

INDUKSI KALUS EKSPLAN DAUN KOPI ROBUSTA DENGAN PENAMBAHAN BERBAGAI KONSETRASI 1-NAPHTHALENEACETIX ACID (NAA) SECARA *IN VITRO*

Induction of Robusta Coffee Leaf Explant Callus With the Addition of Various Concentrations 1-Naphthaleneacetix Acid (NAA) In Vitro

Ego^{1*}, Rosin Anika², Siti Khania³, Okta Viola Sudanto⁴, Jumita⁵ Maera Zasari⁶

^{1*, 2, 3, 4} Programstudi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Perikanan dan Kelautan, Universitas Bangka Belitung,
Jl. Raya Balunijuk, Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung, 33125

* Penulis Korespondensi: E-mail: egoe321@gmail.com

ABSTRACT

Increasing coffee growth can be done by inducing callus through in vitro culture propagation using Murashige and Skoog (MS) media with the addition of various concentrations of NAA. This research aims to determine the growth of coffee leaf callus explants in MS media with the addition of various concentrations of NAA in vitro and find out which concentration is best for the growth of coffee leaf callus explants in MS media in vitro. Coffee callus explants were cultured in MS media with the addition of various concentrations of NAA. This research used a randomized block design (CRD) and data was analyzed in percentage terms. The results of the research showed that the treatment of adding an NAA concentration of 2 ppm to MS media could increase the growth percentage of robusta coffee leaf callus explants. An NAA concentration of 2 ppm is the best concentration for culturally propagating coffee leaf callus explants in vitro.

Key words: *Coffee, Callus Induction, MS Media, NAA, In vitro.*

ABSTRAK

Pertumbuhan kopi dapat ditingkatkan dengan induksi kalus melalui perbanyakan secara kultur jaringan dengan menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan eksplan kalus daun kopi dalam media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA secara *in vitro* serta mengetahui konsentrasi mana yang terbaik untuk pertumbuhan eksplan kalus daun kopi dalam media MS secara *in vitro*. Eksplan kalus kopi dikulturkan dalam media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAL) dan data dianalisis secara persentase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan konsentrasi NAA sebesar 2 ppm pada media MS dapat meningkatkan persentase pertumbuhan eksplan kalus daun kopi robusta. Konsentrasi NAA sebanyak 2 ppm merupakan konsentrasi yang terbaik untuk perbanyakan eksplan kalus daun kopi secara kultur *in vitro*.

Kata kunci: *Kopi, Induksi Kalus, Media MS, NAA, In vitro.*

PENDAHULUAN

Kopi menjadi salah satu komoditas tanaman perkebunan yang banyak dibudidayakan karena mempunyai nilai jual yang cukup tinggi di dibandingkan dengan tanaman perkebunan lainnya dan memiliki peran penting dalam meningkatkan sumber devisa negara (Caron & Markusen, 2023). Tanaman kopi banyak di budidayakan hampir di seluruh wilayah Indonesia, termasuk Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik, (2024) produksi kopi di

Indonesia pada tahun 2023 mencapai 758.725 ton, dan Provinsi Kepulauan Bangka Belitung menyumbang produksi kopi pada tahun 2023 sebesar 86 ton, angka ini mengalami peningkatan dari tahun 2022 yang produksinya hanya 59 ton. Salah satu jenis kopi yang banyak di budidayakan di Indonesia dan Provinsi Kepulauan Bangka Belitung yaitu kopi robusta karena dapat tumbuh dengan baik pada daerah yang memiliki ketinggian 300-700 mdpl (Dewanti *et al.*, 2024; Harun, 2022). Jenis biji kopi Robusta banyak di produksi di Indonesia mencapai 87,1% dari keseluruhan total produksi kopi di Indonesia (Aristoteles *et al.*, 2022). Kopi robusta banyak di tanam dan digemari (Hanik *et al.* 2023). Kopi robusta banyak digemari karena mempunyai cita rasa dan aroma yang khas (Apriyanti, 2022). Seiring dengan meningkatnya peminat kopi di Indonesia, maka perlu dilakukan upaya perbanyak tanaman kopi secara optimal agar dapat meningkatkan hasil produksi.

