



Pengaruh Formulasi Zpt Kinetin Terhadap Regenerasi Embrio Somatik Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner)

The Effect Of Kinetin Pgr Formulation On Somatic Embryon Regeneration Of Robusta Coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner)

Author(s): Sepdian Luri Asmono, Rial Araby, Setyo Andi Nugroho, Rizky Nirmala Kusumaningtyas*

Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember

* Corresponding author: rialaraby2001@gmail.com

ABSTRAK

Kopi robusta merupakan salah satu jenis kopi yang memiliki nilai strategis dalam rangka memberdayakan ekonomi rakyat. Dalam meningkatkan hasil kopi secara signifikan, perlu dilakukan perbanyak tanaman untuk ketersediaan bibit kopi robusta yang berkualitas dari klon-klon unggul guna menunjang produktivitas yang tinggi. Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan merupakan salah satu alternatif untuk melakukan perbanyak tanaman kopi dengan jumlah yang banyak. Penggunaan ZPT golongan sitokinin memberikan pengaruh pada muncul globular, jumlah fase embrio globular, berat kelompok embrio dan kalus, persentase perkembangan embrio globular salah satunya menggunakan kinetin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ZPT kinetin terhadap perkembangan embrio somatik kopi robusta. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial (1 faktor). Penelitian di lakukan di laboratorium kultur jaringan tanaman politeknik negeri jember pada bulan november 2023 sampai maret 2024 .bahan tanam yang digunakan adalah kalus embriogenik. Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan yaitu: 0 ppm kinetin, 2 ppm kinetin, 4 ppm kinetin, 6 ppm kinetin. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa formulasi 4 ppm kinetin menjadi konsentrasi terbaik diantara perlakuan lain nya terbukti mampu mempercepat waktu pembentukan embrio globular serta menghasilkan berat akhir kalus. Namun, penggunaan kinetin masih belum optimal pada parameter saat terbentuk torpedo dan kotiledon dikarenakan ZPT kinetin hanya untuk mendukung tahap awal, seperti inisisasi dan pembentukan kalus.

Kata Kunci:

Kopi Robusta;
Kultur
Jaringan;
Kinetin;
Embrio
Somatik

Keywords:

Robusta Coffee;
Tissue Culture;
Kinetin;
Somatic;
Embryo

ABSTRACT

Robusta coffee is one of the coffee varieties that holds strategic value in empowering the people's economy. To significantly increase coffee yield, it is necessary to propagate the plants in order to ensure the availability of high-quality Robusta coffee seedlings from superior clones to support high productivity. Plant propagation through tissue culture is one alternative to mass-produce coffee plants. The use of cytokinin PGR (Plant Growth Regulator) has an effect on the appearance of globular structures, the number of globular embryo stages, the weight of embryo groups and callus, and the percentage of globular embryo development—one of the cytokinins used being kinetin. The aim of this study is to determine the effect of kinetin PGR on the development of somatic embryos in Robusta coffee. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with a non-factorial (single-factor) approach. The study was conducted in the Plant Tissue Culture Laboratory of Jember State Polytechnic from November 2023 to March 2024. The planting material used was embryogenic callus. The study involved 4 treatments: 0 ppm kinetin, 2 ppm kinetin, 4 ppm kinetin, and 6 ppm kinetin. Based on the results, the 4 ppm kinetin formulation was found to be the most effective among the treatments, as it accelerated the formation of globular embryos and increased the final callus weight. However, the use of kinetin was still not optimal



PENDAHULUAN

Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) adalah salah satu jenis kopi yang memiliki nilai strategis dalam rangka memberdayakan ekonomi rakyat. Sebagian besar produksi dan ekspor kopi Indonesia didominasi oleh jenis kopi ini, dengan jumlah tanaman yang dibudidayakan mencapai 90% (Ibrahim & Hartati, 2017). Berdasarkan laporan dari Indonesia berada di peringkat keempat dalam produksi kopi didunia, Brazil, Vietnam, dan Kolombia. Dalam perdagangan kopi global, terdapat dua varietas utama, yaitu kopi arabika dan kopi robusta.

