberian Kinetin secara tunggal dan dikombinasikan dengan BAP dapat meningkatkan rata-rata tinggi planlet. Tetapi pemberian ZPT BAP dan Kinetin dapat menekan pembentukan akar. Jumlah akar terbanyak didapatkan di media MS tanpa pemberian ZPT. Apabila planlet akan diaklimatisasi, disarankan melakukan sub kultur ke media pengakaran terlebih dahulu, mengingat kultur yang dihasilkan mempunyai akar yang sedikit, bahkan pada beberapa perlakuan belum menghasilkan akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhasole U.P., S.V. Dubhashi, N.S. Mali, and H.P. Radthod. 2011. In vitro shoot multiplication in different species of Banana. *Asian Journal of Plant Science and Research*. Vol.1 (3):23-2.
- Ebrahim N., R. Shibli, I. Makhadmeh, M.Shatnawi, and A. Abu-Ein. 2007. In vitro Propagation and In vivo Acclimatization of Three Coffee Cultivars (*Coffea arabica* L.) From Yemen. *World Applied Sciences Journal*. Vol. 2 (2): 142-150, 2007
- Etienne H. 2005. *Somatic Embryogenesis Protocol: Coffee (Coffea arabica L. and Canephora P.)* In Jain S.M., and P.K. Gupta. (eds). 2005. Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Springer. Printed in the Netherlands. pp 167 - 179.
- Gawad A.E., M.A. Nehad, H.A. Mahdy, and E.S. Boshra. 2012. In vitro micropropagation protocol and acclimatization of coffee trees (*Coffea arabica* L.). *J. Plant Production, Mansoura Univ*. Vol. 3 (1):109 – 116.
- George E. F., M.A. Hall, and G.J. De Klerk. 2008. The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro-and Micro_Nutrients pp: 65-113 In. *Plant Propagation by Tissue Culture: The Background*. Vol: 1.3rd. Netherlands (NL).Edition Spriger.
- Ibrahim M. S. D. 2015a. *Pengembangan Metode Embriogenesis Somatik, Peningkatan Keragaman Genetik Kopi Arabika dan Deteksi Dini Keragaman Somaklonal Menggunakan SSR* [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.
- Ibrahim M. S. D., R.S. Hartati, Rubiyo, A. Purwito, dan Sudarsono. 2013a. Induksi Kalus embriogenik dan daya regenerasi Kopi arabika (*Coffea arabica* L.) menggunakan 2,4-D dan Benxyladenine. *Buletin Riset Tanaman rempah dan Aneka Tanaman Industri* Vol. 3.(1).
- Ibrahim M. S. D., Sudarsono, Rubiyo, dan Syafaruddin. 2013c. Pengaruh komposisi media terhadap pembentukan kalus menuju induksi embrio somatik kopi arabika (*Coffea arabica*). *Buletin Ristri*. 4 (2):91-98.
- Ibrahim M.A., H.A. Al-Taha, and A.A. Sehem. 2013. Effect of cytokinin type and concentration, and source of explant on shoot multiplication of pineapple plant (*Ananas comosus* 'Queen') in vitro. *Acta agriculturae Slovenica*. P 15-20.
- Ibrahim M.S.D., R.S. Hartati, Rubiyo, A.Purwito, and Sudarsono. 2015b. *Journal of Tropical Crop Science*. Vol. 2 (3): 6-13.
- Ibrahim M.S.D., R.S. Hartati, Rubiyo, A.Purwito, and Sudarsono. 2013c. Direct and indirect somatic embryogenesis on Arabica coffee (*Coffea arabica*). *Indonesian Journal of Agricultural Science*. Vol. 14 :79-86.
- Ibrahim M.S.D. 2015c. Faktor Penentu Keberhasilan Perbanyakan Kopi (*Coffea* spp.) melalui Embriogenesis Somatik. *SIRINOV*. Vol 3. (3): 127– 136.

- Jafari N., R.Y. Othman, and N. Khalid. 2011. Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on in vitro shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10(13) :2446-2450.
- Kahia, J.W. 1993. Plantlet regeneration from *Coffea arabica* L. shoot tips. *Kenya-Coffee*.58:1467-1471.
- Khumaida N., dan A.R.Fauzi. 2013. Induksi Tunas Ubi Kayu (*Mannihot esculenta* Crantz.) var. Adira 2 Secara In vitro. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 41 (2) : 133 - 139
- Lestari G.E. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 7 (1):63-68.
- Mantovani N.C, M.F. Grando, A. Xavier, and W.C. Otoni. 2013. In vitro shoot induction and multiplication from nodal segments of adult Ginkgo biloba plants. *Horticultura Brasileira*. 31: 184-189.
- Moses M.S., and J.E.Sullivan. 1985. Asexual Propagation of Coffee Through Shoot-Tip Culture. Propagation in Coffee. In Tissue culture in forestry and agriculture. *Proceedings of The Thrid Tennessee Symposium on Plnat Cell and Tissue Culture held September 9-13, 1984*. At the University of Tennessee. Editor Henke RR, Hughes KW, Constantin MJ, Hollaende A, Springer Science. *Basic life sciences*. Vol 32. 335p.
- Ogero K.O., G.N. Mburugu, M. Mwangi, O. Ombori, and M. Ngugi. 2012. In vitro micropropagation of cassava through low cost tissue culture. *Asian J. Agric. Sci*. 4:205-209.
- Pasqual M., and I.D.E. Barros. 1991. Effect of benzylaminopurine and naphthaleneacetic acid on shoot proliferation and in vitro growth of *Coffea arabica* L. *Pesquisa-Agropecuaria-Brasileira*, 26:201-204.
- Sondahl M.R., T. Nakamura, and W.R.Sharp . 1985. Propagation in Coffee. In Tissue culture in forestry and agriculture. *Proceedings of The Thrid Tennessee Symposium on Plnat Cell and Tissue Culture held September 9-13, 1984*. At the University of Tennessee. Editor Henke RR, Hughes KW, Constantin MJ, Hollaende A, Springer Science. *Basic life sciences*. Vol 32. p 215-232.
- Tolera B., M. Diro, and D. Belew. 2014. Effects of 6-Benzyl aminopurine and Kinetin on In Vitro Shoot Multiplication of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Varieties. *Advances in Crop Science and Technology*. p 2-5.