Secara umum, tanaman kopi banyak diperbanyak melalui metode perbanyak vegetatif dan generatif, namun kedua perbanyak ini dianggap kurang efektif karena pertumbuhan kopi menjadi tidak optimal dan memerlukan waktu yang lama (Suhendra & Rezki, 2022). Perbanyak tanaman kopi secara konvensional dapat dilakukan dengan melalui perbanyak generatif menggunakan biji dan perbanyak vegetatif melalui stek, sambung pucuk dan okulasi, tetapi kedua sistem perbanyak tersebut memiliki banyak kekurangan seperti proses yang sangat lama, sifat morfologi anakan berbeda dengan induknya, terbatasnya jumlah bahan tanam sehingga produksi bibit menjadi terbatas (Zulfitra *et al.*, 2018). Berdasarkan hal tersebut, diperlukan metode perbanyak alternatif lainnya yang dapat menghasilkan hasil yang lebih banyak dan prosesnya yang cepat. Salah satu metode perbanyak yang dapat diterapkan dengan melalui kultur *in vitro*.

Kultur *in vitro* adalah metode perbanyak tanaman kopi yang memanfaatkan bagian-bagian dari tanaman kopi seperti tunas, biji, batang, akar, daun dan bagian-bagian lain dari tanaman yang dapat ditumbuhkan dalam media tanam yang mengandung nutrisi dan zat pengatur tumbuh (ZPT) di dalam botol atau wadah tertutup (Nagari *et al.* 2024). Perbanyak tanaman kopi melalui kultur *in vitro* dapat menghasilkan banyak bibit dalam waktu yang singkat, jumlahnya banyak, sehat, seragam dan bebas dari patogen (Sari *et al.* 2024 ; Vettorazzi *et al.* 2019). Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan dalam perbanyak tanaman kopi pada kultur *in vitro* yaitu media tumbuh (Sandy *et al.* 2022).

Terdapat berbagai jenis media tumbuh untuk perbanyak tanaman secara kultur *in vitro* seperti media kultur Knudson'C (KC), Vacin dan Went (VW), Murashige dan Skoog (MS), yang dapat menggunakan bahan tambahan media dan atau tanpa tambahan media organik dan anorganik (Garvita & Damhuri 2022 ; Isada 2024). Media MS merupakan jenis media yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* tanaman kopi, karena mengandung banyak unsur hara dan vitamin yang dibutuhkan oleh tanaman kopi, sehingga pertumbuhan kopi dapat tumbuh dengan baik (Hunhoff *et al.* 2018 ; Isda & Wusqa 2024).

Perkembangbiakan dalam kultur jaringan dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis somatik (Khozin & Restanto, 2022). Perbanyak kopi melalui embriogenesis somatik dari berbagai jenis sumber eksplan telah dilakukan dengan menggunakan kultur anther, akar, biji, daun, epikotil dan kultur meristem (Ibrahim *et al.*, 2013). Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan daun kopi memiliki respon pertumbuhan paling baik dalam menghasilkan jumlah embrio somatik terbanyak dibandingkan dengan bagian tanaman lainnya (Asmono *et al.*, 2021). Upaya untuk memperbanyak tanaman kopi melalui teknik kultur jaringan telah dilakukan sejak lama, namun hingga sekarang hasil yang diperoleh masih belum memuaskan dan masih menghadapi berbagai tantangan. Hal ini disebabkan oleh variasi kemampuan regenerasi spesies kopi yang menggunakan teknik embriogenesis somatik, yang dipengaruhi oleh media, spesies yang dikulturkan, lingkungan, serta hormon pertumbuhan tanaman yang digunakan (Imanuel, 2023). Upaya peningkatan pertumbuhan eksplan daun kopi secara *in vitro* dapat ditambahkan dengan pemberian zat pengatur tubuh (Rismayanti & Nafi'ah, 2021).

Penggunaan zat pengatur tubuh sering digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan pada media kultur *in vitro*. Senyawa yang umumnya digunakan untuk menginduksi embrio somatik adalah zat pengatur tumbuh dari kelompok auksin seperti, IAA, IBA, Picloram, 2,4-D dan NAA, pada umumnya auksin berfungsi untuk merangsang pemanjangan dan pembelahan sel, struktur embrio

somatik dan pembentukan kalus embriogenik (Sumadji, 2015). Salah satu jenis zat pengatur tumbuh dari kelompok auksin yang sering digunakan adalah *1-Naphthaleneacetix Acid* (NAA). Penambahan NAA ke dalam komposisi media yang digunakan serta pada jenis tanaman yang akan diperbanyak dapat meningkatkan multiplikasi tanaman dalam kultur jaringan (Wahyuni *et al.*, 2020)

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan eksplan kalus daun kopi pada media pertumbuhan MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA secara *in vitro* serta mengetahui konsentrasi mana yang terbaik untuk pertumbuhan eksplan kalus daun kopi dalam media MS secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai Oktober 2024. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Program Studi Agroteknologi, Jurusan Pertanian, Fakultas Pertanian, Perikanan dan Kelautan, Universitas Bangka Belitung. Bahan utama yang digunakan adalah daun kopi robusta. Eksplan dikulturkan dalam media MS dengan tambahan pemberian NAA dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm dan 4 ppm.

