

# PENGARUH KOMPOSISI MEDIA KULTUR TERHADAP INDUKSI KALUS KOPI ARABIKA ANDUNGSARI 1 (*Coffea arabica* L.)

Sepdian Luri Asmono<sup>1</sup>, Ujang Setyoko<sup>1</sup>, Rahmawati<sup>1</sup>, Nisa Budi Arifiana<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>Department of Agricultural Production, Politeknik Negeri Jember

Email: [nisa\\_budi@polije.ac.id](mailto:nisa_budi@polije.ac.id)

## Abstract

*Arabica coffee (Coffea arabica L.) has several recommended superior varieties, one of which is the Andungsari 1 variety. The composition of tissue culture media plays an important role in influencing callus induction time, percentage of callus formation, callus color, callus type, callus area, and fresh weight of callus. This study aimed to determine the most suitable culture medium for inducing primary callus in Arabica coffee Andungsari 1. The research was conducted for three months at the Plant Tissue Culture Laboratory of the State Polytechnic of Jember. Young leaves of Arabica coffee Andungsari 1 were used as explants. The experiment employed a Completely Randomized Design with four media composition treatments, namely: (1) MS 0, (2) full-strength MS supplemented with 1 ppm 2,4-D, (3) half-strength MS supplemented with 1 ppm 2,4-D, and (4) quarter-strength MS supplemented with 1 ppm 2,4-D. Each treatment was replicated five times. The results showed that MS 0 medium was unable to induce callus formation. The half-strength MS medium supplemented with 1 ppm 2,4-D induced callus formation most rapidly, occurring at 15 days after planting. Half-strength MS + 1 ppm 2,4-D and full-strength MS + 1 ppm 2,4-D were the most effective media for callus formation based on callus color, callus type, callus area, and callus fresh weight.*

**Kata kunci:** Callus, Arabica coffee, tissue culture, culture media modification, MS media

## Abstrak

*Kopi arabika (Coffea arabica L.) memiliki sejumlah varietas unggul yang direkomendasikan untuk dibudidayakan, salah satunya adalah varietas Andungsari 1. Komposisi media pada kultur jaringan diketahui berpengaruh terhadap waktu pembentukan kalus, persentase terbentuknya kalus, karakter warna dan tipe kalus, luas kalus, serta bobot basah kalus. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis media yang paling efektif dalam menginduksi kalus primer pada kopi Arabika varietas Andungsari 1. Penelitian dilaksanakan selama tiga bulan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Politeknik Negeri Jember. Eksplan yang digunakan berupa daun muda kopi Arabika varietas Andungsari 1. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan komposisi media, yaitu: 1) MS 0; 2) Full MS + 1ppm 2,4-D; 3) ½ MS+1ppm 2,4-D; 4) ¼ MS+1ppm 2,4-D dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak lima kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa media MS 0 tidak mampu menginduksi pembentukan kalus. Media ½ MS + 1 ppm 2,4-D menghasilkan pembentukan kalus paling cepat, yaitu pada umur 15 hari setelah tanam. Media ½ MS + 1 ppm 2,4-D serta media Full MS + 1 ppm 2,4-D merupakan perlakuan terbaik dalam pembentukan kalus berdasarkan parameter warna kalus, tipe kalus, luas kalus, dan bobot basah kalus.*

**Kata kunci:** Kalus, kopi arabika, kultur jaringan, modifikasi media kultur, media MS

## 1. PENDAHULUAN

Tanaman kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki kontribusi signifikan terhadap peningkatan perekonomian nasional. Berdasarkan data statistik, produksi kopi Indonesia menunjukkan tren peningkatan dari tahun 2018 hingga 2022. Pada tahun 2018, total

produksi kopi tercatat sebesar 756.051 ton dan meningkat menjadi 793.193 ton pada tahun 2022 (Badan Pusat Statistik., 2023). Salah satu jenis kopi yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah kopi arabika. Kopi arabika dikenal memiliki mutu dan cita rasa yang tinggi, namun memiliki tingkat kerentanan yang lebih besar terhadap serangan penyakit. Oleh sebab itu, diperlukan

upaya perbanyak tanaman untuk memperoleh bibit unggul.