Kopi robusta bersifat self-incompatible, yaitu tidak dapat melakukan penyerbukan sendiri yang menghasilkan biji secara efektif. Oleh karena itu, permintaan akan benih kopi robusta klon unggul terus meningkat. Sebagai alternatif yang lebih cepat dan efisien, teknik kultur jaringan khususnya regenerasi melalui embriogenesis somatik dapat digunakan. Teknik ini memungkinkan produksi bibit kopi yang seragam, identik dengan induknya dan dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat (Hapsoro & Yusnita, 2018). Salah satu tantangan utama dalam kultur jaringan kopi adalah keberhasilan tahap awal, yaitu sterilisasi eksplan dan pembentukan kalus. Menurut Asmono et al. (2024), sterilisasi yang tidak optimal dapat menyebabkan browning atau kematian jaringan, yang menghambat pembentukan kalus. Selain itu, formulasi media dasar seperti MS ½ konsentrasi

terbukti lebih efektif untuk induksi kalus kopi robusta dibandingkan MS full, karena mampu menurunkan stres fisiologis eksplan dan menghasilkan kalus dengan tekstur remah dan warna viabel seperti putih kekuningan. Untuk mengoptimalkan perkembangan regenerasi embrio somatik, salah satu faktor keberhasilan adalah formulasi ZPT yang digunakan. Kinetin dianggap sebagai sitokin yang paling efektif dalam merangsang pertumbuhan tunas pada tanaman kehutanan (Putriana et al., 2019). Dengan demikian, di perlukan suatu kegiatan penelitian dengan topik Pengaruh Formulasi ZPT Kinetin Terhadap Regenerasi Embrio Somatik Kopi Robusta.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Politeknik Negeri Jember pada bulan November 2023 hingga Maret 2024. Alat dan bahan yang digunakan autoklaf, LAF (Laminar Air Flow), oven, timbangan analitik, gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, pipet volume, pipet tetes, spatula, pH meter, hot plate dengan magnetic stirrer, botol kultur, batang pengaduk, cawan petri, pinset, scapel, gunting, panci, kompor, kalus embrio genik, Media Murashige Skoog (MS) instan, agar-agar bubuk, ZPT Kinetin, gula, alkohol 70%, alkohol 96%, aquades. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola non faktorial (1 faktor) dengan menggunakan 4 perlakuan dan setiap perlakuan terdiri dari 5 ulangan.



Perlakuan konsentrasi ZPT kinetin yang terdiri dari K1 = 0 ppm, K2 = 2 ppm, K3 = 4 ppm, K4 = 6 ppm. Parameter pengamatan waktu terbentuk Globular dilakukan secara visual setiap satu minggu sekali dimulai dari awal sampai akhir pengamatan 120 hari setelah tanam dengan satuan hari setelah tanam (HST). Pengamatan berat kelompok kalus dan embrio, persentase perkembangan proembrio menjadi globular, jumlah embrio globular dilakukan diakhir pengamatan 120 HST.

Data hasil pengamatan, dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Apabila hasil sidik ragam menunjukkan hasil yang berbeda nyata maka akan dilakukan pengujian lebih lanjut. Uji lanjut yang

digunakan adalah uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama 120 hari setelah tanam dengan mengamati saat muncul globular, jumlah fase embrio globular, berat kelompok embrio dan kalus, persentase perkembangan embrio globular. Maka didapatkan beberapa respon yang terlihat pada kalus kopi robusta terhadap beberapa formulasi perlakuan yang diberikan. Hasil data pengamatan tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji RAL Non Faktorial Pada Umur 120 HST

No	Parameter pengamatan	F– Hitung	F Tabel	
			5%	1%
1	Waktu Muncul Globular	4,32 (*)		
2	Jumlah Fase Embrio Globular	5,34 (**)		
3	Berat Kelompok Embrio Dan Kalus	3,50 (*)	3,24	5,29
4	Persentase Perkembangan Embrio Globular	-		

Keterangan

** = Berpengaruh sangat nyata 5%

* = Berpengaruh nyata 5%

Persentase perkembangan embrio globular tidak dilakukan perhitungan anova

Pada tabel 1. dapat di lihat bahwa penggunaan beberapa formulasi kinetin terhadap regenerasi embrio somatik kopi robusta berpengaruh nyata pada waktu muncul globular, berat kelompok embrio dan kalus. Berpengaruh sangat nyata pada jumlah fase embrio globular. Waktu Terbentuk Globular