Botol-botol yang telah berisi 2 eksplan disusun dalam rancangan acak kelompok (RAL), yang terdiri atas 4 taraf perlakuan yaitu (N1) = 1 ppm NAA, (N2) = 2 ppm NAA, (N3) = 3 ppm NAA dan (N4) = 4 ppm NAA, setiap perlakuan terdiri dilakukan 5 kali ulangan sehingga terdapat 20 unit percobaan. Selanjutnya, kultur tersebut disimpan di ruangan inkubasi dengan 22 °C dan dilakukan penyinaran dengan menggunakan lampu *flourescent* (TL) (Zasari *et al.* 2015). Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu sekali. Parameter pengamatan yang diamati meliputi persentase tumbuh kalus, *browning* dan kontaminasi.

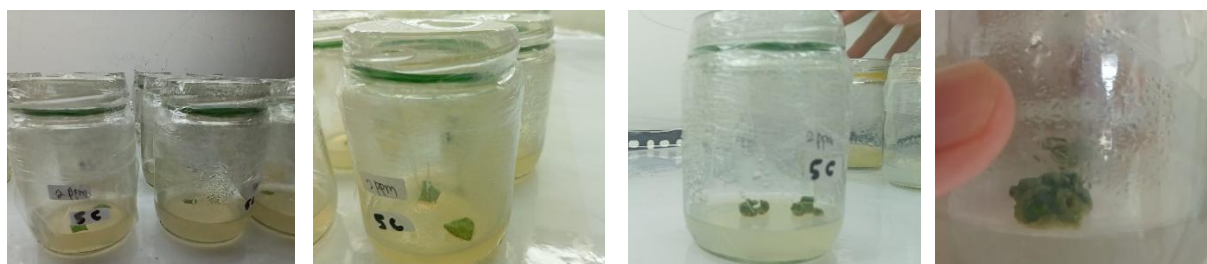
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan dari berbagai konsentrasi pada media MS dapat menghasilkan pertumbuhan pada eksplan kalus daun kopi. Persentase tumbuh eksplan kopi, kontaminasi dan *browning* didapatkan dari perhitungan dengan melihat jumlah eksplan yang masih tumbuh, jumlah eksplan yang terkontaminasi, jumlah eksplan yang *browning* dibagi jumlah tunas yang sudah ditanam $\times 100\%$.

Tabel 1. Hasil pertumbuhan kalus, kontaminasi dan *browning* eksplan daun kopi pada media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA.

Perlakuan	Peubah yang diamati		
	Pertumbuhan Kalus (%)	Kontaminasi (%)	Browning (%)
K1 = 1 ppm NAA	0	80	20
K2 = 2 ppm NAA	80	0	20
K3 = 3 ppm NAA	0	80	20
K4 = 4 ppm NAA	20	80	0

Eksplan daun kopi pada media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA menunjukkan terjadi pertumbuhan. Konsentrasi NAA 2 ppm merupakan konsentrasi yang memiliki pertumbuhan sampai membentuk kalus. Hal ini dapat dilihat dari pertumbuhan kalus dari minggu ke 2 sampai minggu ke 8 seperti yang terlihat pada (Gambar 1).



Minggu ke-2

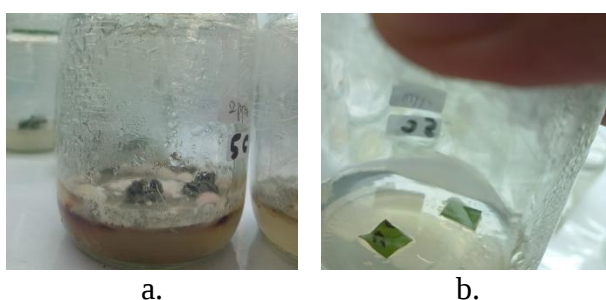
Minggu ke-4

Minggu ke-6

Minggu ke-8

Gambar 1. Hasil pertumbuhan eksplan kalus daun kopi pada media MS dengan konsentrasi NAA 2 ppm.

Eksplan daun kopi pada media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA menunjukkan terjadi kontaminasi dan browning (Gambar 2).

