

OPTIMALISASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN BAP PADA PROLIFERASI KALUS KOPI LIBERIKA (*coffea liberica*) SECARA IN VITRO***Optimization of Growth Regulators 2,4-D and BAP on The Proliferation of Liberica Coffee Callus (Coffea liberica) in Vitro*****Rahmat Hidayat^{1*}, Lizawati Lizawati², Rainiyati Rainiyati², Zulkarnain Zulkarnain², Eliyanti Eliyanti², Elis Kartika²**¹Program Studi Magister Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi²Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jambi

*Email: rahmat020798@gmail.com

Abstract

Coffee is one of the strategic plantation commodities that has high economic value and an important role in the national economy. Among the various types of coffee cultivated in Indonesia, *Coffea liberica* has great development potential, especially in areas such as Jambi Province. However, conventional propagation of Liberica coffee plants through seeds or cuttings still faces obstacles, such as low success rates and slow growth rates. Therefore, tissue culture techniques are an alternative solution to produce Liberica coffee seedlings in bulk, quickly, and uniformly. This study aims to optimize the effect of growth regulator (ZPT) concentration interaction of auxin (2,4-D) and cytokinin (BAP) on liberica coffee callus formation in vitro. Experiments were conducted at the Plant Biotechnology Laboratory, Jambi University, using a factorial completely randomized design (CRD) with two factors. The first factor is the concentration of 2,4-D which consists of two levels, namely 1 ppm (d1) and 2 ppm (d2). The second factor is the concentration of BAP which consists of five levels, namely 1 ppm (b1), 2 ppm (b2), 3 ppm (b3), 4 ppm (b4), and 5 ppm (b5). Parameters observed included color, structure, size, and callus weight after 12 weeks of culture. The results showed that the interaction between 2,4-D and BAP significantly affected all observation parameters. Callus with the highest size (2.66 cm) and weight (2.90 g) were obtained in the combination of 1 ppm 2,4-D + 4 ppm BAP and 2 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP respectively. The callus was yellowish-white to green and had a crumbly or compact structure, depending on the ZPT combination. In conclusion, a balanced combination of ZPT concentrations greatly determines the success of Liberica coffee callus proliferation, and the results of this study provide an essential basis for the development of efficient coffee tissue culture.

Keywords: 2,4-D; BAP; callus; Liberica coffee; Tissue culture**Abstrak**

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan strategis yang memiliki nilai ekonomi tinggi serta peran penting dalam perekonomian nasional. Di antara berbagai jenis kopi yang dibudidayakan di Indonesia, *Coffea liberica* memiliki potensi pengembangan yang besar, terutama di daerah seperti Provinsi Jambi. Namun, perbanyakan tanaman kopi liberika secara konvensional melalui biji atau stek masih menghadapi hambatan, seperti rendahnya tingkat keberhasilan dan laju pertumbuhan yang lambat. Oleh karena itu, teknik kultur jaringan menjadi solusi alternatif untuk menghasilkan bibit kopi liberika secara massal, cepat, dan seragam. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan pengaruh interaksi konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap pembentukan kalus kopi liberika secara in vitro. Eksperimen dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Universitas Jambi, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri atas dua taraf, yaitu 1 ppm (d1) dan 2 ppm (d2). Faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang terdiri atas lima taraf, yaitu 1 ppm (b1), 2 ppm (b2), 3 ppm (b3), 4 ppm (b4), dan 5 ppm (b5). Parameter yang diamati meliputi warna, struktur, ukuran, dan berat kalus setelah 12 minggu kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi antara 2,4-D dan BAP berpengaruh sangat nyata terhadap seluruh parameter pengamatan. Kalus dengan ukuran (2,66 cm) dan berat (2,90 g) tertinggi diperoleh pada kombinasi 1 ppm 2,4-D + 4 ppm BAP dan 2 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP secara berurutan. Kalus berwarna putih kekuningan hingga hijau dan memiliki struktur remah atau kompak tergantung kombinasi ZPT. Kesimpulannya, kombinasi konsentrasi ZPT yang seimbang sangat menentukan keberhasilan proliferasi kalus kopi liberika, dan hasil penelitian ini memberikan dasar penting dalam pengembangan kultur jaringan kopi secara efisien.