Upaya penyediaan bibit unggul secara konvensional, seperti melalui stek atau sambung pucuk, sering kali menghadapi kendala berupa rendahnya tingkat perbanyak, kebutuhan lahan yang luas, serta waktu produksi yang relatif lama. Selain itu, metode konvensional berisiko menghasilkan bibit yang tidak seragam dan rentan terhadap penyakit. Seiring dengan perkembangan ilmu bioteknologi tanaman, teknik kultur jaringan atau kultur in vitro menjadi alternatif yang potensial dalam perbanyak tanaman kopi. Kultur jaringan merupakan metode perbanyak tanaman dengan mengisolasi bagian tanaman berupa sel atau jaringan, kemudian menumbuhkannya dalam kondisi steril hingga berkembang menjadi tanaman utuh (Asmono et al., 2022).

Teknik ini memiliki berbagai keunggulan, antara lain mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat, menghasilkan tanaman yang memiliki keseragaman genetik dengan induknya, serta memungkinkan produksi bibit sepanjang tahun tanpa tergantung musim. Keberhasilan kultur jaringan sangat ditentukan oleh komposisi media tanam yang digunakan, terutama kandungan unsur hara dan zat pengatur tumbuh (ZPT). Media Murashige and Skoog (MS) merupakan media dasar yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan tanaman karena memiliki komposisi unsur hara makro dan mikro yang lengkap dan seimbang. Namun demikian, modifikasi konsentrasi media MS serta penambahan ZPT tertentu sering kali diperlukan untuk mengoptimalkan respons eksplan, khususnya pada tahap induksi kalus.

Induksi kalus merupakan tahap awal yang sangat penting dalam proses embriogenesis somatik dan regenerasi tanaman secara in vitro. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa penambahan ZPT golongan auksin, seperti 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), mampu meningkatkan pembentukan kalus pada kopi Arabika. Penelitian Rismayanti & Nafi'ah, (2021) menunjukkan bahwa penggunaan media MS penuh dengan penambahan air kelapa efektif dalam menginduksi pembentukan kalus kopi Arabika. Namun demikian, informasi mengenai pengaruh pengenceran media MS dengan konsentrasi ZPT yang sama terhadap karakteristik kalus kopi Arabika masih terbatas.

Oleh karena itu, penelitian ini

bertujuan untuk mengoptimalkan induksi kalus kopi Arabika varietas Andungsari 1 melalui penggunaan berbagai konsentrasi media MS dengan penambahan 1 ppm 2,4-D, sehingga diharapkan dapat diperoleh media yang paling efektif dalam menginduksi kalus sebagai bahan dasar regenerasi tanaman.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

Varietas kopi Arabika Andungsari 1 (*Coffea arabica* L.) merupakan salah satu varietas unggul nasional yang memiliki potensi hasil antara 1 hingga 2,3 ton kopi pasar per hektar pada kepadatan tanam 1.600 pohon per hektar. Varietas ini dikenal memiliki karakter cita rasa yang khas dan bermutu tinggi, serta menunjukkan tingkat ketahanan sedang terhadap serangan hama penggerek buah kopi (*Hypothenemus hampei*) dan nematoda parasit. Kopi Arabika Andungsari 1 mampu beradaptasi dengan baik pada wilayah dataran menengah hingga tinggi, dengan fase pembungaan awal terjadi pada umur 32–36 bulan setelah tanam. Karakteristik tersebut menjadikan varietas ini berpotensi mendukung peningkatan produksi kopi nasional di tengah tantangan perubahan iklim dan tekanan penyakit tanaman (Randriani & Dani, 2018).

Perbanyak tanaman melalui teknik kultur jaringan diperlukan mengingat metode perbanyak vegetatif konvensional, seperti stek, memiliki tingkat perbanyak yang relatif rendah, membutuhkan area tanam yang luas, serta waktu yang cukup lama. Sebaliknya, kultur jaringan memungkinkan produksi bibit dalam jumlah besar, seragam, dan bebas penyakit sepanjang tahun (George & Sherrington, 1984).

