

PERBANYAKAN MIKRO KOPI ARABIKA MELALUI TEHNIK
INDUKSI TUNAS ADVENTIF SECARA LANGSUNG DAN
PENGANDAAN TUNAS AKSILAR 1)

MICROPROPAGATION OF ARABICA COFFEE BY MEANS OF
DIRECT INDUCTION OF ADVENTIVE SHOOT AND
AXILLARY SHOOT MULTIPLICATION

*Priyono dan I.Hartana*²⁾

ABSTRACT

The development program of Arabica coffee in Indonesia needs a large quantity of superior plant material. Recently the seed garden areas is insufficient to support this program. On the other hand the conventional vegetative propagation can not supply enough plant material. Therefore the use of in vitro propagation technique seems to be promising to solve the problem.

Micropropagation through direct induction of adventive shoot followed by multiplication of axillary shoot has been successfully done. The best result was obtained by using explant derived from sections of (whole) internode of orthotropic branch cultured on media containing 2.5 mg/l BAP. At the same concentration BAP also produced the best result in the multiplication of axillary shoot.

Elongated growth of adventive shoot was less than that of axillary shoot, the growth was inhibited by the addition of BAP at high concentration.

RINGKASAN

Program pengembangan kopi arabika di Indonesia memerlukan sejumlah besar bahan tanam yang bermutu unggul. Sampai sekarang kebun benih tidak dapat mencukupinya, dilain pihak tehnik pembiakan vegetatif tidak dapat menyediakan bahan tanam dalam jumlah besar. Pemanfaatan tehnik kultur jaringan diharapkan dapat mengatasinya.

1) Disampaikan pada Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer Untuk Industri PAU Bioteknologi IPB, Bogor, 10 - 11 Desember 1991.

2) Staf Peneliti Pusat Penelitian Perkebunan Jember

Perbanyak mikro melalui induksi tunas adventif secara langsung, selanjutnya dikombinasikan dengan penggandaan tunas aksilar pada tunas adventif tersebut telah berhasil dilakukan. Hasil terbaik induksi tunas adventif diperoleh dari eksplant potongan buku cabang ortotrop tanpa dibelah yang dikulturkan pada media yang mengandung 2,5 mg/l BAP. BAP pada konsentrasi tersebut juga dapat memberikan hasil terbaik dalam penggandaan tunas aksilar.

Pertumbuhan memanjang tunas adventif lebih lambat dibandingkan dengan tunas aksilar. Pertumbuhan tersebut dihambat dengan penambahan BAP pada konsentrasi tinggi.

PENDAHULUAN

Pengusahaan kopi di Indonesia melibatkan lebih dari 12 juta orang, termasuk didalamnya 3 juta petani. Disamping itu pengusahaan kopi dapat menghasilkan devisa sekitar AS\$ 550 juta setiap tahun. Sehingga peranan kopi dalam perekonomian Indonesia diluar sektor migas menduduki peringkat ketiga setelah kayu lapis dan karet. Namun demikian kopi Indonesia kurang dapat bersaing dalam pasaran internasional. Hal ini disebabkan perkopian Indonesia kurang lebih 93% didominasi jenis robusta, sedangkan permintaan pasar internasional lebih dari 96% berupa jenis arabika. Bertitik tolak dari hal tersebut maka pemerintah Indonesia telah mengambil langkah untuk mengkonversi kopi robusta ke kopi arabika pada lahan yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan kopi arabika. Untuk itu diperlukan bahan tanam dalam jumlah yang sangat banyak dalam waktu yang relatif singkat.

Bahan tanam yang selama ini digunakan untuk pertanaman kopi arabika adalah bahan tanam asal benih. Kendala yang dihadapi dalam penggunaan bahan tanam tersebut adalah adanya variasi baik dalam pertumbuhan maupun produksinya, karena terjadi segregasi. Untuk mengatasi kendala tersebut telah dicoba penerapan tehnik penyetekan. Namun nampaknya penerapan tehnik tersebut kurang dapat memenuhi

harapan, karena kemampuan untuk menghasilkan bahan tanam asal setek masih sangat terbatas.

Perbanyakan mikro kopi melalui tehnik organogenesis telah dapat dilakukan, baik melalui penggandaan tunas aksilar kopi arabika (Toruan, 1990; Priyono et al., 1991) maupun induksi tunas adventif kopi robusta (Priyono, 1991) dan kopi arabika (Danimihardja dan Priyono, 1991; Priyono et al., 1991). Kendala yang dihadapi dalam penerapan cara pertama adalah adanya keterbatasan eksplan yang dapat digunakan dari sumber eksplan, sedangkan kendala dalam penerapan cara kedua adalah tunas adventif yang dihasilkan kurang cocok digunakan sebagai eksplan dalam induksi tunas adventif berikutnya, karena pertumbuhan tunas adventif sebagian besar bersifat roset. Bertitik tolak pada hal tersebut maka telah dilakukan penelitian untuk menginduksi tunas adventif dan selanjutnya dikombinasikan dengan penggandaan tunas aksilar. Tulisan ini melaporkan hasil penelitian induksi tunas adventif dan penggandaan tunas aksilar pada tunas adventif kopi arabika klon CIFIC 519.