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter waktu muncul globular, setelah dilakukan analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan

pemberian Kinetin berpengaruh nyata terhadap parameter waktu muncul globular. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5% terhadap parameter waktu muncul kalus globular, diketahui bahwa perlakuan dengan berbagai formulasi konsentrasi kinetin memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kecepatan munculnya kalus ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu Muncul Globular



Perlakuan	Rata – Rata (HST)	Bnt 5%
K1 (0 ppm)	115,05b	
K2 (2 ppm)	120,00b	
K3 (4ppm)	70,95a	31,77
K4 (6ppm)	102,55ab	

Keterangan: angka – angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan hasil berbeda nyata berdasarkan hasil uji BNT taraf 5%

Perlakuan K3 pada formulasi (4 ppm) menunjukkan waktu muncul kalus tercepat dengan rata-rata 70,95 hari. Nilai ini berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan perlakuan K1 dengan formulasi terendah yaitu (0 ppm) dan K2 dengan formulasi (2 ppm) yang masing-masing membutuhkan waktu 115,05 hari dan 120,00 hari dengan dinyatakan dalam notasi (b).

Perlakuan K3 dengan formulasi (4 ppm kinetin) menghasilkan perlakuan paling efektif dalam mempercepat pertumbuhan kalus globular. Pada

formulasi ini didapatkan hasil yang mendukung keseimbangan hormonal, merangsang pembelahan sel secara efisien, dan mengaktifkan jalur metabolisme pertumbuhan tanpa menimbulkan stres atau toksitas. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan apabila jaringan eksplan kopi robusta di letakkan dalam media nutrisi yang memiliki kandungan zat pengatur tumbuh kinetin golongan sitokin, sel-sel somatik melakukan proses dediferensiasi sehingga memicu pertumbuhan kalus dan massa pro embrio (Samson et al., 2006).



Gambar 1. Waktu Tebentuk Kalus Globular (a) Perlakuan K3 Ulangan U3b (4 Ppm Kinetin) (b) Perlakuan K4 Ulangan U4c (6 Ppm Kinetin)

Tabel 3. Jumlah Fase Embrio Globular

Perlakuan	Rata – Rata (kalus/botol)	BNT 5%
K1 (0 ppm)	25,40a	
K2 (2 ppm)	24,80a	5,63



K3 (4ppm) 20,80a

K4 (6ppm) 31,33b

Keterangan: angka - angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan hasil berbeda nyata berdasarkan hasil uji BNT taraf 5%

Jumlah Embrio Globular

Parameter pengamatan terhadap jumlah embrio fase globular dilakukan untuk menunjukkan tingkat keberhasilan awal proses embriogenesis somatik pada eksplan yang diberi perlakuan. Embrio globular merupakan fase awal pembentukan embrio somatik yang ditandai dengan struktur bulat dan bernodul, hasil dari proses dediferensiasi dan pembelahan sel aktif dari kalus embriogenik (Sasmita et al., 2022). Embrio somatik pada fase globular berasal dari sel-sel kalus yang memiliki sifat embriogenik dan akan terus berkembang ke tahap selanjutnya hingga menjadi tanaman lengkap (Wahyudiningsih & Sumardi, 2016). Hasil analisis sidik ragam dan uji lanjutan BNT 5% yang di tunjukkan pada tabel 3. Yaitu perlakuan K4 dengan formulasi (6 ppm kinetin) memberikan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan perlakuan lain. Perlakuan ini

menghasilkan rata-rata embrio globular sebesar 31,33 kalus per botol dan di nyatakan dalam kelompok notasi yang berbeda (b). Parameter jumlah embrio fase globular mengindikasikan bahwa konsentrasi 6 ppm merupakan dosis yang paling efektif dalam merangsang pembentukan embrio globular secara signifikan dibandingkan dengan perlakuan lain.