Kata Kunci: 2,4-D; BAP; Kalus; Kopi Liberika; Kultur Jaringan

PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki nilai ekonomi tinggi serta berperan penting dalam perdagangan global maupun perekonomian nasional Indonesia. Indonesia dikenal sebagai salah satu produsen kopi utama dunia dengan keanekaragaman jenis kopi yang mencakup *Coffea arabica*, *Coffea canephora* (robusta), dan *Coffea liberica* (Ramadhillah & Masjud, 2024).

Kopi liberika memiliki potensi ekonomi yang menjanjikan, khususnya di wilayah tertentu seperti Provinsi Jambi, di mana komoditas ini menjadi bagian penting dalam mendukung perekonomian lokal (Kulsum, 2023). Namun demikian, perbanyakan kopi liberika secara konvensional, baik melalui biji maupun stek, seringkali menghadapi berbagai kendala, seperti tingkat keberhasilan yang rendah dan pertumbuhan tanaman yang lambat. Dalam konteks ini, elati kultur jaringan menjadi alternatif unggulan yang dapat mempercepat produksi bibit berkualitas. Metode ini memungkinkan perbanyakan tanaman secara massal dalam waktu yang elative lebih singkat dan efisien dibandingkan metode konvensional (Ibrahim & Hartati, 2017).

Perbanyakan tanaman kopi secara *in vitro* telah terbukti sebagai pendekatan inovatif yang mampu menghasilkan tanaman berkualitas tinggi secara seragam dalam waktu singkat. Kultur jaringan tidak hanya memungkinkan regenerasi tanaman dalam jumlah besar, tetapi juga menjamin benih yang dihasilkan bebas dari patogen dan kontaminan, sehingga meningkatkan keandalan budidaya kopi di lapangan (Ardiyani et al., 2020, 2021; Lizawati et al., 2023).

Beberapa penelitian sebelumnya telah banyak dilakukan pada spesies kopi lain, seperti *Coffea arabica* dan *Coffea canephora* (robusta), dengan menunjukkan keberhasilan dalam induksi kalus dan omatic nesis omatic melalui penggunaan eksplan daun. Salah satu kunci dari keberhasilan tersebut adalah penggunaan kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT), seperti auksin sintetik 2,4-D (*2,4-Diklorofenoksiasetat*) dan sitokinin BAP (*6-Benzilaminopurine*), yang terbukti efektif dalam memicu respons morfogenetik pada jaringan tanaman kopi (Ardiyani, 2015; Ardiyani et al., 2021; Lizawati et al., 2024).

Salah satu tahap penting dalam kultur jaringan adalah pembentukan kalus, yang menjadi dasar untuk regenerasi tanaman (Lizawati et al., 2020a). Kalus adalah massa sel-sel yang tidak terdiferensiasi, yang terbentuk sebagai respons terhadap perlakuan teknik kultur jaringan, dan proses ini sangat bergantung pada penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang tepat. ZPT, seperti auksin dan sitokinin, memainkan peran kunci dalam mendukung proses induksi kalus serta regenerasi sel-sel tanaman. Auksin, misalnya 2,4-D (*2,4-diklorofenoksiasetat*), dikenal efektif dalam merangsang dediferensiasi sel (Syahid & Seti, 2022), sedangkan sitokinin seperti BAP (*6-benzilaminopurin*) mendukung pembelahan sel serta diferensiasi jaringan (Avivi et al., 2022).

Interaksi antara auksin dan sitokinin dalam media kultur sangat krusial, karena konsentrasi yang berbeda dapat menghasilkan respons morfogenetik yang bervariasi. Penelitian pada tanaman lain menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP tertentu dapat memaksimalkan efisiensi pembentukan kalus. Sebagai contoh, pada tanaman *Talinum triangulare* kombinasi 2,4-D dan BAP terbukti menghasilkan kalus dengan laju pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan tunggal ZPT (Anggraeni et al., 2022). Oleh karena itu, perlu dilakukan optimalisasi kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP secara spesifik pada kopi liberika, yang hingga kini belum banyak dikaji secara ilmiah (Ibrahim & Hartati, 2017).

