

Buletin

ISSN 1410-4377

Plasma Nutfah

Volume 10 Nomor 2 Tahun 2004



**Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian**

Buletin
Plasma Nutfah

Volume 10 Nomor 2 Tahun 2004

ISSN 1410-4377

Penanggung Jawab
Ketua Komisi Nasional Plasma Nutfah
Kusuma Diwyanto

Dewan Redaksi
Sugiono Moeljopawiro
Surachmat Kusumo
Maharani Hasanah
Subandriyo

Redaksi Pelaksana
Husni Kasim
Hermanto
Ida N. Orbani

Alamat Redaksi
Sekretariat Komisi Nasional
Plasma Nutfah
Jalan Tentara Pelajar 3A Bogor 16111
Telp/Faks. (0251) 327031
E-mail: genres@indo.net.id

Buletin ilmiah *Plasma Nutfah*
diterbitkan oleh Badan Penelitian dan
Pengembangan Pertanian secara
berkala, dua kali setahun, memuat
tulisan hasil penelitian dan tinjauan
ilmiah tentang eksplorasi, konservasi,
karakterisasi, evaluasi, dan utilisasi
plasma nutfah tanaman, ternak, ikan,
dan mikroba yang belum pernah
dipublikasi di media lain.

Daftar Isi

Penampilan Varietas Jagung Unggul Baru Bermutu Protein Tinggi di Jawa dan Bali	
..... <i>Muhammad Azrai</i>	49
Pengelolaan dan Pemanfaatan Plasma Nutfah Padi di Indonesia	
..... <i>Tiur Sudiaty Silitonga</i>	56
Karakterisasi Koleksi Plasma Nutfah Tomat Lokal dan Introduksi	
..... <i>Suryadi, Luthfy, K. Yenni, dan Gunawan</i>	72
Eksplorasi Sumber Genetik Abaca di Kepulauan Sangihe-Talaud	
.. <i>Untung Setyo-Budi, B. Heliyanto, dan Sudjindro</i>	77
Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika	
..... <i>Imron Riyadi dan Tirtoboma</i>	82
Pengelolaan Data Plasma Nutfah Ternak	
..... <i>Subandriyo</i>	90

Gambar sampul:
Tanaman Jagung Varietas Srikandi Kuning



Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian

Buletin
Plasma Nutfah

PEDOMAN BAGI PENULIS

Makalah ditulis dalam bahasa Indonesia atau Inggris. Diketik dua spasi dengan pengolah kata *Microsoft Word* dan dikirim dua eksemplar bersama disket kepada Redaksi.

Makalah Primer disusun dengan urutan: Judul, Nama Penulis, Instansi, Abstrak (dalam bahasa Indonesia dan Inggris), Kata Kunci, Pendahuluan, Bahan dan Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terima Kasih (bila diperlukan), dan Daftar Pustaka.

Makalah Sekunder disusun dengan urutan: Judul, Abstrak (dalam bahasa Indonesia dan Inggris), Kata Kunci, Pendahuluan, Isi Tinjauan, Kesimpulan, dan Daftar Pustaka.

Judul menggambarkan isi pokok tulisan secara singkat dan jelas, kurang lebih 10 kata.

Abstrak ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris, tidak lebih dari 250 kata, menggambarkan intisari permasalahan, metode, uraian isi, dan kesimpulan.

Pendahuluan berisi latar belakang/masalah, hipotesis, pendekatan, dan tujuan penelitian.

Bahan dan Metode menguraikan bahan, cara kerja, rancangan percobaan dan lingkungan penelitian serta waktu dan tempat penelitian.

Hasil dan Pembahasan mengungkapkan hasil penelitian, bagaimana hasil penelitian dapat memecahkan masalah, prinsip hubungan yang dicerminkan, perbedaan/persamaan dengan hasil penelitian terdahulu, serta kemungkinan pengembangannya. Bab ini dapat disertai dengan tabel, ilustrasi (grafik, diagram, gambar) dan foto. Informasi yang sudah dijelaskan dalam tabel atau ilustrasi tidak perlu diuraikan panjang lebar dalam teks.

Uraian terdiri atas beberapa Subbab yang disesuaikan dengan kebutuhan dan informasi yang tersedia.

Kesimpulan cukup singkat, memuat hasil yang dibahas.

Daftar Pustaka disusun menurut abjad berdasarkan nama penulis pertama. Hanya pustaka yang diacu yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka. Setiap pustaka yang tercantum dalam Daftar Pustaka harus dirujuk dalam teks, tabel atau ilustrasi. Pustaka ditulis secara berurutan terdiri atas: nama pengarang (atau nama instansi jika anonim), tahun penerbitan, khusus untuk buku harus mencantumkan nama penerbit, kota, negara, dan jumlah halaman.