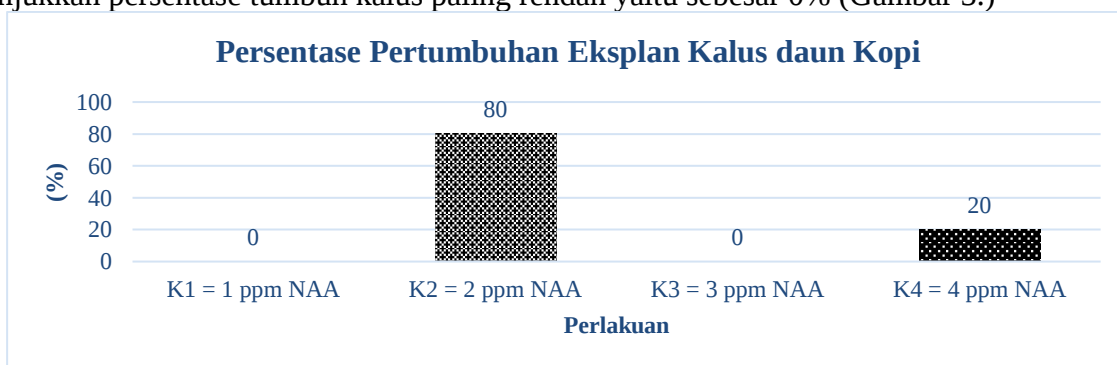


a.

b.

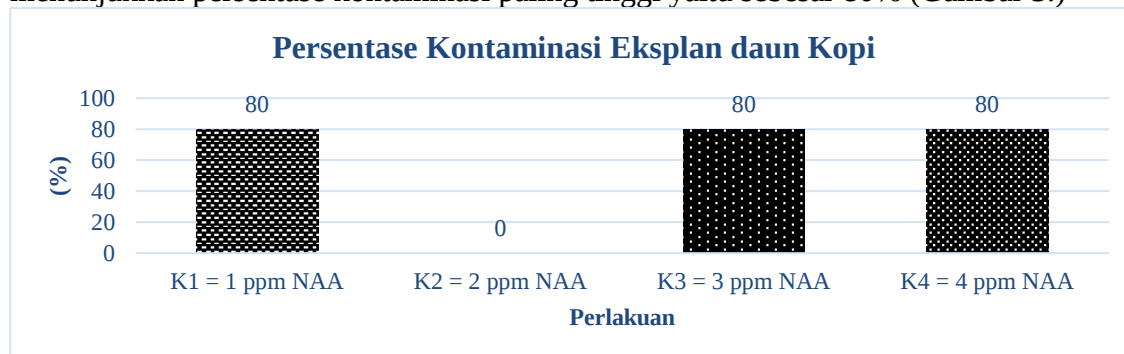
Gambar 2. Hasil eksplan kalus daun kopi pada media MS dengan konsentrasi NAA yang mengalami a) kontaminasi; b) browning.

Konsentrasi NAA sebanyak 2 ppm pada media MS menunjukkan eksplan daun kopi yang memiliki persentase tumbuh kalus paling tinggi yaitu 80% sedangkan konsentrasi 1 dan 3 ppm NAA menunjukkan persentase tumbuh kalus paling rendah yaitu sebesar 0% (Gambar 3.)



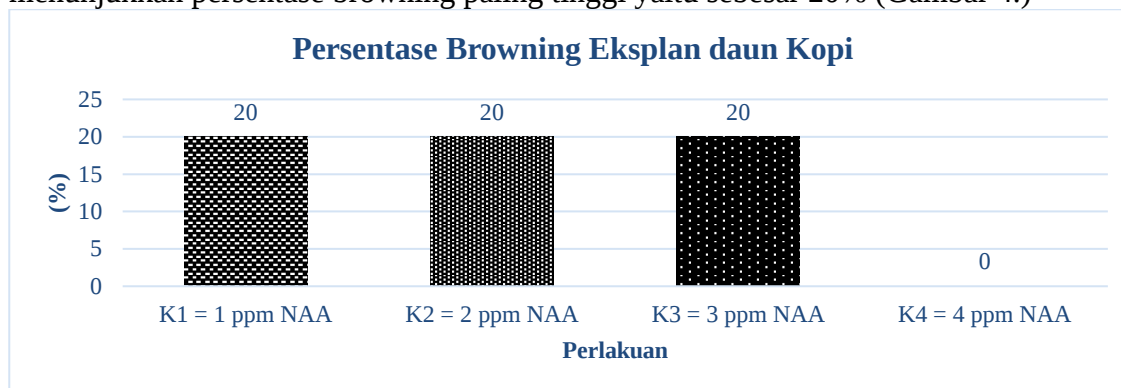
Gambar 3. Persentase pertumbuhan eksplan kalus daun kopi pada media MS dengan berbagai konsentrasi NAA.

