

FAKTOR PENENTU KEBERHASILAN PERBANYAKAN KOPI (*Coffea* spp.) MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK

MAIN FACTORS FOR THE SUCCESS OF COFFEE PROPAGATION THROUGH SOMATIC EMBRYOGENESIS

Meynarti Sari Dewi Ibrahim

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jl. Raya Pakuwon – Parungkuda km. 2 Sukabumi, 43357
Telp.(0266) 6542181, Faks. (0266) 6542087
meynartisaya@yahoo.com

ABSTRAK

Perbanyakan tanaman menggunakan teknik kultur jaringan (*in vitro*) dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik. Pada kultur *in vitro* kopi, regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik memberikan lebih banyak keuntungan dibandingkan dengan organogenesis. Embriogenesis somatik telah digunakan dalam perbanyakan tanaman kopi. Keberhasilan dalam perbanyakan kopi melalui embriogenesis somatik ditentukan oleh beberapa faktor antara lain : pemilihan genotipe tanaman, kondisi sumber eksplan, pengambilan dan sterilisasi eksplan, komposisi media tumbuh, zat pengatur tumbuh, lingkungan tumbuh kultur dan aklimatisasi. Faktor tersebut saling terkait satu sama lain sehingga perlu diperhatikan dalam mendukung keberhasilan embriogenesis somatik kopi.

Kata kunci : *Coffea* spp., eksplan, genotipe, lingkungan tumbuh, media

ABSTRACT

Tissue culture for plant propagation can be performed through organogenesis and somatic embryogenesis pathways. In coffee tissue culture, somatic embryogenesis plant regeneration has more benefits compared to organogenesis. Somatic embryogenesis has been used in coffee propagation. The success of somatic embryogenesis plant propagation is determined by a number of factors namely: the selection of plant genotypes in use, conditions of explant source, picking and sterilization of explants, media composition culture media, plant growth regulator (PGR) formula, growth environment, and acclimatization. Those factors are interrelated and should be taken into consideration to support the success of coffee somatic embryogenesis.

Keywords: *Coffea* spp, explant, genotype, growing environment, media

PENDAHULUAN

Kultur jaringan (*in vitro*) adalah suatu metode mengisolasi bagian tanaman seperti protoplas, sel, jaringan atau organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat tumbuh dan memperbanyak diri serta beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1992). Kultur *in vitro* berkembang pesat setelah adanya pembuktian tentang teori totipotensi sel yang menyatakan bahwa setiap sel, jaringan dan organ mempunyai potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman lengkap.

Kultur *in vitro* telah terbukti dapat digunakan untuk menyediakan bibit tanaman secara massal dan cepat. Perbanyakan tanaman menggunakan tehnik kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan

embriogenesis somatik. Pada kultur *in vitro* kopi, kedua jalur baik organogenesis dan embriogenesis somatik telah dilakukan untuk tujuan perbanyakan tanaman (Ibrahim *et al.*, 2013b; Etienne, 2005). Eksplan yang digunakan untuk jalur organogenesis adalah stek buku, tunas aksilar, dan apikal, sementara jalur embriogenesis somatik adalah daun muda.

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses dimana struktur bipolar yang menyerupai embrio zigotik berkembang dari satu sel non-zigotik tanpa adanya hubungan pembuluh dengan jaringan asalnya (von Arnorld *et al.*, 2002). Teknik ini tidak membutuhkan tempat yang luas, dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa mengenal musim, bibit yang dihasilkan lebih sehat karena bebas hama penyakit, mempunyai akar tunggang seperti perbanyakan menggunakan

biji, dan dapat melakukan manipulasi genetik untuk menghasilkan varietas baru dengan sifat-sifat baik yang diinginkan.

Perbanyakan kopi melalui embriogenesis somatik telah dilakukan sejak lama, namun sampai saat ini masih banyak diteliti untuk mendapatkan hasil yang lebih baik. Keberhasilan menginduksi embriogenesis somatik dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya : sumber eksplan, jenis tanaman, genotipe tanaman, keadaan fisiologi sel, formulasi zat pengatur tumbuh, komposisi media tumbuh, dan lingkungan tumbuh (George *et al.*, 2008; Ehsanpour, 2002).