Penulis akan dikirim dua copy untuk setiap makalah yang telah diterbitkan

Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika

Imron Riyadi dan Tirtoboma

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor

ABSTRACT

Direct induction of somatic embryos in Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) using plant growth regulators (PGR's) has been successful. The concentration and combination of different kinds of PGR's can influence the response and success in embryo induction. An experiment was conducted to determine the optimal concentration of 2,4-D in combination with kinetin for direct induction and proliferation of somatic embryos. The plant material used was Arabica coffee var. Kartika-1 originating from The Indonesian Coffee and Cacao Research Institute, Jember. Explants were taken from young leaves of reddish-green in color. Somatic embryos were induced directly on a Murashige-Skoog (MS) standard medium containing 30 g/l sucrose and supplemented with 0, 1, 2, 4, and 8 mg/l 2,4-D in combination with 0.1 mg/l kinetin each. The cultures were incubated in the dark at temperature 26°C and RH $\pm$ 60% for 6 weeks with 10 replications. The results showed that somatic embryogenesis in Arabica coffee was best induced in a culture medium with 2,4-D at 4 mg/l, combination with 0.1 mg/l kinetin. Induction of somatic embryos was achieved at 100% 4 weeks after culture. Three morphological stages of embryo development were identified: globular, early heart, and middle heart. The embryos were of three distinct colors such as, yellowish, yellowish-white, and white. The highest rate of proliferation of somatic embryos was achieved at 2 mg/l 2,4-D in combination with 0.1 mg/l kinetin averaging 68.53 embryos per explant 6 weeks after subculture.

Key words: *Coffea Arabica*, somatic embryos, direct embryo induction, embryo proliferation, 2,4-D.

ABSTRAK

Induksi embrio somatik langsung pada kopi Arabika yang menggunakan beberapa zat pengatur tumbuh (ZPT) telah berhasil dilakukan. Namun, konsentrasi dan kombinasi antara jenis ZPT yang berbeda dapat mempengaruhi keberhasilan induksi embrio tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi optimal 2,4-D yang dikombinasikan dengan kinetin untuk induksi dan penggandaan embrio somatik langsung. Bahan tanaman yang digunakan adalah kopi Arabika varietas Kartika-1 yang berasal dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember. Eksplan berupa daun muda yang masih berwarna hijau kemerahan. Embrio somatik telah berhasil diinduksi secara langsung pada media Murashige-Skoog (MS) standar yang mengandung 30 g/l sukrosa dan diberi 2,4-D

dengan konsentrasi 0, 1, 2, 4, dan 8 mg/l masing-masing dikombinasikan 0,1 mg/l kinetin. Kultur tersebut diinkubasikan dalam ruang gelap bersuhu 26°C dan kelembaban relatif $\pm$ 60% selama 6 minggu yang diulang sebanyak 10 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat induksi embrio somatik secara langsung terbaik diperoleh pada perlakuan konsentrasi 4 mg/l 2,4-D dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin yang mencapai 100% pada empat minggu setelah kultur. Bentuk embrio yang tumbuh ada tiga, yaitu *globular*, *early heart*, dan *middle heart*. Warna embrio yang terlihat juga ada tiga macam, yaitu kekuningan, putih kekuningan, dan putih, sedangkan tingkat penggandaan embrio somatik terbaik dicapai pada perlakuan konsentrasi 2 mg/l 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin dengan jumlah rata-rata 68,53 embrio per eksplan pada enam minggu setelah subkultur.

Kata kunci: Kopi Arabika, embrio somatik, induksi embrio secara langsung, proliferasi embrio, 2,4-D.

PENDAHULUAN

Tanaman kopi merupakan salah satu tanaman perkebunan yang penting dan termasuk komoditas ekspor yang dapat mendatangkan sumber devisa bagi negara. Dalam dunia perdagangan, kopi Arabika (*Coffea arabica*) lebih berharga daripada kopi Robusta (*C. anephora*) karena kualitasnya lebih baik (Toruan-Mathius *et al.* 1995).

Secara konvensional, tanaman kopi dapat di biakkan dengan cara vegetatif (cangkok dan okulasi) maupun generatif (biji). Namun pada kedua cara pembiakan tersebut masih terdapat beberapa kelemahan (Tahardi *et al.* 1997). Perbaikan kualitas dan teknik pembibitan kopi Arabika yang dimungkinkan lebih cepat dan efisien adalah melalui teknik kultur *in vitro* (Priyono 1993, Sumaryono dan Tahardi 1993, Suryowinoto 1996).