Konsentrasi NAA sebanyak 2 ppm pada media MS menunjukkan eksplan daun kopi yang memiliki persentase kontaminasi paling rendah yaitu 0% sedangkan konsentrasi 1, 3 dan 4 ppm NAA menunjukkan persentase kontaminasi paling tinggi yaitu sebesar 80% (Gambar 3.)



Gambar 3. Persentase kontaminasi eksplan kalus daun kopi pada media MS dengan berbagai konsentrasi NAA.

Konsentrasi NAA sebanyak 4 ppm pada media MS menunjukkan eksplan daun kopi yang memiliki persentase browning paling rendah yaitu 0% sedangkan konsentrasi 1, 2 dan 3 ppm NAA menunjukkan persentase browning paling tinggi yaitu sebesar 20% (Gambar 4.)



Gambar 4. Persentase browning eksplan kalus daun kopi pada media MS dengan berbagai konsentrasi NAA.

Tahapan pembentukan kalus diawali dengan inisiasi kalus dari eksplan. Dalam penelitian ini inisiasi dilakukan menggunakan eksplan daun kopi. Pengamatan pada berbagai konsentrasi NAA ternyata tidak langsung membentuk kalus, namun didahului dengan pembengkakan jaringan daun, kemudian membentuk kalus seperti granul atau pembengkakan pada bagian pinggir daun seperti yang terlihat pada (Gambar 1). Wahyuni *et al.*, (2020) menyebutkan bahwa pembentukan kalus dapat terjadi karena eksplan yang memiliki jaringan meristematik berinteraksi secara langsung dengan zat pengatur tumbuh yang terdapat dalam media. Lutfiani *et al.*, (2022) menyatakan bahwa pembengkakan eksplan merupakan pemanjangan sel yang disebabkan adanya penambahan NAA. Hal ini sejalan dengan penelitian Ibrahim *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa pemberian hormon auksin seperti NAA dapat membentuk kalus pada daun kopi.

Pertumbuhan kalus menunjukkan pertumbuhan seiring dengan bertambahnya waktu, hal ini dapat dilihat seperti (Gambar 1), yang menunjukkan pertumbuhan kalus, hal ini dipengaruhi berbagai faktor salah satunya pemberian NAA. Wahyuni *et al.*, (2020) menyatakan bahwa pemberian berbagai konsentrasi NAA mampu mempercepat waktu munculnya kalus. Sinaulan *et al.*, (2019) menyatakan pembentukan kalus pada ujung eksplan dimulai dengan pembesaran sel-sel epidermis di bagian atas, yang kemudian sel-selnya membelah menjadi dua. Pembengkakan pada eksplan menunjukkan bahwa eksplan merespons media yang diberikan. Zakiah & Turnip, (2024) menyatakan bahwa media tersebut diserap oleh eksplan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan kalus yang kemudian akan ditandai dengan tahap proliferasi (perbanyakkan sel). Wahyuningtyas, (2024) menyatakan bahwa ketika tanaman mengalami luka, maka kalus akan terbentuk sebagai akibat dari kerusakan dan pemecahan sel, dari sel-sel yang rusak tersebut, di hasilkan senyawa-senyawa yang memicu pembelahan sel di lapisan berikutnya, sehingga terbentuk gumpalan sel-sel yang terdiferensiasi.

Persentase pertumbuhan eksplan kalus daun kopi pada media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA menunjukkan bahwa dengan penambahan konsentrasi NAA sebanyak 2 ppm menunjukkan persentase tumbuh yang dihasilkan sebesar 80% yang merupakan perlakuan yang memiliki persentase tumbuh paling tinggi. Setyorini, (2021) menyatakan bahwa penambahan NAA ke dalam media kultur jaringan mampu mempengaruhi pembentukan kalus, hal ini disebabkan hormon auksin pada tingkat moderat sampai tinggi merupakan hormon primer dalam produksi kalus. Arianto *et al.*, (2013) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh pada media tanam akan berdifusi ke dalam jaringan tanaman melalui pangkal eksplan yang terluka akibat irisan, kemudian zat pengatur tumbuh yang telah diserap akan menstimulasi terjadinya pembelahan sel, terutama sel-sel yang berada pada pangkal sekitar perlukaan eksplan. Lutfiani *et al.* (2022) mengatakan bahwa tingginya persentase eksplan tumbuh disebabkan karena kandungan yang ada di media yang digunakan. Praseptiana *et al.* (2017) mengatakan bahwa adanya kandungan hormon endogen pada eksplan serta