Berdasarkan pengalaman, untuk mendapatkan keberhasilan yang tinggi dalam embriogenesis somatik kopi ada beberapa faktor yang perlu kita ketahui. Faktor tersebut antara lain : pemilihan genotipe tanaman sebagai eksplan, kondisi sumber eksplan, pengambilan dan sterilisasi eksplan, komposisi media tumbuh, zat pengatur tumbuh, lingkungan tumbuh kultur dan aklimatisasi. Tulisan ini akan memberikan gambaran seberapa penting faktor tersebut dapat mempengaruhi keberhasilan embriogenesis somatik kopi.

PEMILIHAN GENOTIPE TANAMAN YANG DIGUNAKAN SEBAGAI EKSPLAN

Pemilihan genotipe tanaman yang digunakan sebagai sumber eksplan wajib dilakukan untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam penyediaan benih. Pohon induk yang dijadikan sumber eksplan harus merupakan genotipe yang terpilih dan telah diseleksi oleh pemulia (Arimarsetiowati, 2013). Setelah dilakukan seleksi pohon induk, pohon/tanaman kopi ditandai dan diberi kode tertentu sesuai genotipe tanaman. Untuk mempermudah pengambilan eksplan sebaiknya pohon induk ditumbuhkan dan dipelihara di rumah kaca.

Selain untuk keperluan penyediaan bibit yang sebenarnya (*true to type*), pemilihan genotipe tanaman yang tepat juga diperlukan dalam proses embriogenesis somatik. Genotipe tanaman sangat mempengaruhi pertumbuhan

dan morfogenesis eksplan dalam kultur *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa respon masing-masing genotipe tanaman kopi terhadap media kultur sangat bervariasi (Etienne, 2005 : Samson *et al.*, 2006; Ibrahim, 2015). Pengaruh genotipe ini umumnya berhubungan erat dengan faktor-faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan, seperti kebutuhan unsur hara, zat pengatur tumbuh, dan lingkungan kultur. Komposisi media, zat pengatur tumbuh dan lingkungan pertumbuhan yang dibutuhkan oleh masing-masing genotipe tanaman kopi bervariasi meskipun teknik kultur jaringan yang digunakan sama.

KONDISI SUMBER EKSPLAN

Faktor yang paling menentukan pertumbuhan dan kualitas tanaman yang akan diregenerasikan adalah eksplan awal. Eksplan adalah bagian tanaman atau organ yang digunakan sebagai bahan dasar inisiasi kultur (Khumaida & Efendi, 2011). Sumber eksplan, umur dan perlakuan terhadap eksplan sebelum dikulturkan perlu diperhatikan dalam pengambilan eksplan. Kondisi eksplan juga mempengaruhi keberhasilan embriogenesis somatik kopi. Walaupun jenis eksplan yang digunakan sudah diketahui adalah daun, namun ukuran, umur dan fase fisiologis jaringan daun yang digunakan sebagai eksplan akan mempengaruhi keberhasilan embriogenesis somatik kopi.

Umur eksplan sangat berpengaruh terhadap kemampuan eksplan untuk tumbuh dan beregenerasi. Umumnya eksplan yang berasal dari jaringan tanaman yang masih muda (juvenil) lebih mudah tumbuh dan beregenerasi dibandingkan dengan jaringan yang telah terdiferensiasi lanjut. Jaringan muda umumnya memiliki sel-sel yang aktif membelah dengan dinding sel yang belum kompleks sehingga lebih mudah di kultur dibandingkan jaringan tua. Oleh karena itu, inisiasi kultur kopi melalui embriogenesis somatik biasanya dilakukan dengan menggunakan daun muda yang sudah membuka sempurna (Gambar 1).

Disamping umur eksplan, ukuran potongan daun yang digunakan sebagai eksplan juga

mempengaruhi keberhasilan embriogenesis somatik kopi. Potongan daun yang terlalu kecil akan mengurangi kemampuan untuk membentuk kalus/embrio somatik.



Gambar 1. Keragaan daun muda tanaman kopi (dalam lingkaran merah) yang digunakan untuk sumber eksplan dalam embriogenesis somatik.