Media Murashige and Skoog (MS), yang diperkenalkan pada tahun 1962 (Murashige & Skoog, 1962), merupakan media dasar yang paling banyak digunakan dalam teknik kultur jaringan tanaman, termasuk untuk proses induksi kalus pada kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) (Hapsoro et al., 2019). Media MS menyediakan unsur hara makro dan mikro, vitamin, serta zat pengatur tumbuh yang penting bagi pertumbuhan dan proliferasi sel somatik. Penyesuaian konsentrasi media MS kerap dilakukan untuk memperoleh karakter kalus yang diinginkan, baik kalus friabel maupun kompak, sebagai tahap awal menuju pembentukan embrio somatik.

Penambahan zat pengatur tumbuh golongan auksin, seperti 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), berperan penting dalam proses dediferensiasi sel serta

induksi kalus embriogenik pada tanaman kopi Arabika. Pemberian 2,4-D pada kisaran konsentrasi 1–2 ppm dalam media MS dilaporkan mampu menghasilkan kalus bertekstur remah dengan warna kuning pucat, yang merupakan karakteristik ideal untuk proses embriogenesis somatik (Arimarsetiowati *et al.*, 2023).

Pada kopi Arabika varietas Andungsari 1, berbagai modifikasi media kultur telah diuji, seperti penggunaan media MS penuh atau penambahan vitamin B5 serta kombinasi 2 ppm 2,4-D dan 1 ppm kinetin untuk induksi kalus dari eksplan daun. Namun, hasil penelitian menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Temuan tersebut menegaskan potensi klon lokal Indonesia dalam pengembangan kultur *in vitro* dan sejalan dengan upaya optimalisasi penggunaan media MS dengan penambahan 1 ppm 2,4-D. Penelitian lain pada klon AS2K menunjukkan bahwa kombinasi 2 ppm 2,4-D dan 1 ppm BAP merupakan perlakuan optimal, dengan tingkat pembentukan kalus mencapai 49% pada minggu ketiga pengamatan (Munawarti *et al.*, 2024).

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Politeknik Negeri Jember. Alat dan bahan utama yang digunakan meliputi autoklaf, timbangan digital, *dissecting set*, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), daun muda kopi arabika varietas Andungsari 1, alkohol, bahan desinfektan, akuades, larutan stok media MS, serta zat pengatur tumbuh 2,4-D.

1. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) nonfaktorial yang terdiri atas empat perlakuan, dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak lima kali. Perlakuan yang diuji merupakan variasi komposisi media, yaitu:
  - a. **M1**: Media MS penuh tanpa penambahan ZPT (MS 0)
  - b. **M2**: Media MS penuh dengan penambahan 1 ppm 2,4-D
  - c. **M3**: Media  $\frac{1}{2}$  MS dengan penambahan 1 ppm 2,4-D
  - d. **M4**: Media  $\frac{1}{4}$  MS dengan penambahan 1 ppm 2,4-D

Daun muda kopi arabika digunakan sebagai eksplan dan disterilisasi secara bertahap menggunakan larutan detergen cair, bakterisida, fungisida, alkohol 70%, serta

larutan bayclin dengan konsentrasi 10% dan 20%, dengan tujuan mencegah terjadinya kontaminasi selama proses pertumbuhan kalus (Asmono *et al.*, 2022). Selanjutnya, proses inokulasi dilakukan di dalam Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dengan memotong eksplan berukuran  $\pm 1,5 \times 1,5$  cm. Eksplan kemudian ditanam pada media sesuai perlakuan dan diinkubasi dalam ruang gelap. Setiap unit media perlakuan ditanami satu eksplan untuk pengamatan pertumbuhan kalus.

Parameter yang diamati meliputi waktu muncul kalus, persentase pembentukan kalus, warna kalus, jenis kalus, dan berat segar kalus. Waktu muncul kalus diamati setiap hari hingga terbentuk kalus pada eksplan, yang ditandai dengan munculnya benjolan kecil berwarna putih pada bagian bekas sayatan. Persentase pembentukan kalus diamati dengan mencatat jumlah eksplan yang membentuk kalus selama 91 hari setelah tanam (HST). Pengamatan warna dan jenis kalus dilakukan melalui metode skoring, dengan kriteria warna kalus sebagai berikut: skor 0 = tidak terbentuk kalus;  $>0 < 1$  = coklat hingga hitam;  $>1 < 2$  = putih kecoklatan;  $>2 < 3$  = putih kekuningan. Sementara itu, jenis kalus diklasifikasikan berdasarkan skor: 0 = tidak terbentuk kalus;  $>0 < 1$  = kompak;  $>1 < 2$  = kompak bernodul;  $>2 < 3$  = remah.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Waktu Tumbuh Kalus