Metode perbanyakan melalui kultur *in vitro* dapat menghasilkan bibit secara klonal dalam jumlah besar dan waktu relatif singkat. Menurut William dan Maheswaran (1996), embriogenesis somatik merupakan salah satu teknik yang paling banyak digunakan dalam induksi embrio melalui

regenerasi planlet asal kultur *in vitro*. Proses ini dapat terjadi secara langsung membentuk proembrio atau embrioid pada potongan eksplan yang disebut sebagai embriogenesis langsung atau melalui pembentukan kalus lebih dahulu yang disebut sebagai embriogenesis tidak langsung (Suryowinoto, 1990). Embriogenesis langsung memerlukan waktu lebih singkat untuk menghasilkan planlet dan kemungkinan terjadinya penyimpangan akibat keragaman somaklonal lebih kecil dibandingkan dengan embriogenesis tidak langsung (Dublin 1981, Ramos *et al.* 1993).

Penelitian kultur *in vitro* tanaman kopi khususnya jenis Robusta yang menggunakan eksplan daun muda telah dilakukan oleh Sondahl *et al.* (1981), Warga-Dalem (1985), dan Hatanaka *et al.* (1991). Setiap varietas kopi Robusta memperlihatkan tanggapan yang bervariasi terhadap perlakuan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Ramos *et al.* 1993). Pada tanaman kopi Arabika juga terjadi perbedaan tanggapan terhadap jenis dan konsentrasi ZPT yang diberikan. Penelitian embriogenesis pada kopi Arabika cv. Caturra yang dilakukan oleh Acuna dan Myriam (1991) telah berhasil menginduksi embrio dengan menggunakan tiga kombinasi ZPT, yaitu BAP, 2,4-D, dan NAA. Menurut Neuenschwander dan Baumann (1992), penggunaan kombinasi kinetin (konsentrasi relatif tinggi) dengan 2,4-D (konsentrasi relatif rendah) dapat menginduksi embrio somatik pada tanaman kopi Arabika cv. Catuai Vermelho. Dalam proses pendewasaan embrio somatik tersebut digunakan ABA dengan konsentrasi relatif tinggi. Priyono (1993) juga berhasil menginduksi embrio somatik kopi Arabika klon BP 415A dengan menggunakan kombinasi BAP dan IAA dan BAP dengan 2-iP.

Apabila teknik induksi dan proliferasi embrio somatik telah dikuasai, maka pada penerapan selanjutnya dapat dilakukan secara massal dengan sistem bioreaktor (Denchev *et al.* 1992) sehingga dapat memproduksi bibit dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat dan tingkat homogenitasnya dapat ditingkatkan (Sumaryono dan Tahardi 1993).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi optimal konsentrasi 2,4-D dengan kinetin untuk induksi dan proliferasi embrio somatik kopi Arabika varietas Kartika-1 melalui embriogenesis somatik langsung.

BAHAN DAN METODE

Penelitian menggunakan kopi Arabika varietas Kartika-1 yang berasal dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember. Eksplan berupa daun muda yang masih berwarna hijau kemerahan dari tanaman asal biji yang ditumbuhkan di rumah kaca. Penelitian ini terdiri atas dua tahap, yaitu induksi embrio somatik secara langsung dari eksplan daun muda dan penggandaan embrio hasil induksi.

Induksi Embrio Somatik

Daun muda diambil dari tanaman yang dipelihara di rumah kaca, dicuci sampai bersih dengan air. Selanjutnya daun dicuci dalam 100 ml akuades steril yang diberi empat tetes Tween-20. Setelah dibilas, daun disterilkan dengan larutan 0,2% Dithane M-45 selama 20 menit, diikuti oleh sterilisasi dengan larutan 20% kloroks selama 20 menit sambil dikocok, diikuti pembilasan dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Sebelum dikulturkan dalam medium, daun muda dipotong-potong berbentuk segi empat dengan ukuran 1 cm x 1 cm. Eksplan dikulturkan dalam medium Murashige-Skoog (1962) standar yang mengandung 30 g/l sukrosa dan diberi 2,4-D dengan konsentrasi 0, 1, 2, 4, dan 8 mg/l masing-masing dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin. Sebelum disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit dengan tekanan 1,5 atm, pH medium diatur 5,7 kemudian ditambahkan 2,0 g/l gelrite. Eksplan dikulturkan dalam cawan petri, masing-masing berisi tiga eksplan yang diulang sebanyak 10 kali. Kultur diinkubasi dalam ruang gelap pada temperatur 24°C dan kelembaban relatif $\pm 60\%$ selama lima minggu.

Proses induksi embrio secara langsung diamati sejak awal tanam dan data diambil setiap minggu selama lima minggu. Peubah yang diukur adalah kecepatan induksi, bentuk, dan warna embrio somatik hasil induksi, serta jumlah total embrio somatik yang terbentuk.