(Koleksi Meynarti Sari Dewi Ibrahim)

PENGAMBILAN DAN STERILISASI EKSPLAN

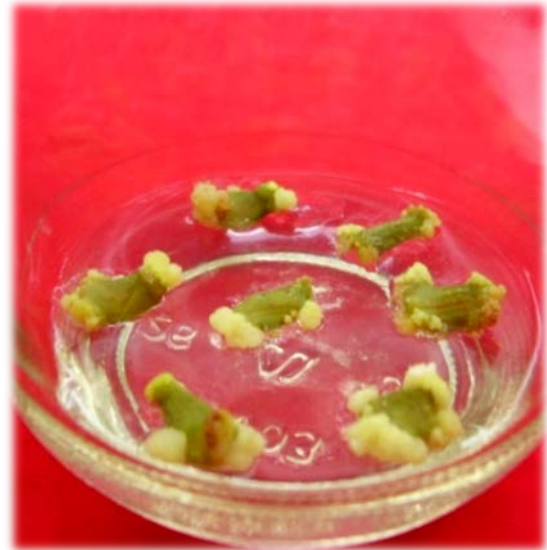
Pengambilan Eksplan

Eksplan diambil dari pohon induk kopi yang telah ditentukan genotipenya. Daun muda (flush) diambil dengan cara menggunting tangkai daun. Daun yang dipilih adalah daun yang tidak menunjukkan gejala serangan hama dan penyakit. Daun dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label. Apabila pengambilan eksplan jauh dari laboratorium kultur jaringan, eksplan sebaiknya dibawa menggunakan termos es untuk menjaga kesegaran eksplan. Setelah sampai di laboratorium, jika tidak langsung dipakai eksplan disimpan dalam suhu 5 - 10 °C. Daun yang disimpan pada kondisi tersebut mampu bertahan selama $\pm$ 5 hari. Ketika hendak digunakan, daun sebaiknya dibiarkan pada suhu ruang.

Sterilisasi Eksplan

Kontaminasi merupakan permasalahan mendasar yang sering terjadi pada kultur *in vitro*. Salah satu penyebab kontaminasi adalah

eksplan yang kurang steril. Kontaminasi eksplan dapat terjadi karena faktor eksternal maupun internal. Kontaminasi eksternal atau kontaminasi permukaan biasanya disebabkan oleh mikroorganisme yang berasal dari luar/ yang menempel di eksplan. Respon kontaminasi eksternal ini sangat cepat karena mikroorganismenya berada pada permukaan eksplan. Kontaminasi internal disebabkan oleh mikroorganisme yang berasal dari dalam eksplan, yang tumbuh dan berkembang secara bertahap dalam kondisi *in vitro*. Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme internal biasanya muncul beberapa minggu/bulan setelah dikulturkan.



Gambar 2. Keragaan potongan daun kopi dalam media induksi kalus kopi

(Koleksi Meynarti Sari Dewi Ibrahim)

Meminimalkan jumlah kontaminasi eksplan kopi dapat dilakukan dengan proses sterilisasi eksplan yang baik. Sterilisasi eksplan kopi dilakukan secara bertahap. Daun yang telah dipetik dibersihkan dengan air mengalir, direndam dalam fungisida yang berbahan aktif mankozeb 80% dan bakterisida dengan konsentrasi 0,2% selama 1 jam, lalu dibilas sampai bersih. Sterilisasi eksplan lanjutan dilakukan di dalam *laminar air flow*. Daun direndam dalam alkohol 70% selama 3 menit atau alkohol 50% selama 10 menit, dilanjutkan dengan sodium hipoklorit 10% selama 15 menit. Terakhir daun dibilas 3 kali

menggunakan *aquadest* steril. Daun yang telah steril dipotong-potong di atas petridist steril dengan ukuran $\pm 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$. Potongan daun kemudian dikulturkan pada media induksi kalus (Ibrahim, *et al.*, 2013a ; Ibrahim, *et al.*, 2013b ; Ibrahim, *et al.*, 2013c). Gambar 2 menunjukkan keragaan potongan daun kopi dalam media induksi kalus.

KOMPOSISI MEDIA TUMBUH

Selain sumber eksplan penggunaan metode embriogenesis somatik sangat tergantung pada media yang digunakan. Media tumbuh berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang akan dihasilkan. Pemilihan media yang akan digunakan dalam kultur *in vitro* sangat tergantung pada jenis tanaman yang dikulturkan, dan bentuk pertumbuhan dari deferensiasi yang diinginkan (Pierik, 1987). Berdasarkan hal tersebut maka media untuk menginduksi embriogenesis kopi harus menyediakan unsur - unsur hara yang diperlukan tanaman seperti yang dibutuhkan tanaman di lapangan. Media dasar yang sering digunakan dalam embriogenesis kopi adalah media MS yang telah dimodifikasi.

Media kultur telah dikomposisikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikulturkan. Unsur-unsur hara yang dibutuhkan dalam embriogenesis somatik kopi antara lain adalah unsur hara makro, unsur hara mikro, vitamin, zat pengatur tumbuh tanaman, sukrosa dan bahan padat.