nutrisi pada media MS dengan tambahan konsentrasi NAA dapat digunakan eksplan untuk menginduksi pertumbuhan kalus. Ego *et al.*, (2024) menyatakan bahwa kandungan endogen yang dimiliki eksplan dapat berfungsi dalam melakukan pembelahan sel dan mengatur pertumbuhan serta perkembangan dari eksplan. Elma *et al.* (2017) menyatakan bahwa rendahnya persentase tumbuh eksplan disebabkan eksplan sangat bergantung pada faktor endogen dari eksplan tersebut, serta kurangnya kandungan nutrisi pada media yang digunakan.

Eksplan kalus daun kopi pada media MS yang ditambah berbagai konsentrasi NAA mengalami browning pada kalus daun kopi. Konsentrasi NAA 4 ppm merupakan konsentrasi yang tidak mengalami browning pada kalus daun kopi, konsentrasi NAA 1,2 dan 3 ppm mengalami browning sebesar 20%. Browning terjadi pada kalus daun kopi yang membentuk warna coklat seperti pada (Gambar 2b). Illahi *et al.*, (2022) menyatakan bahwa pencoklatan (*browning*) merupakan suatu karakteristik yang ditandai dengan munculnya warna coklat atau hitam yang sering kali menyebabkan pertumbuhan kalus menjadi terhambat. Rismayanti & Nafi'ah, (2021) menyatakan bahwa seiring dengan pertumbuhan kalus, warna kalus akan mengalami perubahan yang dimulai dari warna kuning kecoklatan menjadi cokelat dan akhirnya menjadi warna cokelat gelap. Wulandari *et al.*, (2022) menyatakan bahwa warna kuning kecoklatan pada kalus disebabkan adanya keberadaan klorofil yang terdapat dalam kalus, warna kalus menunjukkan adanya kandungan klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus maka semakin tinggi pula kandungan klorofil yang tersedia. Ningseh *et al.*, (2024) menyatakan terjadinya perubahan warna kalus dari kecoklatan atau dari kuning menjadi putih kekuningan selanjutnya menjadi kehijauan, menandakan adanya morfogenesis atau menunjukkan tanda bahwa kalus yang diregenerasikan mampu membentuk tunas. Rismayanti & Nafi'ah, (2021) kalus yang mengalami *browning* disebabkan oleh bertambahnya umur sel atau jaringan pada kalus, perubahan warna ini merupakan bentuk respons terhadap stres pada kalus, yang merangsang produksi enzim tertentu untuk menghasilkan senyawa fenol sebagai mekanisme pertahanan diri yang menyebabkan terjadinya degradasi klorofil dalam sel-sel kalus.

Parameter pengamatan kontaminasi eksplan daun kopi menunjukkan bahwa konsentrasi NAA 2 ppm menunjukkan persentase kontaminasi paling rendah yaitu 0% sedangkan perlakuan konsentrasi NAA sebesar 1, 3 dan 4 ppm menunjukkan persentase kontaminasi paling tinggi yaitu 80%. Kontaminasi pada eksplan kalus daun kopi seperti pada (Gambar 2a). Kontaminasi merupakan salah satu faktor yang membatasi metode perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan (Andriani & Heriansyah, 2021). Kontaminasi dapat berasal dari eksplan (baik dari dalam maupun luar), botol kultur atau peralatan yang tidak steril, organisme kecil yang masuk ke dalam media, ruang kultur yang kurang steril (spora di udara) dan lingkungan kerja (Tarigan *et al.*, 2024). Kontaminasi dalam kultur jaringan lebih banyak didominasi oleh jenis jamur dibandingkan dengan mikroba lainnya (Handayani *et al.*, 2022). Rahman, (2023), menyatakan bahwa kontaminasi yang berasal dari eksplan dapat disebabkan oleh faktor internal dan eksternal dari eksplan. Kontaminasi dari faktor internal dapat terjadi karena infeksi patogen ke dalam jaringan tanaman dan jenis kontaminasi jenis ini sangat sulit dihindari melalui sterilisasi permukaan karena kontaminan berada di dalam jaringan sumber eksplan, sementara itu, kontaminasi eksternal eksplan berasal dari lingkungan dari sekitar eksplan. Sulichantini *et al.*, (2024) menyatakan bahwa tingkat kontaminasi dapat disebabkan dari berbagai faktor seperti, morfologi, musim saat pengambilan eksplan, umur eksplan dan bagian tanaman yang diambil sebagai sumber eksplan.