Karakteristik morfologi kalus yang terbentuk, seperti ukuran, warna, dan struktur, dapat memberi petunjuk tentang ersama sm dan potensi regeneratifnya. Parameter ini, bersama dengan pertimbangan konsentrasi ZPT, dapat digunakan untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan dan memandu penelitian lebih lanjut tentang kultur jaringan kopi liberika.

Meskipun sejumlah studi telah mengkaji efek 2,4-D dan BAP pada pembentukan kalus berbagai tanaman, termasuk kopi arabika dan robusta, masih sangat sedikit data ilmiah yang secara khusus membahas respons kopi liberika terhadap kombinasi kedua ZPT tersebut. Hal ini menunjukkan adanya kebutuhan untuk penelitian lebih lanjut dalam rangka mengoptimalkan teknik kultur jaringan pada kopi liberika. (Ardiyani et al., 2021).

Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan pengaruh interaksi konsentrasi auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) terhadap proliferasi kalus kopi liberika secara in vitro.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jambi. Dari bulan September-Desember 2024. Bahan pada penelitian ini menggunakan kalus kopi liberika dari hasil penelitian (Lizawati et al., 2024). Untuk media kultur Menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) dengan media pematik phytagel 2,5 gr. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 2,4-D dan BAP, serta ditambahkan sukrosa sebagai sumber karbon. Alat yang digunakan autoklaf, laminar airflow cabinet (LAFB), lemari pendingin, mikroskop, pH meter, timbangan analitik, serta berbagai peralatan laboratorium lainnya, seperti botol sprayer, kamera, lampu Bunsen, pinset, rak kultur, scalpel, dan alat tulis.

Proliferasi kalus kopi liberika

Subkultur kalus, siapkan kalus dari penelitian sebelumnya dan potong menjadi ukuran ± 0,5 cm dengan ukuran yang sama. Pemisahan kalus dilakukan menggunakan scalpel dan pinset yang telah disterilkan dengan alkohol 96%, kemudian dibakar sebentar dan didinginkan dalam air steril. Setiap botol kultur diisi satu kalus, setelah itu ditutup menggunakan plastik dan diikat dengan karet.

Rancangan Percobaan

Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) secara faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri atas dua taraf, yaitu 1 ppm (d1) dan 2 ppm (d2). Faktor kedua adalah konsentrasi BAP yang terdiri atas lima taraf, yaitu 1 ppm (b1), 2 ppm (b2), 3 ppm (b3), 4 ppm (b4), dan 5 ppm (b5). Kombinasi kedua faktor menghasilkan 10 perlakuan, masing-masing diulang sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 30 unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari 2 botol kultur, masing-masing berisi satu eksplan, sehingga total digunakan 60 botol kultur.

Analisis Data

Data kuantitatif, ukuran kalus, dan berat kalus dianalisis secara statistik menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%. Data kualitatif warna kalus dan struktur kalus disajikan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

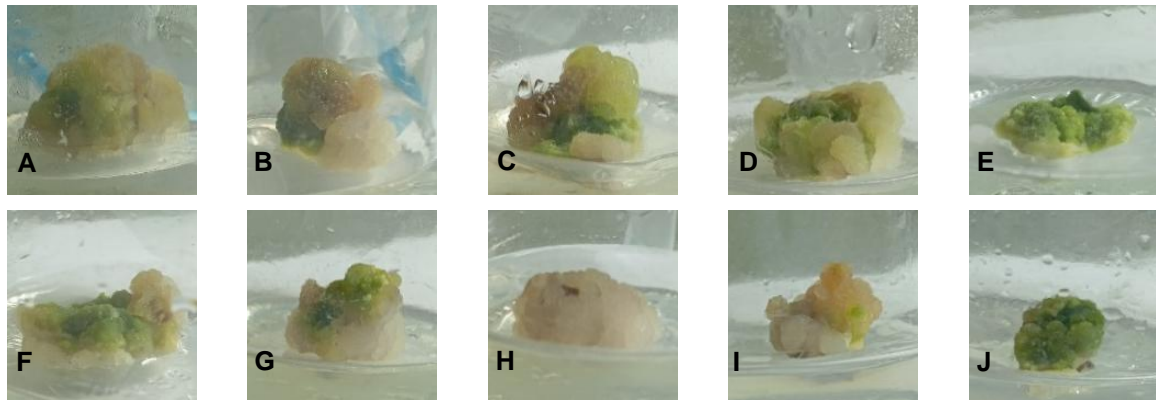
Warna kalus

Pengamatan terhadap warna kalus dilakukan secara visual. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D dan BAP yang berbeda berpengaruh terhadap variasi warna kalus yang terbentuk. Kalus yang dihasilkan menunjukkan beragam warna, seperti putih, putih kekuningan, dan hijau, dengan intensitas warna yang bervariasi tergantung pada kombinasi kedua hormon tersebut. Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel 1. dan didukung oleh dokumentasi visual gambar 1.