Unsur Hara Makro

Unsur hara makro adalah unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang banyak. Unsur hara makro terdiri dari enam unsur utama yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dan jaringan tanaman, yaitu: nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg) dan sulfur (S). Unsur nitrogen (N) dalam media kultur diberikan dalam bentuk NH_4NO_3 dan KNO_3 , fosfor (P) diberikan dalam bentuk KH_2PO_4 , kalium (K) diberikan dalam bentuk $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kalsium

(Ca) diberikan dalam bentuk $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, sulfur (S) dalam bentuk $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dan magnesium (Mg) diberikan dalam bentuk $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Gunawan 1992, ; Wattimena *et al.*, 1992; George *et al.*, 2008).

Unsur Hara Mikro

Unsur hara mikro adalah unsur hara yang dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit. Unsur hara mikro ini merupakan komponen sel tanaman yang penting dalam proses metabolisme dan proses fisiologis lainnya (Gunawan, 1992). Senyawa kimia yang termasuk kedalam unsur hara mikro adalah : klor (Cl) diberikan dalam bentuk KI, mangan (Mn) diberikan dalam bentuk $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, tembaga (Cu) diberikan dalam bentuk $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, kobal (Co) diberikan dalam bentuk $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, molibdenum (Mo) diberikan dalam bentuk $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, seng (Zn) diberikan dalam bentuk $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dan boron (B) diberikan dalam bentuk H_3BO_3 (Gunawan, 1992 ; Wattimena *et al.*, 1992; George *et al.*, 2008).

Besi (Fe) diberikan dalam bentuk $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ atau $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Berfungsi sebagai penyangga (*chelatin agent*), dan diperlukan untuk menyangga kestabilan pH media. Hal ini sangat berguna dalam proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Pada tahap planlet, Fe berfungsi untuk membantu pembentukan hijau daun (Gunawan, 1992 ; Wattimena *et al.*, 1992; George *et al.*, 2008).

Vitamin

Vitamin yang paling sering digunakan dalam media embriogenesis somatik kopi adalah *thiamine* (vitamin B1), *nicotinic acid* (niacin), *pyridoxine* (vitamin B6). *Thiamine* merupakan vitamin yang esensial dalam embriogenesis somatik kopi karena dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel. Vitamin C, seperti asam sitrat dan asam askorbat, kadang-kadang digunakan sebagai antioksidan untuk mencegah atau mengurangi pencoklatan atau penghitaman eksplan (Gunawan, 1992 ; Wattimena *et al.*, 1992; George *et al.*, 2008).

Mio-Inositol atau meso-insitol digunakan sebagai salah satu komponen media yang penting, karena bersinergi dengan zat pengatur tumbuh dalam merangsang pertumbuhan jaringan yang dikulturkan. Meskipun vitamin-vitamin tersebut bukan merupakan faktor pembatas pertumbuhan, tetapi sering memberikan keberhasilan dalam kultur sel dan jaringan tanaman kopi.

Penambahan konsentrasi vitamin mio-inositol dilakukan apabila pertumbuhan dan perkembangan embrio kopi masih rendah. Selain mio-inositol vitamin yang sering ditambah konsentrasinya dalam proses embriogenesis somatik adalah thiamin. Thiamin akan ditambah konsentrasinya jika jumlah populasi sel-sel yang tumbuh masih rendah.

Sukrosa sebagai Sumber karbohidrat

Sukrosa digunakan sebagai sumber energi dalam media kultur, karena umumnya bagian tanaman atau eksplan yang dikulturkan tidak autotrof dan mempunyai laju fotosintesis yang rendah. Hal ini menyebabkan tanaman kultur *in vitro* termasuk embrio somatik kopi membutuhkan karbohidrat yang cukup sebagai sumber energi. Menurut Gautheret dalam Gunawan (1992), sukrosa adalah sumber karbohidrat penghasil energi yang terbaik melebihi glukosa, maltosa, rafinosa. Selain sebagai sumber energi, sukrosa juga berfungsi menjaga tekanan osmotik media.

Sumber karbohidrat yang biasanya digunakan dalam media embriogenesis somatik kopi adalah sukrosa. Namun jika tidak terdapat sukrosa, dapat digantikan dengan gula pasir (Hapsari *et al.*, 2011). Walaupun hasilnya tidak selalu sama baiknya dengan sukrosa, gula pasir cukup memenuhi syarat untuk mendukung pertumbuhan kultur. Konsentrasi sukrosa yang ditambahkan dalam media kultur untuk embriogenesis somatik kopi berkisar 3 dan 4% (Ibrahim, 2015).