KESIMPULAN

1. Perlakuan penambahan konsentrasi NAA sebanyak 2 ppm pada media MS dapat meningkatkan persentase tumbuh eksplan kalus daun kopi secara kultur in vitro.
2. Konsentrasi NAA sebanyak 2 ppm merupakan konsentrasi yang terbaik untuk pertumbuhan eksplan kalus daun kopi secara kultur in vitro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Program Studi Agroteknologi, Jurusan Pertanian, Fakultas Pertanian Perikanan dan Kelautan yang telah memfasilitasi kegiatan pembelajaran (*Team Base Project*) serta Lembaga Penjamin Mutu dan Pengembangan Pembelajaran Universitas Bangka Belitung, yang memberikan bantuan dana untuk kegiatan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, D., & Heriansyah, P. (2021). Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq. *Agro Bali: Agricultural Journal*, 4(2), 192–199.
- Apriyanti. (2022). Perbandingan Kadar Kafein dalam Kopi Robusta Takengon dan Tangse Sesuai SNI 01-7152-2006 Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*, 8(2), 2615–109.
- Arianto, D., Basri, Z., & Bustami, M. (2013). Induksi Kalus Dua Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Unggul Sulawesi pada Berbagai Konsentrasi 2,4 Dichlorophenoxy Acetic Acid Secara In Vitro. *E-J. Agrotekbis*, 1(3), 211–220.
- Aristoteles, Lumbanraja, F. R., Hijriani, A., & Nensi, M. (2022). Penentuan Grade Biji Kopi Robusta Menggunakan Analytical Hierarchy Process. *Kumpulan Jurnal Ilmu Komputer (KLIK)*, 9(2), 307–328.
- Asmono, S. L., Wardana, R., & Rahmawati, R. (2021). Optimasi Metode Sterilisasi Eksplan Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dan Robusta (*Coffea Canephora* Var. Robusta chev.) secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Inovasi*, 21(3), 140–145. <https://doi.org/10.25047/jii.v21i3.2916>
- Badan Pusat Statistik. (2024). *Statistik Kopi Indonesia* (Vol. 8).
- Caron, J., & Markusen, J. R. (2023). Hama dan Penyakit Kopi Arabika (*Coffea arabika*) di HKM Solok Radjo, Air dingin, Kecamatan Lembah Gumanti, Kabupaten Solk, Provinsi Sumatera Barat. *SYLVA: jurnal penelitian ilmu-ilmu kehutanan*, 12(1), 1–23.
- Dewanti, J. I., Nurlaili, E. P., & Kartikawati, D. (2024). Pengaruh Ketinggian Lokasi Penanaman Terhadap Sifat Kimia dan Sensori Citarasa Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.). *Jurnal Agrifoodtech*, 2(2), 26–39.
- Ego, Da'Iyah, H., Hisab, R., Arianto, A., & Khasanah, E. N. (2024). Pertumbuhan Tunas Anggrek Dendrobium Dalam Media ½ MS dengan Penambahan Berbagai Jenis Adenda Secara In Vitro. *Enviagro, Jurnal Pertanian Dan Lingkungan*, 10(2), 19–27.
- Elma, T. A., Suminar, E., Mubarak, S., & Nuraini, A. (2017). Multiplikasi Tunas Mikro Pisang (*Musa paradisiaca* L.) 'Raja Bulu' Secara In Vitro pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Sitokinin. *Kultivasi*, 16(3), 418–424.
- Garvita, R. V., & Damhuri, D. (2022). Koleksi Anggrek Cymbidium Di Kebun Raya Bogor Sebagai Upaya Konservasi Eks Situ. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 8(1), 62–70. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m080109>
- Handayani, A. T., Sandra, E., & Faizah, H. (2022). Optimasi Sterilisasi Eksplan Daun Tanaman Lidah Mertua (*Sansevieria* sp.) pada Kultur In Vitro. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(1), 109. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i1.4808>
- Hanik, N. R., Eskundari, R. D., Wiharti, T., & Putrimulya, R. S. G. (2023). Pengaruh Campuran Kompos pada Media Tanam Pakis terhadap Pertumbuhan Seedling Anggrek Dendrobium. *Vegetalika*, 12(2), 122–123.
- Harun, S. (2022). Analisis Produksi Kopi di Indonesia Tahun 2015-2020 Menggunakan Metode Cobb-Douglass. *Jurnal Ilmiah Ekonomi Pembangunan*, 1(2), 102–109.
- Hunhoff, V. L., Lage, L. A., Palú, E. G., Krause, W., & Silva, C. A. (2018). Nutritional requirements for germination and in vitro development of three Orchidaceae species in the southern Brazilian Amazon. *Ornamental Horticulture*, 24(2), 87–94. <https://doi.org/10.14295/oh.v24i2.1130>