BAHAN DAN METODE

Sumber Eksplan dan Pengkulturan

Sumber eksplan yang digunakan adalah bibit kopi arabika klon CIFIC 519 berumur satu tahun yang telah dipelihara di dalam rumah kaca. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah potongan buku cabang ortotrop. Potongan buku cabang tersebut (2-5 cm) dibawa ke dalam laboratorium, selanjutnya dikocok dalam larutan fungisida selama beberapa menit, lalu dikocok dalam larutan detergen selama 2 menit diulang dua kali, lalu dibilas dengan air kran beberapa kali. Selanjutnya potongan buku cabang tersebut dibawa ke dalam "laminar air flow cabinet" untuk direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, lalu dikocok

dalam larutan klorok 20% selama 15-20 menit, setelah itu dibilas dengan aquades steril. Dengan menggunakan forcep dan scalpel, eksplan steril tersebut dipotong dengan ketebalan 0,5-0,7 cm. Potongan tersebut sebagian dibelah dan sebagian tidak, dan selanjutnya dikulturkan dalam botol yang berisi 20 ml media untuk menginduksi tunas adventif. Setelah tunas adventif terbentuk, tunas tersebut dipotong secara aseptik, setiap potongan terdiri atas satu ruas. Selanjutnya potongan ruas tersebut dikulturkan dalam erlenmeyer yang berisi 20 ml media untuk penggandaan tunas aksilar. Kondisi ruang kultur baik untuk induksi tunas adventif maupun penggandaan tunas aksilar dipertahankan pada suhu 26-29°C dengan periodisitas cahaya 16 jam terang dan 8 jam gelap.

Media Kultur

Media kultur yang digunakan adalah media 1/2 MS yang dilengkapi dengan vitamin B5, casein hidrolisat (konsentrasi rendah), kalsium pantothenat (konsentrasi tinggi), dan IAA (konsentrasi rendah). BAP dengan konsentrasi 1 - 10 mg/l (Tabel 1) ditambahkan ke dalam media baik untuk induksi tunas adventif maupun penggandaan tunas aksilar. Sebelum dipadatkan dengan penambahan 7 g/l agar, media diatur pada pH 5,7. Selanjutnya media diautoklaf pada tekanan 21 psi selama 35 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Tunas Adventif

Induksi tunas adventif merupakan salah satu tehnik dalam perbanyakan mikro. Tehnik tersebut dapat dicapai baik melalui induksi kalus maupun tanpa melalui fase tersebut. Cara terakhir telah berhasil diterapkan pada tanaman herba maupun tanaman setahun (George dan Sherring-

ton, 1984; Pierik, 1987), tetapi pada tanaman tahunan belum banyak dilaporkan. Keuntungan yang diperoleh dari induksi tunas adventif secara langsung adalah mempunyai keseragaman sangat tinggi, karena jarang terjadi variasi somaklonal (Dublin, 1981; Evans, 1989; Mohmand dan Nabor, 1990), walaupun plantlet yang dihasilkan relatif terbatas.

Induksi tunas adventif kopi arabika secara langsung telah berhasil dilakukan. Proses tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi BAP yang ditambahkan di dalam media dan jenis eksplan (Tabel 1). Induksi tunas tersebut telah dapat dicapai pada konsentrasi BAP relatif rendah, dan mengalami penghambatan pada konsentrasi tinggi, bahkan proses tersebut gagal terjadi pada konsentrasi BAP 10 mg/l. Jumlah tunas adventif terbanyak diperoleh pada media yang diperkaya dengan 2,5 mg/l BAP, konsentrasi BAP tersebut lebih rendah dibandingkan dengan untuk induksi tunas serupa pada kopi robusta (Priyono, 1991). Kemampuan induksi tunas adventif juga berbeda pada berbagai klon arabika (Danimihardja dan Priyono, 1991).