Tabel 1. Variasi Warna Kalus Kopi Liberika (*Coffea liberica*) pada Media MS dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP Berbeda (12 Minggu Setelah Kultur)

2,4-D	BAP				
	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm
1 ppm	Putih, Putih kekuningan, hijau, dominan putih kekuningan	Putih, Putih kekuningan, hijau, dominan putih kekuningan	Putih, Putih kekuningan, hijau, dominan putih kekuningan	Putih, Putih kekuningan, hijau, dominan putih kekuningan	Hijau terang, putih, dominan hijau
2 ppm	Putih, Putih kekuningan, hijau, dominan hijau	Putih, Putih kekuningan, hijau, dominan putih	Putih, Putih kekuningan, dominan putih	Putih, Putih kekuningan, hijau, dominan putih kekuningan	hijau

Keterangan: Warna kalus ditentukan berdasarkan hasil pengamatan visual secara langsung setelah 12 minggu setelah kultur



Gambar 1. Variasi Warna Kalus pada Perlakuan Konsentrasi 2,4-D dan BAP yang Berbeda (A). 1 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP (B). 1 ppm 2,4-D + 2 ppm BAP (C). 1 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP (D). 1 ppm 2,4-D + 4 ppm BAP (E). 1 ppm 2,4-D + 5 ppm BAP (F). 2 ppm 2,4-D + 1 ppm BAP (G). 2 ppm 2,4-D + 2 ppm BAP (H). 2 ppm 2,4-D + 3 ppm BAP (I). 2 ppm 2,4-D + 4 ppm BAP (J). 2 ppm 2,4-D + 5 ppm BAP

Berdasarkan Tabel 1 dan didukung oleh dokumentasi visual gambar 1, terlihat bahwa konsentrasi 2,4-D dan BAP yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap warna kalus. Warna kalus yang terbentuk bervariasi antara putih, putih kekuningan, hingga hijau, dengan dominasi warna yang berbeda-beda tergantung pada konsentrasi BAP. Pada Perlakuan 1 ppm 2,4-D + 1–4 ppm BAP dan 2 ppm 2,4-D + 1–4 ppm BAP, kalus umumnya berwarna putih kekuningan, dengan dominasi warna putih.

Sementara itu, pada kombinasi 1 ppm 2,4-D + 5 ppm BAP dan 2 ppm 2,4-D + 5 ppm BAP, kalus yang terbentuk berwarna hijau. Warna hijau ini sering kali menjadi indikator adanya peningkatan aktivitas fotosintetik, yang menunjukkan potensi perkembangan embriomatik lebih lanjut (Ekawati et al., 2022; Restanto et al., 2022).

Penelitian terdahulu juga mendukung temuan ini, menunjukkan bahwa konsentrasi tinggi dari BAP dapat menyebabkan peningkatan aktivitas metabolisme yang diindikasikan dengan perubahan warna kalus (Wulandari et al., 2022).

Struktur kalus

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D dan BAP yang berbeda berpengaruh terhadap variasi struktur kalus yang terbentuk. Kalus yang terbentuk yaitu kalus remah dan kalus kompak. Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Struktur Kalus Kopi Liberika (*Coffea liberica*) dengan Perlakuan Konsentrasi 2,4-D dan BAP pada Media MS (12 Minggu Setelah Kultur)

2,4-D	BAP				
	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm
1 ppm	remah	remah	remah	remah	kompak
2 ppm	remah	remah	remah	remah	kompak

Keterangan: struktur kalus ditentukan berdasarkan hasil pengamatan visual secara langsung 12 minggu setelah kultur.