Hasil analisis terhadap waktu kemunculan kalus pada berbagai perlakuan media menunjukkan bahwa media  $\frac{1}{2}$  MS dan  $\frac{1}{4}$  MS mampu menginduksi pembentukan kalus lebih cepat dibandingkan dengan media MS penuh maupun MS 0. Pada media  $\frac{1}{2}$  MS dan  $\frac{1}{4}$  MS, kalus mulai terbentuk pada kisaran umur 15–20 hari setelah tanam (HST), sedangkan pada media MS penuh pembentukan kalus baru terjadi pada umur sekitar 25 HST. Rata-rata waktu muncul kalus pada kopi Arabika disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu muncul kalus

Perlakuan	HST	Notasi
Full MS 0	0	a
Full MS + 1 ppm 2,4-D	25	b
$\frac{1}{2}$ MS + 1 ppm 2,4-D	15	b
$\frac{1}{4}$ MS + 1 ppm 2,4-D	20	a

Zat pengatur tumbuh (ZPT) ditambahkan ke dalam media kultur untuk mendukung proses pembentukan kalus melalui percepatan pembelahan sel. Pembentukan kalus dapat terjadi apabila eksplan ditumbuhkan pada media yang mengandung ZPT dari golongan auksin dan sitokinin dengan konsentrasi yang seimbang. Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa penambahan 2,4-D 1 ppm mempercepat terjadinya dediferensiasi jaringan dan memicu pembentukan kalus, namun kecepatan kemunculan kalus sangat dipengaruhi oleh kekuatan media MS. Perlakuan  $\frac{1}{2}$  MS + 1 ppm 2,4-D menghasilkan waktu muncul kalus lebih cepat (15 HST), hal ini mengindikasikan bahwa pengurangan kekuatan garam hingga 50% memberikan kondisi ionik atau osmotik yang lebih sesuai bagi reaktivasi siklus sel dan proliferasi massa kalus. Pada Full MS + 2,4-D, kemunculan kalus lebih lambat (25 HST) yang diduga berkaitan dengan tingginya konsentrasi garam yang meningkatkan stres fisiologis dan atau risiko oksidasi fenolik sehingga menunda fase proliferasi awal. Sebaliknya, pada  $\frac{1}{4}$  MS + 2,4-D kemunculan kalus berada pada tingkat menengah (20 HST), hal ini diduga karena keterbatasan nutrisi menurunkan laju pembelahan sel meskipun induksi oleh auksin tetap terjadi. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa kombinasi 2,4-D sebesar 1 mg/L dan kinetin 1 mg/L efektif dalam menginduksi pembentukan kalus (Gultom et al., 2012). Kalus umumnya muncul pada bagian luka atau bekas sayatan eksplan. Respons awal eksplan terhadap media ditandai dengan terjadinya pembengkakan jaringan, yang menunjukkan bahwa eksplan telah beradaptasi dan merespons perlakuan media yang diberikan (Ulva et al., 2019).

### Persentase Muncul Kalus

Pengamatan terhadap persentase pembentukan kalus dilakukan untuk mengevaluasi tingkat respons eksplan terhadap berbagai perlakuan media yang digunakan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa modifikasi media memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap persentase munculnya kalus. Hasil uji lanjut BNJ pada taraf 5% terhadap persentase pembentukan kalus disajikan sebagai berikut.

Tabel 2. Persentase Muncul Kalus (%)

Perlakuan	Rerata (%)	Notasi	BNJ 5%
-----------	------------	--------	--------

Full MS 0	0	a	0,41
Full MS + 1 ppm 2,4-D	100	b	
$\frac{1}{2}$ MS + 1 ppm 2,4-D	100	b	
$\frac{1}{4}$ MS + 1 ppm 2,4-D	100	b	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata

Berdasarkan hasil pengamatan yang disajikan di tabel 2, persentase muncul kalus menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan. Perlakuan Full MS tanpa 2,4-D menghasilkan rerata 0%, sedangkan seluruh perlakuan yang diberi 2,4-D 1 ppm (Full MS,  $\frac{1}{2}$  MS, dan  $\frac{1}{4}$  MS) menghasilkan rerata 100%. Hasil uji BNJ 5% memperlihatkan bahwa perlakuan tanpa 2,4-D memberikan pengaruh berbeda nyata dengan perlakuan yang mengandung 2,4-D. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan nyata di antara ketiga perlakuan yang mengandung 2,4-D, yang mengindikasikan bahwa pada konsentrasi 1 ppm, 2,4-D telah cukup efektif untuk menginduksi pembentukan kalus pada seluruh eksplan, sehingga variasi kekuatan media MS (Full,  $\frac{1}{2}$ , dan  $\frac{1}{4}$ ) tidak memengaruhi persentase keberhasilan induksi kalus pada tahap ini. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa persentase muncul kalus menunjukkan bahwa hanya media MS 0 yang tidak mampu membentuk kalus. Keberhasilan pembentukan kalus dipengaruhi oleh komposisi media kultur, khususnya keberadaan zat pengatur tumbuh seperti 2,4-D yang berperan penting dalam proses tersebut (George et al., 2008).

### Warna dan Jenis Kalus

Pengamatan terhadap warna dan tipe kalus dilakukan untuk menilai kualitas sel kalus yang terbentuk pada eksplan. Penilaian dilakukan dengan pemberian skor berdasarkan karakteristik visual kalus yang diamati selama periode 90 hari setelah tanam (HST). Apabila hasil pengamatan menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut BNJ pada taraf 5%. Hasil pengamatan warna dan jenis kalus pada umur 90 HST disajikan sebagai berikut.

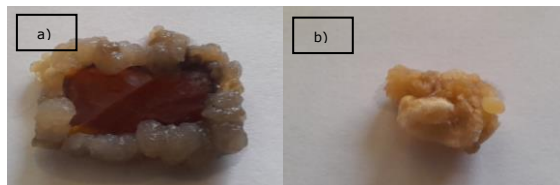
Tabel 3. Warna Kalus Umur 90 HST

No.	Perlakuan	Warna Kalus	Jenis Kalus
-----	-----------	-------------	-------------

1	Full MS 0	0 (a)	Tidak tumbuh kalus	0 (a)	Tidak Tumbuh	sitokinin yang berfungsi dalam mengatur transportasi unsur hara di dalam jaringan tanaman (Mahadi et al., 2016).
2	Full MS + 1 ppm 2,4-D	1,4 (ab)	Putih Kecokelatan	1 (b)	Kompak	
3	½ MS + 1 ppm 2,4-D	2,4 (b)	Putih Kekuningan	1,2 (b)	Kompak	
4	¼ MS + 1 ppm 2,4-D	0,6 (a)	Coklat-Hitam	0,2 (a)	Kompak	

### Berat Segar Kalus

Pengamatan berat segar kalus dilakukan untuk mengetahui tingkat pertumbuhan dan akumulasi biomassa kalus yang terbentuk pada masing-masing perlakuan media kultur. Berat segar kalus mencerminkan aktivitas pembelahan sel serta kemampuan jaringan dalam menyerap air dan nutrisi dari media tanam. Semakin tinggi nilai berat segar, semakin besar pula laju pertumbuhan dan proliferasi sel kalus yang terjadi selama masa inkubasi. Hasil uji lanjut BNJ pada taraf 5% berat segar tertera pada tabel berikut.



Gambar 1. Tekstur kalus kompak a) Warna putih kecokelatan b) Warna putih kekuningan

Warna kalus merupakan salah satu indikator penting dalam menilai pertumbuhan kalus serta keberhasilan proses regenerasi tanaman. Kalus berwarna putih menunjukkan bahwa sel-sel penyusunnya masih aktif mengalami pembelahan. Seiring perkembangan, perubahan warna menjadi putih kekuningan mengindikasikan potensi kalus untuk berkembang menjadi sel-sel embrionik. Pada pengamatan umur 91 hari setelah tanam (HST), kalus yang terbentuk pada media ½ MS menunjukkan warna putih kekuningan, yang diduga memiliki peluang untuk disubkultur menuju tahap pembentukan embrio somatik. Sebaliknya, kalus dengan warna gelap atau kecokelatan menandakan penurunan kualitas kalus. Perubahan warna tersebut diduga merupakan respons stres pada kalus yang memicu aktivitas enzim tertentu dalam menghasilkan senyawa fenolik sebagai mekanisme pertahanan, sehingga menyebabkan degradasi klorofil pada sel-sel kalus (Yari Khosroushahi et al., 2011).