Asam Amino dan Sumber Nitrogen Lainnya

Asam amino ditambahkan pada media kultur untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan kultur. Pada media

embriogenesis somatik kopi, asam amino merupakan sumber nitrogen organik. Penambahan asam amino dalam media embriogenesis somatik kopi bisa satu atau beberapa jenis. Sumber nitrogen organik yang paling banyak digunakan dalam media embriogenesis somatik kopi adalah *casein hidrolisat*. *Casein hidrolisat* mengandung beberapa jenis asam amino, digunakan pada konsentrasi 0,2-0,4% (Ibrahim, 2015). Adenin sulfat juga sering ditambahkan pada media embriogenesis somatik kopi, fungsinya untuk menstimulir pertumbuhan sel dan meningkatkan pembentukan tunas.

Bahan Antioksidan atau Penghambat Polifenol

Browning (pencoklatan) adalah suatu keadaan munculnya warna coklat atau hitam yang menyebabkan tidak terjadinya pertumbuhan dan perkembangan atau bahkan menyebabkan kematian pada eksplan. Pencoklatan eksplan umumnya terjadi pada tanaman tahunan yang mengandung fenol seperti kopi. Menurut George dan Sherrington (1984) ada beberapa cara untuk menanggulangi masalah pencoklatan, yaitu : menghilangkan senyawa fenol, modifikasi potensial redoks, penghambatan aktivasi enzim fenol oksidase, penurunan aktivitas fenolase dan ketersediaan substrat.

Meminimalisasi senyawa fenol dapat dilakukan dengan cara mentransfer eksplan ke media baru, atau mengurangi akumulasi peroksidase dengan penambahan *Poliphenil Poliphirolidone* (PVPP) (Hutami, 2008). Penambahan PVPP dalam embriogenesis somatik kopi diperlukan untuk menghambat pengeluaran phenol. Disamping PVPP arang aktif (*activated charcoal*) juga dapat digunakan. Beberapa hasil penelitian menunjukkan pengaruh yang menguntungkan dan dapat merugikan dari pengaruh PVPP dan arang aktif. Pengaruh PVPP dan arang aktif umumnya diarahkan pada salah satu dari tiga hal yaitu; penyerapan senyawa-senyawa penghambat, penyerapan zat pengatur tumbuh atau menggelapkan warna media.

Bahan Pekat dan Penyangga Biakan

Pada embriogenesis somatik kopi Arabika dikenal tiga jenis media yaitu media padat, semi padat dan cair. Media padat dan semi padat membutuhkan bahan pekat seperti agar, phytigel, gelrite yang ditambahkan ke dalam media agar. Penambahan bahan pekat berupa agar mempunyai beberapa keuntungan, yaitu ; agar meleleh pada suhu 60-100 °C dan memadat pada suhu 45°C, kekerasan media bersifat stabil pada suhu inkubasi, agar tidak bereaksi dengan komponen dalam media, dan tidak dicerna oleh enzim tanaman.

Media kultur jaringan untuk menginduksi kalus embriogenik kopi umumnya dibuat dalam bentuk padat, sementara pematangan embrio, perkecambahan dan pendewasaan planlet dapat dilakukan pada media semi padat dan cair.

Kualitas fisik agar dalam media kultur tergantung pada konsentrasi dan merek agar yang digunakan (Priadi *et al.*, 2008) serta pH media. Pada embriogenesis somatik kopi jenis agar yang digunakan antara lain : agar, bacto agar, gellan gum, phytigel dan gelrite (Etienne, 2005; Samson *et al.*, 2006; Rezende *et al.*, 2012). Agar yang mengandung garam-garam Ca, Mg, K dan Na dapat mempengaruhi ketersediaan hara dalam media. Kemurnian agar yang digunakan dalam media embriogenesis somatik kopi juga merupakan faktor yang penting, terutama untuk tujuan penelitian.

ZAT PENGATUR TUMBUH

Terdapat empat golongan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang penting dalam kultur jaringan tanaman, yaitu: auksin, sitokinin, giberelin dan asam absisik. Pada embriogenesis somatik kopi ZPT yang berperan penting adalah dari golongan auksin dan sitokinin. Perbandingan auksin dan sitokinin menentukan seberapa besar proses embriogenesis somatik dalam kultur jaringan tanaman. Auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media kultur mempunyai tujuan untuk mendapatkan morfogenesis dari eksplan yang dikulturkan sampai terbentuk planlet.