Pengamatan struktur kalus menunjukkan variasi yang dipengaruhi oleh konsentrasi 2,4-D dan BAP yang berbeda. Pada konsentrasi BAP dari 1 hingga 4 ppm, baik dengan 1 ppm maupun 2 ppm 2,4-D, kalus cenderung memiliki struktur remah, lunak, dan tidak padat. Sebaliknya, pada kombinasi dengan konsentrasi BAP yang lebih tinggi (5 ppm), kalus yang terbentuk menunjukkan struktur yang lebih kompak dan padat. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi BAP, baik pada 1 ppm maupun 2 ppm 2,4-D, mampu merangsang pembentukan kalus dengan struktur yang lebih kuat dan terorganisir. Namun, pemilihan konsentrasi auksin dan sitokinin dalam kultur jaringan sangat krusial, di mana rasio kedua hormon ini dapat mempengaruhi morfologi kalus dan perkembangan strukturalnya.

Keseimbangan yang tepat antara hormon-hormon ini dapat mendorong pembentukan kalus embriogenik yang lebih efektif, yang merupakan faktor kunci dalam pemuliaan tanaman (Yanti & Wardana, 2023; Hapsoro et al., 2019; Ibrahim et al., 2018)

Ukuran Kalus (cm)

Hasil analisis ragam ukuran kalus menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh yang sangat signifikan ($p\text{-value} = 0,00$) terhadap ukuran kalus kopi liberika. Data rata-rata ukuran kalus dari masing-masing perlakuan disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Ukuran Kalus (cm) Kopi Liberika (*Coffea liberica*) pada Media MS dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP (12 Minggu Setelah Kultur)

2,4-D	BAP				
	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm
1 ppm	2,37 ± 0,19 ab	2,07 ± 0,17 b	1,92 ± 0,15 bc	2,66 ± 0,21 a	1,48 ± 0,12 c
	A	A	A	A	A
2 ppm	2,22 ± 0,18 a	1,77 ± 0,14 ab	1,63 ± 0,13 b	1,55 ± 0,12 b	1,33 ± 0,11 b
	A	A	A	B	A

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kapital yang sama pada kolom yang sama dan huruf kecil yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan berdasarkan Uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$. Nilai setelah tanda (\pm) menunjukkan standar error.

Berdasarkan hasil pengamatan ukuran kalus 12 minggu setelah kultur, terlihat bahwa interaksi antara konsentrasi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh yang berbeda terhadap rata-rata ukuran kalus kopi liberika. Pada perlakuan dengan 2,4-D 1 ppm, peningkatan konsentrasi BAP dari 1 hingga 5 ppm menunjukkan variasi ukuran kalus yang cukup signifikan. Ukuran kalus terbesar diperoleh pada kombinasi 2,4-D 1 ppm dengan BAP 4 ppm, yaitu sebesar 2,66 cm, yang berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya. Sebaliknya, kombinasi 2,4-D 1 ppm dengan BAP 5 ppm menghasilkan ukuran kalus terendah sebesar 1,48 cm, menandakan bahwa peningkatan BAP secara berlebihan justru dapat menurunkan pertumbuhan kalus (Avila-Victor et al., 2023; Junairiah et al., 2018).

Sementara itu, pada perlakuan 2,4-D 2 ppm, ukuran kalus tertinggi dicapai pada kombinasi dengan BAP 1 ppm, yaitu 2,22 cm, dan nilai ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan BAP 2 ppm (1,77 cm). Namun, terjadi penurunan ukuran kalus secara bertahap pada kombinasi BAP 3 hingga 5 ppm, dengan ukuran terendah ditemukan pada kombinasi 2,4-D 2 ppm dan BAP 5 ppm sebesar 1,33 cm. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan BAP tidak selalu memberikan efek positif terhadap proliferasi kalus, terutama pada tingkat konsentrasi 2,4-D yang lebih tinggi. Hal ini sejalan dengan pendapat beberapa peneliti bahwa keseimbangan antara auksin dan sitokinin sangat penting untuk mencapai proliferasi kalus yang optimal (Lizawati et al., 2024).