Pada pengamatan umur 90 hari setelah tanam (HST), kalus yang terbentuk pada seluruh media perlakuan menunjukkan tekstur kompak. Kalus dengan tekstur kompak dicirikan oleh sel-sel berukuran kecil yang tersusun rapat dan sulit dipisahkan menjadi sel tunggal. Struktur kalus yang kompak menunjukkan potensi yang lebih besar untuk dikembangkan lebih lanjut dan diregenerasikan secara langsung menjadi tanaman utuh (*planlet*) (Arimarsetiowati et al., 2023). Selain itu, terbentuknya tekstur kompak diduga berkaitan dengan proses lignifikasi atau penebalan dinding sel kalus, yang menyebabkan kalus menjadi lebih keras. Kondisi ini dipengaruhi oleh peran

Tabel 4. Berat segar kalus umur 90 HST

No.	Perlakuan	Berat segar (g)
1	Full MS 0	0 a
2	Full MS + 1 ppm 2,4-D	0,18 b
3	½ MS + 1 ppm 2,4-D	0,16 b
4	¼ MS + 1 ppm 2,4-D	0,05 a

Data pada tabel menunjukkan bahwa media dengan konsentrasi full MS dan ½ MS memiliki berat basah kalus yang relatif sama berat yaitu 0,18 g dan 0,16 g. Konsentrasi tersebut memacu berat kalus paling tinggi dibanding perlakuan dengan konsentrasi ¼ MS dengan memiliki berat basah kalus paling rendah dengan nilai rerata 0,05.

Hal ini mengindikasikan peran penting 2,4-D sebagai auksin sintetik dalam memicu induksi dan proliferasi kalus melalui stimulasi pembelahan sel dan dediferensiasi eksplan. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa perlakuan dengan pemberian zat pengatur tumbuh kombinasi 2,4-D dan kinetin mempunyai berat jauh lebih besar dibandingkan dengan pemberian secara tunggal (Ibrahim et al., 2012). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ZPT berpengaruh terhadap berat basah kalus.

Pada perlakuan dengan penambahan 2,4-D yang sama, pengenceran konsentrasi media menjadi ½ MS dan ¼ MS menyebabkan penurunan berat segar kalus masing-masing menjadi 0,16 g dan 0,05 g. Hal tersebut menunjukkan bahwa penurunan ketersediaan unsur hara makro dan mikro pada media yang lebih encer berpotensi membatasi pertumbuhan kalus dan akumulasi biomassa (Groll et al., 2002).