Penggandaan Embrio Somatik

Embrio yang tumbuh dari tahap induksi digunakan sebagai bahan dalam percobaan penggandaan embrio. Embrio somatik dengan tingkat perkem-

bangun globular dari masing-masing tingkat perlakuan 2,4-D yang dikombinasikan dengan kinetin 0,1 mg/l pada induksi embrio somatik, disubkultur ke dalam media dengan perlakuan ZPT yang sama. Sebanyak tiga kelompok embrio disubkultur ke dalam cawan petri masing-masing diulang 10 kali. Kultur diinkubasikan dalam ruang gelap pada suhu 26°C dan kelembaban relatif $\pm 60\%$ selama 6 minggu.

Peubah yang diukur adalah tingkat proliferasi embrio somatik selama masa kultur. Data yang diperoleh diuji statistik dengan metode faktor tunggal untuk mencari nilai anova atau sidik ragamnya. Kemudian nilai rata-rata antarperlakuan diuji jarak dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf uji 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Embrio Somatik

Inisiasi pertumbuhan proembrio mulai terlihat 10 hari setelah dikulturkan. Proembrio atau embrio dini mulai tumbuh pada pinggir eksplan (bekas luka sayatan) yang tampak berjajar membentuk segmentasi (Gambar 1).

Perlakuan konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan kinetin 0,1 mg/l menghasilkan inisiasi embrio somatik yang berbeda. Pada konsentrasi 4 mg/l 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin, proembrio mulai terbentuk pada umur 10 hari setelah dikulturkan, sedangkan pada perlakuan kontrol 0 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin baru terlihat setelah lebih dari tiga minggu.

Dalam perkembangannya, proembrio mulai jelas bentuk dan warnanya setelah tiga minggu dalam kultur media. Embrio yang mulai membesar berbentuk bulat (granular) dengan warna transparan, kemudian berkembang menjadi beberapa warna, yaitu kekuningan, putih kekuningan, dan putih. Permukaan embrio terlihat halus dan mengkilap dengan ukuran relatif homogen (Gambar 2). Di samping terbentuk proembrio dan embrio, juga terbentuk kalus berstruktur remah di sisi eksplan yang tidak ditumbuhi embrio somatik. Kalus remah ini tampak seperti pasir berwarna putih. Selanjutnya kalus remah dibuang karena dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan embrio. Massa kalus

tertinggi terlihat pada perlakuan 8 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin (Gambar 2).

Semua perlakuan 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin berpengaruh terhadap induksi embrio secara langsung pada tanaman kopi Arabika varietas Kartika-1 (Gambar 3). Namun, masing-masing perlakuan memberikan kecepatan tanggap induksi embrio yang berbeda. Hal ini mungkin terjadi karena pengaruh perbandingan konsentrasi 2,4-D dengan 0,1 mg/l kinetin (auksin dengan sitokinin) yang berbeda dari semua perlakuan. Keadaan ini mirip dengan hasil penelitian Ramos *et al.* (1993) dan Sumaryono dan Tahardi (1993) yang melaporkan bahwa variasi konsentrasi auksin menyebabkan tanggap induksi embrio somatik kopi Robusta berbeda antar perlakuan. Perlakuan 4 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin menghasilkan induksi embrio somatik paling banyak, yaitu 50% terinduksi selama dua minggu dan 100% terinduksi dalam waktu empat minggu dari total eksplan yang dikulturkan. Pada perlakuan kontrol 0 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin, embrio somatik yang terinduksi baru mencapai 6,7% dari eksplan yang dikulturkan dalam waktu 4 minggu. Perlakuan 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin dapat menginduksi embrio somatik sebanyak 100% pada umur lima minggu setelah kultur, sedangkan perlakuan 1 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l dan 8 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin menginduksi embrio somatik sebanyak 93,3% pada umur lima minggu setelah kultur (Gambar 3).

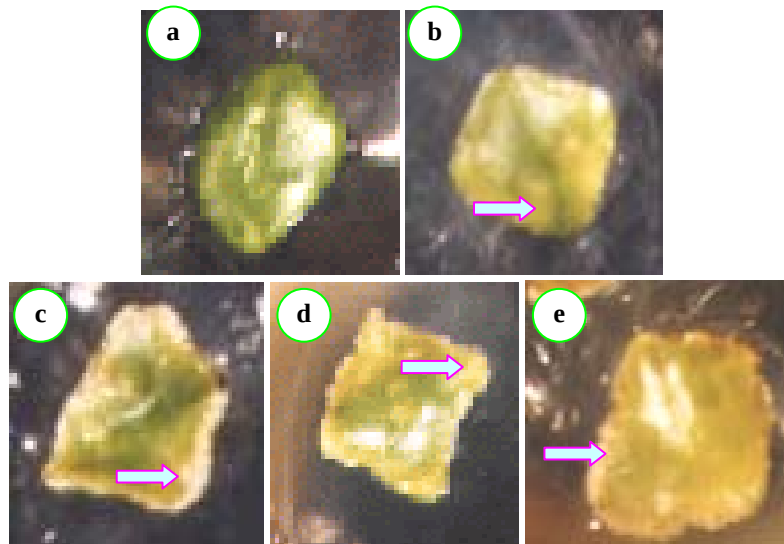
Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan 8 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin menghasilkan jumlah embrio lebih rendah. Hal ini disebabkan di samping pembentukan embrio somatik juga terdapat pembentukan kalus yang lebih banyak sehingga pertumbuhan embrio tidak seoptimal pada perlakuan 4 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin. Ponsamuel *et al.* (1996) menemukan hal yang sama pada kultur teh asal kotiledon dengan konsentrasi 1 μM 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,5 μM kinetin. Pada kultur tersebut jumlah embrio somatik yang dihasilkan sedikit karena di samping tumbuh embrio somatik juga tumbuh kalus remah pada eksplan.