Jika dibandingkan antara perlakuan 2,4-D 1 ppm dan 2 ppm, rata-rata ukuran kalus cenderung lebih tinggi pada 1 ppm 2,4-D, khususnya pada kombinasi dengan BAP 4 ppm. Dengan demikian, perlakuan terbaik dalam penelitian ini diperoleh pada kombinasi 2,4-D 1 ppm dan BAP 4 ppm, yang menghasilkan kalus dengan ukuran rata-rata paling besar (2,66 cm) dan berbeda nyata dari kombinasi lainnya. Kombinasi ini menunjukkan bahwa interaksi antara 2,4-D konsentrasi rendah dan BAP pada tingkat sedang mampu merangsang pertumbuhan kalus secara optimal (Castro et al., 2016).

Berat Kalus (g)

Hasil analisis ragam berat kalus menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi 2,4-D dan BAP memberikan pengaruh yang sangat signifikan ($p\text{-value} = 0,00$) terhadap berat kalus kopi liberika. Data rata-rata berat kalus dari masing-masing perlakuan disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Berat Kalus (g) Kopi Liberika (*Coffea liberica*) pada Media MS dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP (12 Minggu Setelah Kultur)

2,4-D	BAP				
	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm
1 ppm	2,74 ± 0,20 a A	2,59 ± 0,19 a A	2,44 ± 0,18 a A	2,67 ± 0,20 a A	0,91 ± 0,07b A
2 ppm	2,90 ± 0,21 a A	1,52 ± 0,11 b B	1,22 ± 0,09 bc B	1,07 ± 0,08 cd B	0,76 ± 0,06 d A

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kapital yang sama pada kolom yang sama dan huruf kecil yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan berdasarkan Uji BNT pada taraf $\alpha = 5\%$. Nilai setelah tanda (\pm) menunjukkan standar error.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap berat kalus kopi liberika 12 minggu setelah kultur, terlihat bahwa interaksi antara 2,4-D dan BAP menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap pembentukan kalus. Pada perlakuan 2,4-D 1 ppm, berat kalus tertinggi diperoleh pada kombinasi dengan BAP 1 ppm, yaitu sebesar 2,74 g, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan BAP 2 ppm (2,59 g), BAP 3 ppm (2,44 g), dan BAP 4 ppm (2,67 g). Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2,4-D yang rendah, kisaran BAP antara 1 hingga 4 ppm masih mampu mendukung pembentukan kalus secara optimal. Namun, rasti konsentrasi BAP ditingkatkan hingga 5 ppm, berat kalus menurun rastic menjadi 0,91 g, dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya dalam baris yang sama. Ini mengindikasikan bahwa pemberian BAP secara berlebihan dapat menghambat akumulasi biomassa kalus (Resmisari & Rahmah, 2022).

Sementara itu, pada perlakuan 2,4-D 2 ppm, berat kalus tertinggi diperoleh pada kombinasi dengan BAP 1 ppm, yaitu 2,90 g, bahkan sedikit lebih tinggi dibandingkan perlakuan 2,4-D 1 ppm dan BAP 1 ppm. Namun, berat kalus mengalami penurunan signifikan seiring meningkatnya konsentrasi BAP, yaitu menjadi 1,52 g pada BAP 2 ppm, 1,22 g pada BAP 3 ppm, 1,07 g pada BAP 4 ppm, dan mencapai berat terendah sebesar 0,76 g pada BAP 5 ppm. Dari hasil ini terlihat bahwa peningkatan BAP secara bertahap pada tingkat 2,4-D 2 ppm justru berdampak negatif terhadap berat kalus, yang ditunjukkan oleh perbedaan nyata antar perlakuan dalam satu baris. Hal ini, menekankan pentingnya konsentrasi auksin dan sitokinin yang tepat untuk mencapai hasil yang optimal dalam kultur jaringan (Samanta et al., 2019).