Berat Basah Kalus Dan Embrio

Berat basah kalus dan embrio berkatian dengan luasan kalus. Semakin besar luasan kalus, maka semakin tinggi berat basah kalus dan embrio. Pada parameter pengamatan berat basah kalus didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa berpengaruh nyata sehingga dilakukan uji lanjut BNT 5%. Hasil pengamatan berat kelompok kalus dan embrio dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Berat Kelompok Kalus dan Embrio

Perlakuan	Rata - Rata (g)	BNT 5%
K1 (0 ppm)	0,36b	
K2 (2 ppm)	0,15ab	
K3 (4ppm)	0,85a	0,47
K4 (6ppm)	0,48a	

Keterangan: angka – angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan hasil berbeda nyata berdasarkan hasil uji BNT taraf 5%

Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5% terhadap parameter waktu muncul kalus globular, diketahui bahwa perlakuan dengan berbagai formulasi konsentrasi kinetin memberikan pengaruh yang

berbeda nyata terhadap kecepatan munculnya kalus ditunjukkan pada tabel 4.

Pengamatan berat kelompok embrio yaitu dengan menimbang kalus dan embrio di umur 120 HST. Berdasarkan hasil data



menunjukkan bahwa formulasi 4 ppm kinetin memiliki berat kelompok kalus dan embrio yang paling tinggi dengan nilai rata-rata sebesar 0,85 gr. Sedangkan pada perlakuan formulasi 2 ppm kinetin memiliki berat kelompok kalus dan embrio paling rendah dengan nilai rata-rata sebesar 0,15 gr. Sitorus & Hastuti, 2011 melaporkan bahwa penggunaan media MS (*Murashige and Skoog*) dengan konsentrasi sukrosa tertinggi, yaitu 40 g/L, mampu menghasilkan berat basah kalus *Basella rubra* L. yang paling tinggi serta mempercepat waktu inisiasi kalus.

Keberhasilan pembentukan kalus dalam penelitian ini tidak hanya ditentukan oleh perlakuan hormon, tetapi juga dipengaruhi oleh kualitas eksplan dan media kultur yang digunakan. Penelitian Asmono *et al.* (2022) menunjukkan bahwa eksplan daun kopi robusta yang disterilisasi dengan metode kombinasi fungisida, bakterisida, eritromisin, dan NaOCl menghasilkan eksplan bebas kontaminasi dan tanpa pencoklatan, serta mampu membentuk kalus sebesar 85% hanya dalam waktu 11 hari setelah inokulasi. Selain itu, temuan dari Asmono *et al.* (2024) juga menunjukkan bahwa

Tabel 5. Persentase Proembrio Menjadi Globular

Perlakuan	U 1	U 2	U 3	U 4	U 5	U	Rata-Rata (%)
K1	40	20	20	20	20	20	24
K2	20	40	20	20	20	20	24
K3	20	20	20	60	60	60	36
K4	60	80	60	60	60	20	56

Keterangan:

K1:0 Ppm Kinetin

K2:2 Ppm Kinetin

K3:4 Ppm Kinetin

K4:6 Ppm Kinetin

Perlakuan K4 dengan pemberian kinetin pada konsentrasi 6 ppm menghasilkan rata-rata tertinggi dalam perkembangan proembrio ke tahap globular, yaitu sebesar 56%. Hasil ini mengindikasikan bahwa pada konsentrasi

penggunaan media $\frac{1}{2}$ MS dengan tambahan 1 ppm kinetin menghasilkan kalus kopi robusta bertekstur remah, bernodul, dan berwarna putih kekuningan, yang menandakan viabilitas tinggi untuk diferensiasi lebih lanjut. Kedua hasil tersebut memperkuat bahwa keberhasilan pembentukan kalus tidak lepas dari kondisi eksplan steril dan media yang mendukung, serta efektivitas kinetin dalam merangsang pertumbuhan awal embrio somatik seperti yang ditunjukkan pada perlakuan 4 ppm dalam penelitian ini.