Terdapat tiga bentuk embrio somatik yang tumbuh dan berkembang, yaitu *globular*, *early heart*, dan *middle heart*. Penggolongan bentuk em-

brion ini berdasarkan ciri morfologi perkembangan embrio dari hasil penelitian Raghavan (1976). Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan jumlah rata-rata bentuk embrio dari total embrio yang terbentuk pada setiap perlakuan (Gambar 4). Perbedaan yang terlihat jelas dari semua perlakuan adalah bentuk *middle heart*, yaitu makin tinggi konsentrasi

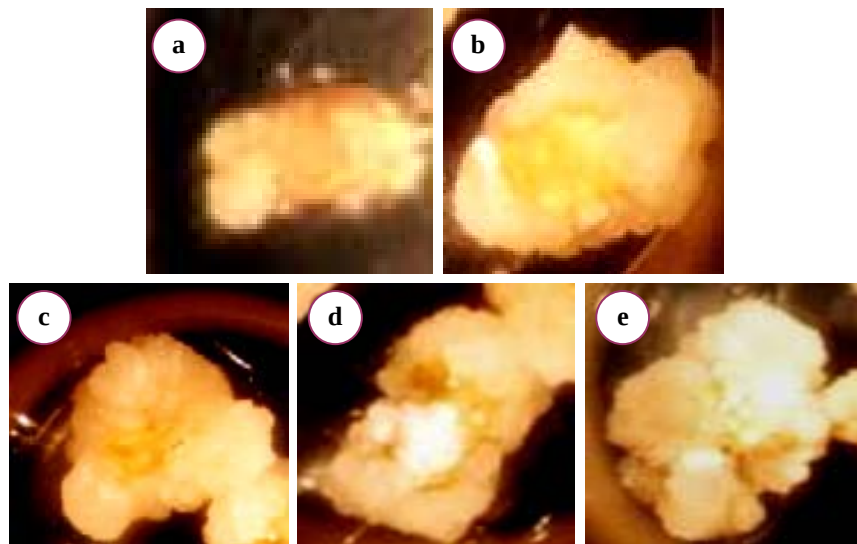
2,4-D makin tinggi pula jumlah bentuk embrio. Secara keseluruhan, persentase embrio berbentuk *middle heart* paling rendah dibandingkan dengan bentuk *globular* maupun *early heart*.

Perlakuan 8 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin menghasilkan embrio berbentuk *middle heart* tertinggi (18%), sedangkan pada perlakuan kontrol ti-



a = 0 mg/l, b = 1 mg/l, c = 2 mg/l, d = 4 mg/l, e = 8 mg/l masing-masing dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin.

Gambar 1. Inisiasi pertumbuhan embrio somatik langsung (segmentasi embrio somatik) pada kopi Arabika umur 10 hari dalam medium MS ditambah 2,4-D.



a = 0 mg/l, b = 1 mg/l, c = 2 mg/l, d = 4 mg/l, e = 8 mg/l, masing-masing dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin.

Gambar 2. Pertumbuhan embrio somatik langsung pada kopi Arabika pada umur lima minggu dalam media MS ditambah 2,4-D.

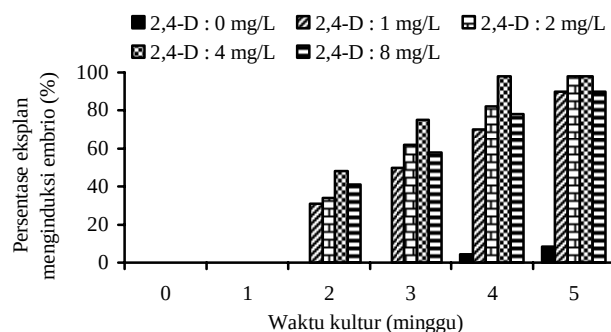
dak terbentuk (Gambar 4). Persentase embrio bentuk *early heart* terendah (13,5%) diperoleh pada perlakuan 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin dan tertinggi (24,5%) pada perlakuan 8 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin. Embrio berbentuk *globular* tampak mendominasi embrio somatik yang terbentuk untuk semua perlakuan. Perlakuan 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin menghasilkan bentuk *globular* tertinggi (79,7%), sedangkan perlakuan 8 mg/l 2,4-D + 1 mg/l kinetin hanya menghasilkan bentuk *globular* terendah (50,7%).