Jika dibandingkan antara kedua tingkat 2,4-D, yaitu 1 ppm dan 2 ppm, kombinasi 2,4-D 2 ppm dan BAP 1 ppm menghasilkan berat kalus tertinggi sebesar 2,90 g, meskipun tidak berbeda nyata dengan kombinasi 2,4-D 1 ppm dan BAP 1 ppm (2,74 g). Namun, penurunan berat kalus akibat peningkatan BAP lebih tajam terjadi pada 2,4-D 2 ppm dibandingkan 1 ppm. Oleh karena itu, perlakuan terbaik dalam penelitian ini adalah kombinasi 2,4-D 2 ppm dan BAP 1 ppm, yang menghasilkan berat kalus tertinggi, dan tetap stabil secara statistik dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara auksin dan sitokinin pada konsentrasi yang tepat sangat berpengaruh terhadap akumulasi biomassa kalus kopi liberika secara in vitro (Lizawati et al., 2020b).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi 2,4-D dan BAP berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus kopi liberika. Kombinasi 2,4-D 1 ppm dan BAP 4 ppm menghasilkan ukuran kalus terbesar, sedangkan kombinasi 2,4-D 2 ppm dan BAP 1 ppm menghasilkan berat kalus tertinggi. Kalus yang terbentuk memiliki warna bervariasi, mulai dari putih, putih kekuningan, hingga hijau, dan struktur yang berbeda, yaitu remah dan kompak. Namun, pemberian BAP dalam konsentrasi tinggi (5 ppm) justru menghambat pertumbuhan kalus, baik dari segi ukuran maupun berat. Hal ini menunjukkan bahwa keseimbangan antara auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) sangat penting dalam mendukung pembentukan dan perkembangan kalus. Secara umum, kombinasi ZPT dengan dosis rendah hingga sedang lebih efektif dalam merangsang pertumbuhan kalus kopi liberika secara optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ammaria Wulandari, M., Silva, S., Nuron Rizky, Z., Sarianti, J., Zulaikha, S., Nurokhman, A., Yachya, A., Handayani, T., Syarifah, & Afriansyah, D. (2022). Pengaruh 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) DAN Benzyl Amino Purine (BAP) terhadap induksi Kalus dari berbagai jenis eksplan tanaman Duku (*Lansium domesticum* Corr.). *Stigma: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 15(01), 38–45. <https://doi.org/10.36456/stigma.15.01.5606.38-45>
- Anggraeni, D., Ismaini, L., Surya, M. I., Rahmi, H., & Saputro, N. W. (2022). Inisiasi Kalus Daun *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd pada beberapa kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-Dichlorophenoxyatic Acid dan Benzyl Adenine. *Agrikultura*, 33(3), 276. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v33i3.40540>
- Ardiyani, F. (2015). Morphological characterization and identification of *Coffea liberica* Callus of somatic embryogenesis propagation. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 31(2), 81–89. <https://doi.org/10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v31i2.168>
- Ardiyani, F., Setiti Wida Utami, E., & Purnobasuki, H. (2021). Optimisation of auxin and cytokinin on enhanced quality and weight of *Coffea liberica* somatic embryos. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 37(1), 1–12. <https://doi.org/10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v37i1.460>
- Ardiyani, F., Utami, E. S. W., Purnobasuki, H., & Paramita, S. A. (2020). Development and regeneration of somatic embryos from leaves-derived Calli of *Coffea Liberica*. *Biodiversitas*, 21(12), 5829–5834. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211246>
- Avila-Victor, C. M., Arjona-Suárez, E. de J., Iracheta-Donjuan, L., Valdez-Carrasco, J. M., Gómez-Merino, F. C., & Robledo-Paz, A. (2023). Callus type, growth regulators, and phytigel on indirect somatic embryogenesis of coffee (*Coffea arabica* L. var. Colombia). *Plants*, 12(20). <https://doi.org/10.3390/plants12203570>
- Avivi, S., Mohammad Ubaidillah, Setiyono, & Rifngatul 'Atiqoh. (2022). Pengaruh BAP, IAA, dan jenis eksplan terhadap efisiensi regenerasi Tomat Fortuna 23. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 50(3), 307–314. <https://doi.org/10.24831/jai.v50i3.41988>
- Castro, A. H. F., Braga, K. de Q., de Sousa, F. M., Coimbra, M. C., & Chagas, R. C. R. (2016). Callus induction and bioactive phenolic compounds production from *Byrsonima verbascifolia* (L.) DC. (*Malpighiaceae*). *Revista Ciencia Agronomica*, 47(1), 143–151. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160017>
- Dwi Yanti, F. F., & Wardana, R. (2023). Induksi Kalus Sorgum *Sorghum bicolor* (L.) pada kombinasi 2,4-d dan BAP secara in vitro. *Jurnal Javanica*, 2(2), 72–80. <https://doi.org/10.57203/javanica.v2i2.2023.72-80>
- Ekawati, Y., Anggraeni, A., Dyah Prawestri, A., & Nurtjahya, E. (2022). Induksi kalus sisik Umbi Lilium longiflorum Thunb. oleh auksin dan sitokinin, serta respons pertumbuhannya secara in vitro. *Agrosainstek: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*, 6(2), 28–37. <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v6i2.316>
- Hapsoro, D., Setiawan, D., Hamiranti, R., & Yusnita. (2019). Pengaruh 2-Ip, BA, 2,4-D, dan TDZ pada embriogenesis somatik in vitro Kopi Robusta Unggul Lampung *Agrotek*, 7(3), 527–537. <https://jurnal.fp.unila.ac.id/index.php/JA/article/view/3545>
- 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. <https://doi.org/10.21082/jtidp.v4n3.2017.p121-132>
- Ibrahim, M. S. D., Hartati, R. S., Reflinur, R., & Sudarsono, S. (2018). Induction of secondary somatic embryos of Arabica coffee and detection somaclonal variation using SSRs marker. *Jurnal Littri*, 24(1), 10. <http://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/jptip/article/view/5941>
- Junairiah, Purnomo, Utami, E. S. W., Ni'matuzahroh, & Sulistyorini, L. (2018). Callus induction of piper betle var nigra using 2,4-Dichlorofenoxyacetic Acid and 6-Benzil Aminopurin. *Biosaintifika*, 10(3), 588–596. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v10i3.15962>
- Kulsum, U. (2023). Liberica Coffee cultivation farming business development strategy, maeketing/production of Liberica Coffee in Andungbiru, Tiris, Prob olinggo Village. *Jurnal Agribisnis - Universitas Terbuka*, 01(November 2022).