Kalus embriogenik umumnya didapatkan pada media yang mengandung auksin yang

mempunyai daya aktivitas kuat atau dengan konsentrasi tinggi. Auksin sering pula diberikan secara bersamaan dengan sitokinin. Beberapa peneliti telah mengkombinasikan zat pengatur tumbuh dalam menginduksi kalus embriogenik dan perkembangan embrio somatik kopi (Etienne, 2005; Samson *et al.*, 2006 ; Ahmed *et al.*, 2013)

Sitokinin ditambahkan dalam media kultur umumnya ditujukan untuk menstimulasi pembelahan sel, menginduksi pembentukan tunas dan proliferasi tunas aksiler, dan menghambat pembentukan akar. Mekanisme kerja sitokinin secara pasti belum diketahui, akan tetapi beberapa senyawa yang mempunyai aktivitas mirip sitokinin telah diketahui terlibat dalam transfer-RNA (t-RNA). Sitokinin juga dapat mengaktivasi sintesa RNA dan menstimulasi aktivitas protein dan enzim pada jaringan tertentu. Pada embriogenesis somatik kopi, sitokinin ditambahkan dalam media kultur pada saat awal eksplan dikulturkan sampai terbentuk planlet.

Jenis dan konsentrasi sitokinin yang ditambahkan dalam media embriogenesis somatik kopi berbeda-beda tergantung kebutuhan kultur. Pada media induksi kalus kopi ditambahkan 2-iP (9,86 - 24,65 µM tergantung genotipe) yang dikombinasikan dengan 2,4-D (4,52 µM). Kinetin (9,30 µM) ditambahkan pada media regenerasi, sementara pada media perkecambahan ditambahkan BAP (1,33 µM) (Ibrahim, 2015).

LINGKUNGAN TUMBUH KULTUR

Lingkungan tumbuh kultur yang juga harus diperhatikan jika melakukan perbanyakan tanaman kopi melalui embriogenesis somatik. Tahapan utama perkembangan embriogenesis somatik kopi adalah induksi kalus embriogenik, pematangan embrio, perkecambahan, pendewasaan planlet, dan aklimatisasi memerlukan kondisi lingkungan yang berbeda-beda.

Suhu, cahaya, dan oksigen adalah faktor lingkungan yang turut berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur terutama dalam embriogenesis somatik.

Diantara ketiga faktor tersebut suhu dan cahaya paling menentukan perkembangan embrio. Suhu sangat menentukan respon fisiologis kultur dan kecepatan pertumbuhan (Gunawan, 1992). Cahaya berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman karena diperlukan dalam proses fotosintesis planlet, pengendali, pemicu dan modulator respons morfologi khususnya dalam tahap awal pertumbuhan (McNellis & Deng, 1995; Khumaida & Efendi 2011). Menurut Pierik (1987) kondisi kultur terutama pada embrio kadang lebih tinggi dari pada konsentrasi oksigen di atmosfer.

Tanaman kopi umumnya tumbuh pada lingkungan dengan suhu yang tidak sama setiap saat. Ada perbedaan suhu antara siang dan malam hari yang dialami tanaman kopi dengan perbedaan suhu yang cukup besar. Keadaan demikian terkadang sulit bisa dilakukan dalam kultur *in vitro*. Akan tetapi penelitian embriogenesis somatik kopi yang dilakukan di laboratorium Unit Pengembangan Benih Unggul Pertanian, Badan Litbang Pertanian selama ini mengatur suhu ruang kultur yang konstant yaitu 25°C (kisaran suhu 17-32°C) pada siang maupun malam hari berhasil dengan baik.

Sumber cahaya pada ruang kultur ini umumnya lampu fluorescent (TL), karena lampu TL menghasilkan cahaya warna putih, dan sinar lampu TL tidak meningkatkan suhu ruang kultur secara drastis. Intensitas cahaya yang digunakan pada ruang kultur umumnya jauh lebih rendah (1/10) dari intensitas cahaya yang dibutuhkan tanaman dalam keadaan normal. Pada embriogenesis somatik kopi pencahayaan harus disesuaikan dengan kebutuhan eksplan. Untuk induksi kalus embriogenik, pematangan embrio dan perkecambahan kondisi ruang kultur yang gelap sangat dibutuhkan, sementara untuk pendewasaan planlet kopi diperlukan cahaya dalam ruang kultur dengan intensitas cahaya 1000 – 1500 lux.