Berdasarkan warna, embrio somatik kopi Arabika yang diperoleh dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu kekuningan, putih kekuningan, dan putih (Gambar 5). Kelima perlakuan konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin menghasilkan komposisi warna embrio yang berbeda. Pada perlakuan kontrol hanya terdapat dua warna, yaitu putih kekuningan dan kekuningan, sedangkan pada empat perlakuan lainnya terdapat tiga warna. Perbedaan yang jelas terlihat dari semua perlakuan adalah perubahan persentase warna putih dan putih kekuningan. Pada konsentrasi 2,4-D tinggi, persentase warna putih kekuningan makin menurun namun warna putih makin meningkat.

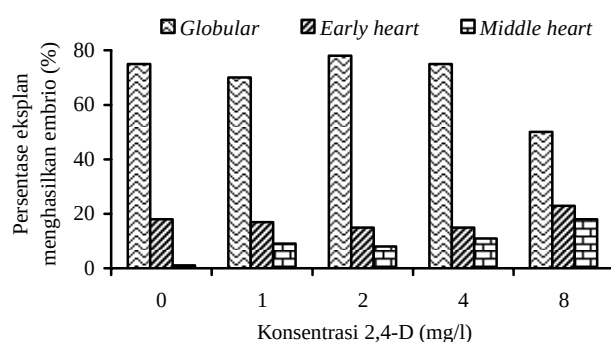
Pada konsentrasi 0 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin, 1 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin, dan 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin, frekuensi warna putih kekuningan hampir sama, masing-masing 69,2%, 65,5%, dan 68,5%. Warna putih kekuningan tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (69,2%) dan terendah (26,5%) pada perlakuan 8 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin, sedangkan warna putih tertinggi (39,1%) diperoleh pada perlakuan 8 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin dan terendah (0%) pada kontrol. Untuk embrio yang berwarna kekuningan tertinggi (31%) diperoleh pada perlakuan 4 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin dan terendah (20%) pada perlakuan 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin.

Berdasar hasil pengamatan warna embrio tampak bahwa tingkat perkembangan embrio somatik erat kaitannya dengan warna embrio. Embrio *globular* umumnya berwarna putih kekuningan, sedangkan embrio *early heart* berwarna kekuningan, dan embrio *middle heart* berwarna putih.

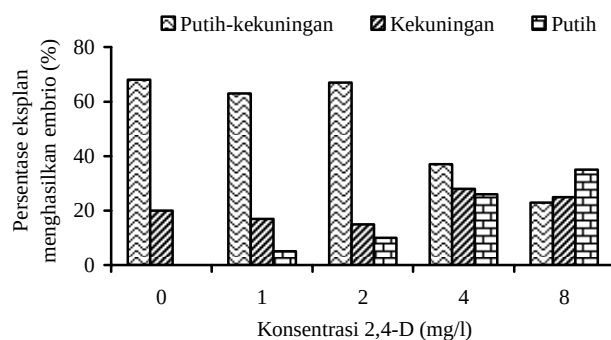
Berdasarkan jumlah eksplan terinduksi, perlakuan 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin dan 4 mg/l



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin terhadap kecepatan induksi dan pertumbuhan embrio somatik langsung kopi Arabika.



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin terhadap perkembangan embrio somatik.



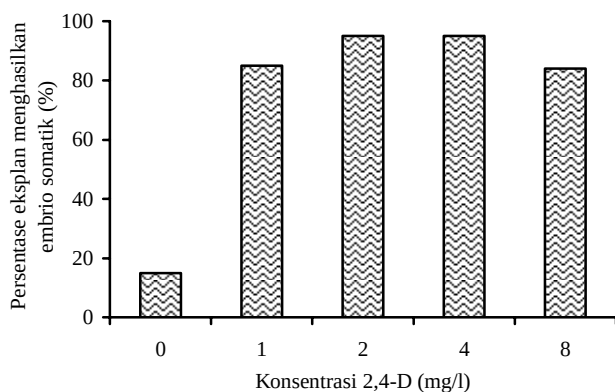
Gambar 5. Pengaruh konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin terhadap jumlah persentase rata-rata warna embrio dari masing-masing perlakuan.