- Lizawati, Kartika, E., Antony, D., & Purnamaningsih, R. (2024). Optimization of the growth regulator concentration for the induction of somatic embryogenesis of Liberica Coffee (*Coffea liberica L.* cv. Liberica Tungkal Composite). *Analele Universitatii Din Oradea, Fascicula Biologie*, 31(1), 7–14.
- Lizawati, L., Zulkarnain, Z., Antony, D., & Purnamaningsih, R. (2023). The effect of 2,4-D, BA and Thidiazuron on somatic embryo induction of liberica coffee of Tungkal Composite from Jambi. *E3S Web of Conferences*, 373. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202337303012>
- Lizawati, L., Zulkarnain, Z., & Neliyati, N. (2020a). In vitro callus development on immature leaf explants of Liberica Coffee (*Coffea liberica L.* cv. Liberika Tungkal Komposit) by the Application of 2.4-D and BAP. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(2), 111. <https://doi.org/10.24252/bio.v8i2.11769>
- Lizawati, L., Zulkarnain, Z., & Neliyati, N. (2020b). The effect of 2,4-D and 2-iP on callus proliferation and development on immature leaf explants of liberica coffee (*Coffea liberica L.*). *Analele Universitatii Din Oradea, Fascicula Biologie*, 27(1), 39–42.
- Ramadhillah, B., & Masjud, Y. I. (2024). Climate change impacts on coffee production in Indonesia: A review. *Journal of Critical Ecology*, 1(1), 1–7. <https://doi.org/10.61511/jcreco.v1i1.645>
- Resmisari, R. S., & Rahmah, A. (2022). *Schleichera oleosa* (Molck.) Oken Callus Induced BAP and 2,4 D In vitro. *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 8(4), 118–123. <https://doi.org/10.18860/elha.v8i4.15719>
- Restanto, D. P., Farlisa, V. Y., Dewanti, P., Hariyono, K., & Handoyo, T. (2022). Induksi somatic embriogenesis dan kultur suspensi sel pada Tanaman Porang (*Amorphophallus muelleri Blume*). *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 6(2), 111–123. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v6i2.448>
- Samanta, D., Mallick, B., & Roy, D. (2019). In vitro clonal propagation, organogenesis and somatic embryogenesis in *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. *Plant Science Today*, 6(4), 442–449. <https://doi.org/10.14719/pst.2019.6.4.600>
- Syahid, S. F., & Seti, L. (2022). Callus regeneration of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. in vitro. *Jurnal Biologi UNAND*, 10(1), 15. <https://doi.org/10.25077/jbioua.10.1.15-22.2022>