Selain intensitas cahaya, lama penyinaran atau fotoperiodisitas juga mempengaruhi pertumbuhan embriogenesis somatik kopi. Lama penyinaran umumnya diatur sesuai

kebutuhan tanaman kopi pada kondisi alamiahnya. Periode terang dan gelap umumnya diatur pada kisaran 8-16 jam terang dan 16-8 jam gelap tergantung tahapan embrio yang dikulturkan. Periode siang/malam (terang/gelap) ini diatur secara otomatis menggunakan timer yang ditempatkan pada saklar lampu di ruang kultur, sehingga penyinaran dapat diatur konstan sesuai kebutuhan tanaman.



Gambar 3. Keragaan planlet kopi hasil embriogenesis somatik.
(Koleksi Meynarti Sari Dewi Ibrahim).

AKLIMATISASI

Aklimatisasi adalah masa adaptasi tanaman hasil kultur jaringan yang semula kondisinya terkendali menjadi lingkungan yang tidak terkendali (mengubah pola hidupnya dari tanaman *heterotrof* ke tanaman *ototrof*). Tujuan dari aklimatisasi adalah untuk mengkondisikan tanaman agar tidak terjadi stress pada waktu ditanam di rumah kaca. Kriteria planlet kopi yang siap untuk diaklimatisasi adalah : organ akar, batang dan daun sudah terbentuk sempurna, batang terlihat kokoh dengan warna batang hijau tua, ukuran tinggi planlet 3 - 4 cm (Gambar 3).

Aklimatisasi merupakan masa kritis bagi planlet kopi. Hal ini dikarenakan planlet kopi

umumnya mempunyai lapisan lilin yang belum berkembang dengan baik, sel-sel palisade daun hanya terbentuk dalam jumlah yang sedikit, jaringan pembuluh dari akar ke pucuk kurang berkembang, stomata seringkali kurang berfungsi karena belum mampu menutup dengan baik pada saat penguapan tinggi.

Berbeda dengan proses kultur jaringan yang dilakukan di dalam laboratorium, proses aklimatisasi planlet kopi dilakukan di rumah kaca. Pada tahap aklimatisasi pengaturan kelembaban dan pencahayaan diperlukan untuk meningkatkan persentase keberhasilan aklimatisasi.

Planlet yang memenuhi kriteria untuk diaklimatisasi dikeluarkan dari botol kultur. Akar dicuci dengan air kemudian direndam larutan fungisida (Benlate 0,2%) selama ± 5 menit. Planlet ditanam dalam pot plastik yang berisi campuran tanah, pupuk kandang dan pasir dengan perbandingan 1:1:1. Untuk menjaga suhu dan kelembaban, planlet kemudian disungkup botol kaca selama ± 4 minggu. Setelah 4 minggu, sungkup dibuka tutup untuk proses adaptasi tanaman (Gambar 4). Proses buka tutup ini dilakukan sampai tanaman tumbuh dan tidak menunjukkan gejala layu.



Gambar 4. Keragaan tanaman kopi arabika setelah sungkup dibuka.
(Koleksi Meynarti Sari Dewi Ibrahim).

Tiga bulan setelah aklimatisasi, tanaman dipindahkan ke dalam polibag yang lebih besar. Bibit tanaman kopi hasil embrio somatik dinyatakan siap untuk ditanam ke lapangan apabila tinggi tanaman telah mencapai 20 cm, diameter batang ± 5 mm dan daun sebaiknya lebih dari 3 pasang (Gambar 5).



Gambar 5. Bibit kopi hasil embriogenesis somatik siap untuk dipindah ke lapangan.

(Koleksi Meynarti Sari Dewi Ibrahim).