Media  $\frac{1}{4}$  MS + 1 ppm 2,4-D hanya menghasilkan berat segar 0,05 g (Tabel 4), penurunan signifikan hingga 72% dari Full MS. Kekurangan nutrisi makro hingga  $\frac{1}{4}$  dari konsentrasi MS standar diduga dapat menyebabkan ukuran kalus mengecil sehingga akumulasi biomassa rendah karena kekurangan nutrisi (Oberschelp & Gonçalves, 2018). Penelitian sebelumnya pada tanaman singkong menunjukkan bahwa pengenceran MS hingga  $\frac{1}{4}$  konsentrasi berpengaruh terhadap penurunan berat segar kalus embrionik karena defisiensi nutrisi makro serta menurunkan daya osmolalitas nutrisi (Groll et al., 2002).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan komposisi media kultur berpengaruh sangat nyata terhadap persentase pembentukan kalus, karakter warna kalus, tipe kalus, serta berat segar kalus yang dihasilkan. Media  $\frac{1}{2}$  MS terbukti sebagai perlakuan yang paling efektif dalam menginduksi pembentukan kalus dengan waktu tercepat, yaitu pada 15 hari setelah tanam (HST). Kalus yang terbentuk memperlihatkan variasi warna mulai dari putih kekuningan, putih kecoklatan, hingga coklat kehitaman, dengan tekstur yang umumnya bersifat kompak. Selain itu, penggunaan media  $\frac{1}{2}$  MS juga menghasilkan berat segar kalus yang relatif tinggi dibandingkan perlakuan lainnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan apresiasi dan terima kasih kepada Pusat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Politeknik Negeri Jember atas dukungan pendanaan penelitian yang bersumber dari PNPB Politeknik Negeri Jember, sebagaimana tercantum dalam Keputusan Direktur Nomor 0942/PL17.4/PG/2025.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Arimarsetiowati, R., Daryono, B. S., Astuti, Y. T. M., Prastowo, E., & Semiarti, E. (2023). Regeneration and development of *Coffea arabica* L. plants through indirect somatic embryogenesis. *Coffee Science-ISSN 1984-3909*, 18, e182078--e182078.
- [2] Arimarsetiowati, R., Putra, A., Suwastono, M. R., Umami, L. A., Daryono, B. S., Astuti, Y. T. M., & Semiarti, E. (2023). The effect of 2, 4-D, thidiazuron and BAP on calli induction of arabica coffee (*Coffea arabica* L.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1133(1), 12010.
- [3] Asmono, S L, Wardana, R., & Rahmawati. (2022). Optimization of the sterilization method for leaf explant Robusta BP 308 coffee in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 980(1), 012001. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/980/1/012001>
- [4] Badan Pusat Statistik. (2023). *Ekspor Kopi Menurut Negara Tujuan Utama, 2000-2022*.
- [5] George, E. F., & Sherrington, P. D. (1984). *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics Ltd.
- [6] George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G.-J. De. (2008). The components of plant tissue culture media I: macro-and micro-nutrients. In *Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background* (pp. 65–113). Springer.
- [7] Groll, J., Mycock, D. J., & Gray, V. M. (2002). Effect of medium salt concentration on differentiation and maturation of somatic embryos of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Annals of Botany*, 89(5), 645–648.
- [8] Gultom, M. S., Anna, N., & Siregar, E. B. M. (2012). Respon eksplan biji gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap pemberian IAA secara in vitro. *Peronema Forestry Science Journal*, 1(1), 156144.
- [9] Hapsoro, D., Setiawan, D., Hamiranti, R., & Yusnita, Y. (2019). Pengaruh 2-iP, BA, 2, 4-D, dan TDZ pada embriogenesis somatik in vitro kopi robusta unggul Lampung. *Jurnal Agrotek Tropika*, 7(3), 527–537.
- [10] Ibrahim, D. S. M., Sudarsono, S., Rubiyo, R., & Syafaruddin, S. (2012). Pengaruh Komposisi Media terhadap Pembentukan Kalus Embriogenesis Somatik Kopi Arabika (*Coffea arabica*). *Journal of Industrial and Beverage Crops*, 3(1), 13–22.
- [11] Mahadi, I., Syafi'i, W., & Sari, Y. (2016). Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2, 4-D dan BAP dengan metode in vitro. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84–89.
- [12] Munawarti, A., Nurhury, R. L., Arimarsetiowati, R., Prastowo, E., & Hakim, L. (2024). Induction and multiplication of callus of AS2K clones *Coffea arabica* L. through 2, 4-D and BAP combination. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- [13] Oberschelp, G. P. J., & Gonçalves, A. N.

- (2018). Analysis of nutrient deficiencies affecting in vitro growth and development of *Eucalyptus dunnii* Maiden. *Physiology and Molecular Biology of Plants: An International Journal of Functional Plant Biology*, 24(4), 693–702. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0560-1>
- [14] Rismayanti, A. Y., & Nafi'ah, H. H. (2021). Modifikasi media pada induksi kalus kopi arabika (*Coffea arabica* L.) berbuah kuning. *Jurnal Agro Wiralodra*, 4(2), 42–49.
- [15] Ulva, M., Nurchayati, Y., Prihastanti, E., & Setiari, N. (2019). Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Varietas Permata F1 dari Jenis Eksplan dan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda secara In Vitro. *Life Science*, 8(2), 160–169.
- [16] Yari Khosroushahi, A., Naderi-Manesh, H., & Toft Simonsen, H. (2011). Effect of Antioxidants and Carbohydrates in Callus Cultures of *Taxus brevifolia*: Evaluation of Browning, Callus Growth, Total Phenolics and Paclitaxel Production. *BioImpacts: BI*, 1(1), 37–45. <https://doi.org/10.5681/bi.2011.006>