2,4-D + 0,1 mg/l kinetin dapat menginduksi embrio somatik sebanyak 100% dari jumlah eksplan yang dikulturkan, sedangkan pada perlakuan kontrol hanya 16,7% (Gambar 6). Pada perlakuan 4 mg/l 2,4-

D + 0,1 mg/l kinetin, embrio somatik yang tumbuh dapat mencapai 100% dari eksplan yang dikulturkan pada umur empat minggu (seminggu lebih awal), sedangkan perlakuan 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin pada umur lima minggu setelah kultur.

Konsentrasi 2,4-D optimal untuk menginduksi embrio somatik adalah 4 mg/l + 0,1 mg/l kinetin dengan waktu lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi 2,4-D lainnya. Menurut George dan Sherrington (1984) serta Hatanaka *et al.* (1991), konsentrasi auksin (seperti 2,4-D) yang optimal akan menginduksi embrio somatik lebih cepat dan dalam jumlah yang lebih banyak.

Di samping 2,4-D, kinetin juga berpengaruh dalam induksi embrio somatik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan termasuk kontrol (tanpa 2,4-D) mampu menginduksi pembentukan embrio somatik (Gambar 6). Hal ini dimungkinkan karena adanya kinetin dalam media tersebut



Gambar 6. Pengaruh konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin terhadap jumlah total embrio somatik langsung yang terinduksi.

Tabel 1. Jumlah embrio yang mengalami penggandaan pada medium MS, masing-masing ditambah 0,1 mg/l kinetin dan konsentrasi 2,4-D yang berbeda

Konsentrasi 2,4-D (mg/l)	Jumlah embrio berproliferasi
0	7,82 c
1	60,35 b
2	68,53 a
4	61,22 ab
8	54,00 b

Angka-angka dalam satu lajur yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada $P < 0,05$.

yang berpengaruh pada proses induksi embrio somatik. Keadaan ini sesuai dengan hasil penelitian Castillo dan Smith (1997) yang telah berhasil menginduksi embrio somatik langsung pada tanaman *Begonia gracilis* dengan menggunakan 0,5 mg/l kinetin yang ditambah 2% air kelapa. Perlakuan 2,4-D (1-8 mg/l) + 0,1 mg/l kinetin dapat menginduksi embrio somatik lebih tinggi karena adanya dua ZPT yang berperan dalam induksi embrio somatik. Menurut penelitian Neunschwander dan Baumann (1992), kombinasi 0,25 mg/l 2,4-D dengan 0,1 mg/l kinetin pada media setengah makro MS cair dapat memberikan hasil optimal induksi embrio somatik kopi Arabika cv. Catuai Vermelho.

Penggandaan Embrio Somatik

Embrio terlihat mulai mengalami penggandaan pada umur ± 2 minggu setelah subkultur. Tingkat penggandaan tampak berkembang pesat pada umur empat minggu setelah disubkultur selama enam minggu. Pada tahap ini, perlakuan terbaik diperoleh pada 2 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin karena menghasilkan tingkat penggandaan embrio somatik tertinggi.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tingkat penggandaan embrio pada semua perlakuan memberikan hasil yang jauh lebih baik dibandingkan dengan kontrol (tanpa 2,4-D). Hal ini berarti perlakuan 2,4-D yang diberikan sangat berpengaruh dalam penggandaan embrio somatik.

Perlakuan kontrol hanya menghasilkan 7,82 embrio (terendah), sedangkan perlakuan 2 mg/l 2,4-D menghasilkan tingkat penggandaan tertinggi yang mencapai rata-rata 68,5 embrio dan merupakan konsentrasi yang optimal. Pada perlakuan konsentrasi 2,4-D lebih dari 2 mg/l, tingkat penggandaan makin menurun. Hal ini disebabkan karena perlakuan 2,4-D tinggi (4 dan 8 mg/l) selain menyebabkan penggandaan embrio somatik juga meningkatkan pertumbuhan kalus yang relatif cepat sehingga dapat mempengaruhi tingkat penggandaan embrio somatik. Keadaan tersebut terlihat jelas pada perlakuan 8 mg/l 2,4-D.

Dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik kopi Arabika, selain 2,4-D, keberadaan kinetin juga berpengaruh pada proses pertumbuhan dan perkembangannya. Bahkan pada

proses penggandaan, konsentrasi 0,1 mg/l kinetin ternyata dapat mempengaruhi penggandaan embrio somatik pada perlakuan kontrol (0 mg/l 2,4-D). Hal ini diduga karena kinetin seperti golongan sitokinin yang lain dapat berpengaruh dalam pertumbuhan dan proliferasi embrio somatik. Fenomena ini sesuai dengan hasil penelitian Neuenschwander dan Baumann (1992) yang melaporkan bahwa penggunaan kinetin yang dikombinasikan dengan 2,4-D dapat meningkatkan proliferasi embrio somatik kopi Arabika cv. Catuai Vermelho.