PENUTUP

Perbanyakan klonal kopi dapat dilakukan dengan menggunakan tehnik kultur jaringan. Kultur jaringan kopi dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik. Perbanyakan menggunakan jalur embriogenesis somatik lebih menguntungkan dibandingkan dengan organogenesis. Faktor keberhasilan embriogenesis somatik ditentukan oleh pemilihan genotipe tanaman, kondisi sumber eksplan, pengambilan dan sterilisasi eksplan, komposisi media tumbuh yang digunakan, lingkungan tumbuh kultur dan aklimatisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed W. Feyissa T & Disasa T. 2013. Somatic embryogenesis of a coffee (*Coffea arabica* L.) hybrid using leaf explants. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 88 (4) :469-475.
- Arimarsetiowati R. 2013. Seleksi pohon induk kopi arabika untuk sumber eksplan perbanyakan somatic embryogenesis (SE). *Warta Pusat Penelitian Kopi Dan Kakao Indonesia*. 25(1):1-4.
- Ehsanpour A.A. 2002. Induction of somatic embryogenesis from endosperm of oak (*Quercus castanifolia*). In A. Taji & R. Williams (ed.) *The importance of plant tissue culture and biotechnology in plant sciences*. Univ. of New England Unit, Australia. pp 273-277.
- Etienne H. 2005. Somatic Embryogenesis Protocol: Coffee (*Coffea arabica* L. and *Canephora* P.) In Jain SM, Gupta PK. (eds). 2005. *Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants*. Springer. Printed in the Netherlands. pp 167 - 179.
- George E. F. Hall M. A & De Klerk G. J. 2008. The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro-and Micro_Nutrients pp: 65-113 In. George EF, Hall MA, De Klerk GJ (Eds). *Plant Propagation by Tissue Culture: The Background*. Vol: 1.3rd. Netherlands (NL).Edition Spriger.
- George E. F. & Sherington P. D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd. England.709 P.
- Gunawan L. W. 1992. *Teknik Kultur jaringan Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman*. PAU. Bioteknologi Tanaman. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 162 hal.
- Hapsari B. W., Ermayanti T. M., Rantau D. E. & Rudiyanto 2011. Comparison of the reduction effect of sucrose and table sugar concentration on growth characteristics of red ginger (*Zingiber officinale* Rocs.) Cultured in Liquid Medium. *Annales Bogorienses*. 15 (1) : 15-20.
- Hutami S. 2008. Ulasan, masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *Jurnal Agrobiogen*. 4 (2). 83-88.
- Ibrahim M. S. D. 2015. *Pengembangan Metode Embriogenesis Somatik, Peningkatan Keragaman Genetik Kopi Arabika dan Deteksi Dini Keragaman Somaklonal Menggunakan SSR* [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.
- Ibrahim M. S. D., Hartati R. S., Rubiyo, Purwito A.& 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. No.1.
- Ibrahim M. S. D., Hartati R. S., Rubiyo, Purwito A., & Sudarsono 2013b. Direct and indirect somatic embryogenesis on arabica coffee (*Coffea arabica*). *Indonesian Journal of Agricultural Science*. 14 (2) :79-86.
- Ibrahim M. S. D., Sudarsono, Rubiyo, & Syafaruddin. 2013c. Pengaruh komposisi media terhadap pembentukan kalus menuju induksi embrio somatik kopi arabika (*Coffea arabica*). *Buletin Ristri*. 4 (2):91-98.
- Khumaida N, & D. Efendi. 2011. Teknik Kultur Jaringan dalam Perbaikan tanaman. In. Wattimena G.A., A.M. Nurhajati, N.M.A.Wiendi, A. Purwito, D. Efendi, B.S. Purwoko, N. Khumaida. 2011. *Bioteknologi dalam Pemuliaan Tanaman*. IPB Press. Bogor.264 P.
- McNellis T. & Deng X-W. 1995. Light control of seedling morphogenic pattern. *The Plant Cell* 7:1749-1761.
- Pierik L. L. M. 1987. *In vitro Cultures of Hinger Plant*. Martinus-Nijhoff Publ.Dordrecht. Netherlands. 344 P.
- Priadi D., Fitriani H., & Sudarmonowati E. 2008. Pertumbuhan *in vitro* tunas ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) pada berbagai bahan pematat alternatif pengganti agar. *Biodiversitas*. 9 (1) : 9-12.

- Rezende J. C., Carvalho C H S., Santos A. C. R., Pasqual M., & Teixeira J. B. 2012. Multiplication of embryogenic calli in *Coffea arabica* L. *Acta Scientiarum*. 34 (1) : 93-98.
- Samson N.P., Campa C., Le Gal L., Noirot M., Thomas G., Lokeswari T.S., & Kochko A. 2006. Effect of primary culture medium composition on high frequency somatic embryogenesis in different *Coffea* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 86:37–45.
- Von Arnold S, Sabala I., Bozhkov P., Dyachok J., & Filonova L. 2002. Developmental pathways of somatic embryogenesis. *Plant cell, Tissue and Organ culture*. 69: 233-249.
- Wattimena G. A., Gunawan L. W., Mattjik N. A., Syamsudin E., Wiendi N. M. A., & Ernawati A. 1992. *Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor (ID). IPB. 309 hlm.