Persentase Proembrio Menjadi Globular

Pengamatan terhadap persentase perkembangan proembrio menjadi embrio globular bertujuan untuk mengevaluasi sejauh mana efektivitas zat pengatur tumbuh kinetin dalam mendukung jalannya proses embriogenesis somatik. Persentase perkembangan ini dihitung berdasarkan jumlah botol perlakuan di setiap ulangan yang berhasil berkembang dari proembrio menjadi bentuk globular. Persentase proembrio menjadidi globular disajikan pada tabel 5.

tersebut, kinetin sangat berperan dalam mendorong aktivitas pembelahan dan diferensiasi sel yang penting dalam embriogenesis somatik. Sebagai bagian dari kelompok sitokin, kinetin diketahui memiliki kemampuan untuk merangsang



pembentukan tunas serta mempercepat pembelahan sel. Pada dosis ini terjadi keseimbangan yang tepat antara aktivitas hormonal dan kondisi fisiologis eksplan yang mendukung terbentuknya struktur embrio. Berdasarkan penelitian (Pardede *et al.*, 2021) hanya sebagian sel dari eksplan yang bersifat totipoten dan mampu membentuk embrio secara penuh. Oleh karena itu, persentase embrio yang berkembang hingga tahap globular dapat digunakan sebagai indikator keberhasilan awal embriogenesis, dan menjadi dasar untuk mengevaluasi efektivitas perlakuan kultur jaringan yang digunakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa Penambahan formulasi ZPT kinetin 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm berpengaruh sangat nyata pada jumlah fase embrio globular. Berpengaruh nyata pada parameter waktu terbentuk globular, berat kelompok kalus dan embrio, persentase proembrio menjadi globular. Konsentrasi 4 ppm kinetin terbukti mampu mempercepat waktu pembentukan embrio globular serta menghasilkan berat akhir kalus embrio tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Asmono, S. L., Rahmawati, R., Husna, H., Sulala, A., Auliya, S., & Cahyono, E. H. (2024). *Pembentukan kalus pada eksplan daun kopi robusta dan arabika pada beberapa konsentrasi media MS (Murashige and Skoog)*. Prosiding Seminar dan Bimbingan Teknis Pertanian Politeknik Negeri

- Jember. Agropross. E-ISSN: 2964-0172.
- Asmono, S. L., Wardana, R., & Rahmawati. (2022). *Optimasi metode sterilisasi eksplan daun kopi Robusta BP 308 secara in vitro*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 980(1), 012001.
- Hapsoro, D., & Yusnita, Y. (2018). *Kultur Jaringan: Teori Dan Praktik*. Penerbit Andi.
- Ibrahim, M. S. D., & Hartati, R. S. (2017). Peningkatan Induksi Kalus Embriogenik Dan Konversi Embrio Somatik Kopi Robusta Klon BP 308. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*, 4(3), 121.
- Pardede, Y., Mursyanti, E., & Sidharta, B. R. (2021). Pengaruh Hormon Terhadap Induksi Embrio Somatik Kacapiring (*Gardenia Jasminoides*) Dan Potensi Aplikasinya Dalam Pembuatan Benih Sintetik. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 162–177.
- Putriana, P., Gusmiaty, G., Restu, M., Musriati, M., & Aida, N. (2019). Respon Kinetin Dan Tipe Eksplan Jabon Merah (*Antocephalus Macrophyllus* (Roxb.) Havil) Secara In Vitro. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 4(1), 48–57.
- Samson, N. P., Campa, C., Gal, L. Le, Noirot, M., Thomas, G., Lokeswari, T. S., & De 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.
- Sasmita, H. D., Dewanti, P., & Alfian, F. N. (2022). Somatic Embryogenesis Of



Dendrobium Lasianthera X
Dendrobium Antennatum With The
Addition Of BA And NAA. *Jurnal*
Agronomi Indonesia (Indonesian
Journal Of Agronomy), 50(2), 202–
208.

Sitorus, E. N., & Hastuti, E. D. (2011).
Induksi Kalus Binahong (*Basella*
Rubra L.) Secara In Vitro Pada Media
Murashige & Skoog Dengan
Konsentrasi Sukrosa Yang Berbeda.
Bioma: Berkala Ilmiah Biologi, 13(1),
1–7.

Wahyudiningsih, T. S., & Sumardi, I.
(2016). Struktur Dan Pengembangan
Embrio Somatik Eksplan Daun *Dyera*
Lowii Hook.F. Melalui Teknik In
Vitro. *Jurnal Hutan Tropika*, x(2), 39–
47.