KESIMPULAN

Induksi terbaik embrio somatik kopi Arabika varietas Kartika-1 secara langsung dari kultur daun muda diperoleh pada media MS standar yang diberi 4 mg/l 2,4-D dan dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin yang dapat menginduksi seluruh eksplan dalam waktu empat minggu setelah kultur.

Penggandaan embrio somatik kopi Arabika terbaik diperoleh pada perlakuan 2 mg/l 2,4-D yang dikombinasikan dengan 0,1 mg/l kinetin yang dapat menghasilkan embrio somatik terbanyak dalam waktu enam minggu setelah subkultur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember atas bantuan dalam penyediaan bahan tanaman untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Acuna, J.R. and Myriam de Pena. 1991. Plant regeneration from protoplast of embryogenic cell suspension of *Coffea arabica* L. cv. Caturra. *Plant Cell Rep.* 10:345-348.

Castillo, B. and M.A.L. Smith. 1997. Direct somatic embryogenesis from *Begonia gracilis* explants. *Plant Cell Rep.* 16:385-388.

Denchev, P.D., A.I. Kuklin, and A.H. Scragg. 1992. Somatic embryo in bioreactors. *J. Biotechnol.* 26:99-109.

Dublin, P. 1981. Embryogenesis somatique directe sur fragments de feuilles de cofeier Arabusta. *Cafe Cacao The.* 25(4):23 7-242.

George, R.F and P.D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture.* Exegetics Limited, Edington, UK. 709 p.

Hatanaka, T., O. Arakawa, T. Yasuda, N. Uchida, and T. Yamaguchi. 1991. Effect of plant growth regulators on somatic embryogenesis in leaf cultures of *Coffea canephora*. *Plant Cell Reports* 10:179-182.

Murashige, T. and F. Skooge. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-479.

Neuenschwander, B. and T.W. Baumann. 1992. A novel type of somatic embryogenesis in *Coffea arabica*. *Plant Cell Rep.* 10:608-612.

Ponsamuel, J., N.P. Samson, P.S. Ganeshan, V. Sathyaprakash, and G.C. Abraham. 1996. Somatic embryogenesis and plan regeneration from immature cotyledonary tissues of cultivated tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Plant Cell Rep.* 16:210-214.

Priyono. 1993. Embriogenesis somatik langsung pada kultur *in vitro* eksplan daun kopi Arabika (*Coffea arabica*). *J II. Pert. Indon.* 3(1):16-20.

Ramos, L.C.S., E.Y. Yokoo, and W. Goncalves. 1993. Direct somatic embryogenesis is genotype specific in coffee. *In* Quinzieme Colloque Scientifique Sur le Cafe. Vol. 11. ASIC Montpellier, 6-11 Juin 1993. p. 763-766.

Raghavan, V. 1976. Experimental embryogenesis in vascular plants. *Academic Press, London.* p. 73-88.

Sondahl, M.R., L.C. Monaco, and W.R. Sharp. 1981. *In vitro* methods applied to coffee. *In* T.A. Thorp (Ed.) *Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture.* New York, Academic Press. p. 325-347.

Sumaryono dan J.S. Tahardi. 1993. Perbanyakan klon kopi robusta toleran nematoda melalui embriogenesis somatik langsung. *Menara Perkebunan* 61(3):50-55.

Suryowinoto, M. 1990. Pelunjuk laboratorium, pemuliaan tanaman secara *in vitro*. PAU Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal. 213-234, 269-294.

Suryowinoto, M. 1996. Prospek kultur jaringan dalam perkembangan pertanian modern. Universitas Gadjah Mada. hal. 1-10.

Tahardi, J.S., Sumaryono, and N. Mardiana. 1997. Initiation and maintenance of embryogenic suspension culture of tea (*Camellia sinensis* L.). *Menara Perkebunan* 65(1):1-8.

Toruan-Mathius, N. 1990. Perbanyakan tanaman kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dengan kultur jaringan. Pusat Penelitian Perkebunan Bogor. 18 hal.

Toruan-Mathius, N., A. Pancoro, D. Sudarmaji, S. Mawardi, and T. Hutabarat. 1995. Root characterizatics and molecular polymorphisms associated with resistance

- to *Pratylenchus coffeae* in robusta coffee. Menara Perkebunan 63(2):33-42.
- Warga-Dalem, S.K. 1985. Embriogenesis somatik dan regenerasi tanaman pada kultur daun kopi robusta (*Coffea canephora*). Bogor, Fakultas Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 66 hal. (tidak dipublikasikan).
- William, E.G. and G. Maheswaran. 1996. Somatic embryogenesis: Factors influencing coordinated behaviour of cells as an embryogenic group. Ann. Bot. 57:443-462.