Pertumbuhan tunas adventif juga dipengaruhi oleh konsentrasi BAP. Pertumbuhan memanjang tunas adventif semakin baik dengan penurunan konsentrasi BAP. Sebagian besar tunas tersebut telah dapat menghasilkan tiga ruas setelah 2 bulan kultur. Namun demikian pertumbuhan tunas tersebut bersifat roset, apalagi pada media yang mengandung BAP konsentrasi tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa BAP sangat berperan dalam induksi tunas adventif, tetapi menghambat pertumbuhan memanjang tunas tersebut. Hal ini sesuai dengan penelitian Amin dan Jaiswal (1987) pada tanaman guava.

Keberhasilan induksi tunas adventif ternyata juga dipengaruhi oleh jenis eksplan. Jumlah tunas yang diperoleh dari eksplan yang dibelah lebih sedikit dari pada eksplan yang tidak dibelah. Pada kedua jenis eksplan

tersebut, tunas muncul dari bekas potongan/belahan. Diduga tunas adventif muncul dari bagian epidermis dan sub-epidermis. Hal ini sesuai dengan hasil analisis sitologi pada tanaman pinus, bahwa tunas adventif terjadi karena adanya perubahan sel epidermis dan sub-epidermis menjadi sel meristematik (Supriyanto dan Rohr, 1990). Walaupun eksplan yang dibelah mempunyai luas permukaan sel epidermis dan sub-epidermis lebih besar daripada eksplan tidak dibelah, tetapi jumlah tunas adventif yang dihasilkan lebih sedikit. Hal ini dapat dimengerti karena tunas adventif berkembang dari sel yang berkopoten untuk mengalami morphogenesis, yang mana sebagian besar sel-sel tersebut tidak tersebar merata pada seluruh eksplan (Thorpe, 1978 cit. Gunawan, 1990). Dengan demikian sel-sel yang berkopoten tersebut bila tidak dapat memanfaatkan media maka kemampuan tersebut tidak dapat terwujud (Gunawan, 1990). Disamping untuk tujuan perbanyakkan bahan tanam, tunas adventif yang dihasilkan secara langsung dapat digunakan untuk kegiatan transfer gen (Gamborg, komunikasi pribadi, 1991).

Penggandaan Tunas Aksilar

Penggandaan tunas aksilar dapat dicapai pada kultur ruas tunas adventif. Seperti halnya pada induksi tunas adventif, penggandaan tunas aksilar juga dipengaruhi oleh BAP. Proses tersebut masih dapat terjadi pada konsentrasi 10 mg/l, walaupun jumlah tunas terbanyak diperoleh dari media yang diperkaya dengan 2,5 mg/l BAP. Konsentrasi BAP tersebut lebih rendah daripada yang dilaporkan Toruan (1990) untuk penggandaan tunas aksilar pada klon yang sama dan Sondah et al. (1984) pada kopi arabika var *catuai*.

Pertumbuhan tunas aksilar terhambat seiring dengan peningkatan konsentrasi BAP. Namun demikian pertumbuhan memanjang tunas tersebut lebih baik daripada tunas adven-

tif pada konsentrasi BAP yang sama. Hal ini diduga karena adanya perbedaan asal tunas, yaitu tunas aksilar berasal dari mata tunas, sedangkan tunas adventif berasal dari bagian yang tidak mengandung mata tunas.

Setelah 2 bulan kultur tunas aksilar rata-rata telah memiliki tiga ruas. Tunas tersebut dapat langsung ditransfer ke media perakaran maupun dipotong-potong untuk selanjutnya disubkulturkan untuk penggandaan ulang tunas tersebut. Pemotongan pucuk tunas mempunyai beberapa keuntungan, yaitu selain dapat menghilangkan efek dominasi apikal juga dapat merangsang penggandaan tunas aksilar (Gunawan, 1990). Disamping itu pucuk tunas masih dapat ditransfer ke media perakaran untuk menghasilkan plantlet. Sampai saat ini induksi perakaran tunas aksilar masih sedang dilakukan.

Tabel 1. Induksi tunas adventif, penggandaan tunas aksilar, serta pertumbuhan tunas pada berbagai konsentrasi BAP

BAP (mg/l)	Jumlah tunas adventif/eksplan ^{*)}		Jumlah tunas aksilar/eksplan ^{**)}	Derajat pertumbuhan ^{***)}	
	eksplan dibelah	eksplan tidak dibelah		tunas adventif	tunas aksilar
1	2,3	7,2	2,3	+++	++++
2,5	2,5	8,1	6,8	++	++++
5	1,3	4,4	4,9	+	+++
10	0	0	1,2		++

Catatan : *) eksplan berupa potongan buku cabang ortotrop
 **) eksplan berupa potongan ruas tunas adventif
 ***) derajat pertumbuhan tunas (++++) (+++) (++)

Estimasi Produksi Tunas

Estimasi produksi tunas dimaksudkan untuk mengetahui potensi jumlah tunas yang dapat dihasilkan dari penerapan tehnik induksi tunas adventif yang digabungkan dengan penggandaan tunas aksilar pada tunas adventif. Untuk

maksud tersebut eksplan yang dipakai dalam induksi tunas adventif adalah potongan buku cabang ortotrop dengan panjang 0,5 cm tanpa dibelah. Jumlah tunas adventif dan tunas aksilar per eksplan yang dipakai sebagai dasar perhitungan adalah yang dihasilkan dari media yang diperkaya dengan 2,5 mg/l BAP.

Tabel 2. Produksi tunas adventif dan aksilar pada media diperkaya 2,5 mg/l BAP

Eksplan/bibit *) (ketebalan 0,5 cm)	Tunas adventif/eksplan **) (2 bulan kultur)	Tunas aksilar/eksplan (2 bulan kultur)
72	8,1	6,8

Catatan : *) setiap bibit rata-rata memiliki 3 cabang ortotrop, setiap cabang ortotrop memiliki 4 buku dengan panjang 3 cm
 **) setiap tunas adventif rata-rata memiliki 3 ruas.

Dari tabel 2 dapat diestimasi bahwa jumlah tunas yang dihasilkan yaitu 3916 tunas/bibit/4 bulan. Hasil tersebut tidak mungkin dapat dicapai melalui tehnik penyetekan dan lebih banyak daripada tehnik tehnik penggandaan tunas aksilar.

Penggabungan tehnik induksi tunas adventif secara langsung dan penggandaan tunas aksilar merupakan salah satu alternatif untuk mempercepat penyediaan bahan tanam yang lebih homogen.

KESIMPULAN

Induksi tunas adventif kopi arabika klon CIFIC 519 telah dapat dilakukan secara langsung tanpa melalui fase induksi kalus. Proses tersebut dipengaruhi oleh BAP dan jenis eksplan. Eksplan tanpa dibelah menghasilkan tunas lebih banyak daripada eksplan dibelah. Induksi tunas adventif telah dapat terjadi pada konsentrasi BAP 1 mg/l, tetapi proses tersebut tidak dapat terjadi pada konsentrasi BAP 10 mg/l. Hasil terbaik diperoleh pada konsentrasi 2,5 mg/l.

Penggandaan tunas aksilar masih dapat terjadi pada konsentrasi BAP 10 mg/l, walaupun jumlah tunas yang dihasilkan terendah. Hasil terbaik diperoleh pada konsentrasi 2,5 mg/l.

Pertumbuhan memanjang tunas adventif lebih lambat daripada tunas aksilar. Derajat pertumbuhan tersebut berkurang pada media yang mengandung BAP konsentrasi tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M.N. and V.S. Jaiswal. 1987. Rapid clonal propagation of guava through *in vitro* shoot proliferation on nodal explants of mature trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 9:235-243.
- Danimihardja, S. dan Priyono. 1991. Respon berbagai klon kopi arabika dalam induksi tunas adventif *in vitro*. Pelita Perkebunan (Inpress). Dublin, P. 1981. Embryogenese somatique directe sur fragments de feuilles de cofier arabusta. *Cofe Cacao The* 25(4):237-242.
- Evans, D.A. 1989. Somaklonal variation basis and breeding application. *Tip*. 5(2):46-50.
- George, F.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetic Ltd. England, 709p.

- Gunawan, L.W. 1991. Propagation of rattan manau (*Calamus manan*) by *in vitro* technique. *Indon.J.Trop.Agric.* 1(1):40-43.
- Mohmand, A.S. and M.W.Nabors. 1990. Somaclonal variant plants of wheat derived from mature embryo explant of three genotypes. *Plant Cell Report* 8:558-560.
- Priyono. 1991. Kultur *in vitro* berbagai jenis jaringan kopi arabika. *Pelita Perkebunan* (Inpress).
- Sondahl, M.R., T.Nakamura, H.P.Medina-Filha, A.Carvalho, L.C.Fazuoli, W.M. Costa. 1984. Coffee. In Ammirato, P.V., D.A.Evans, W.R.Sharp, T.Yamada eds). *Handbook of Plant Cell Culture, Vol.3.* Macmillan - New York, pp.564-590.
- Supriyanto and R.Rohr. 1990. Organogenesis on the needles of scots pine. *Symp. on Biotech. for Forest Tree Improvement, Bogor* 21-23 March 1990 (Abstract).
- Thorpe, T.A. and K.R.Patek. 1987. *Clonal Propagation: Adventitious Buds.* Academic Press, Inc. Orlando. pp.49-60.
- Toruan, N. 1990. Perbanyak tanaman kopi arabika dengan kultur jaringan. *Puslitbun Bogor.* 18 hal.