- Ibrahim, M. S. D., Hartati, R. S., Rubiyo, Purwito, A., & Sudarsono. (2013). Induksi Kalus Embriogenik dan Daya Regenerasi Kopi Arabika Menggunakan 2,4- Dichlorophenoxyacetic Acid dan 6-Benzyladenine. *Jurnal Tanaman Industri Dan Penyegar*, 4(2), 91–98.
- Illahi, A. K., Ratnasari, E., & Dewi, S. K. (2022). Pengaruh 2, 4-D terhadap pertumbuhan kalus daun *Diospyros discolor* Willd pada media MS secara in vitro. *Lentera Bio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(3), 369–377.
- Immanuel, H. (2023). *Induksi Kalus pada Eksplan Daun Kopi Liberika*. Universitas Jambi.
- Isada, M. N. (2024). Combination of thidiazuron and basal media type on optimizing in vitro growth of *Grammatophyllum stapeliiflorum* orchids. *Jurnal Ilmiah Pertanian (JIP)*, 21(1), 21–32.
- Isda, M. N., & Wusqa, W. (2024). Respon Pertumbuhan Protokorm Anggrek Sendu (*Grammatophyllum stapeliiflorum*) Dengan Penambahan Beberapa Jenis Pupuk Daun Secara In Vitro. *Jurnal Agroteknologi*, 14(2), 97.
- Khozin, M. N., & Restanto, D. P. (2022). Regenerasi Tanaman Porang (*Amarphopalus onchopillus*) Secara In Vitro dengan Eksplan Daun. *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 20(1), 59–65.
- Lutfiani, I., Lestari, A., Widyodaru, N., & Suhesti, S. (2022). Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purine) terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Jurnal Agrotek Indonesia*, 7(1), 49–57. <https://doi.org/DOI>:
- Nagari, A. K., Asnawati, & Listiawati, A. (2024). Respon Pertumbuhan Anggrek Hitam pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Bawang Merah dan BAP pada Media Ms Secara In Vitro. *Jurnal Pertanian Agros*, 26(1), 5093–5100.
- Ningseh, D. R., Nursandi, F., & Roeswitawati, D. (2024). Kemiri Sunan Buds Induction (*Reutealis trisperma* (Blanco) Airy Shaw) For In Vitro in Ms. *JOURNAL TROPICAL CROP SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 6, 82–93.
- Praseptiana, C., Darmanti, S., & Prihastanti, E. (2017). Multiplikasi Tunas Tebu (*Saccharum officinarum* L Var. Bululawang) dengan Perlakuan Konsentrasi BAP dan Kinetin Secara In Vitro. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 2(2), 153. <https://doi.org/10.14710/baf.2.2.2017.153-160>
- Rahman, N. (2023). Daya Hidup dan Pertumbuhan Kultur In Vitro Ubi Kayu (*Manihot esculanta*) Genotip Ubi Kuning Hasil Radiasi pada Media MS Tanpa Zat Pengatur Tumbuh. *Proceeding Biology Education Conference*, 20(1), 28–36.
- Rismayanti, A. Y., & Nafi'ah, H. H. (2021). Modifikasi Media pada Induksi Kalus Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Berbuah Kuning. *Agro Wiralodra*, 4(2), 42–49. <https://doi.org/10.31943/agrowiralodra.v4i2.60>
- Sandy, R., Wahidah, B. F., & Isnaini, Y. (2022). Perbanyak Tanaman Anggrek (*Coelogyne dayana* Rchb.f.) Secara In Vitro dengan Berbagai Media Tumbuh di Kebun Raya Bogor. *EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi Dan Mikrobiologi*, 7(2), 84–91. <https://doi.org/10.33019/ekotonia.v7i2.3726>
- Sari, F. M., Ifadatin, S., & Mukarlina, M. (2024). Pertumbuhan In Vitro Biji Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. microcarpa) dengan Penambahan Ekstrak Jagung dan NAA pada Media MS. *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan*, 8(1), 512–520.
- Setyorini, T. (2021). Respon Pertumbuhan Eksplan Stek Mikro Kentang pada Media MS dengan Penambahan NAA dan BAP. *Agritech*, XXIII(1), 1411–1063.
- Sinaulan, J. S., Lengkong, E. F., & Tulung, S. (2019). Respon Pembentukan Kalus Embrionik Tanaman Krisan Kulo (*Chrysanthemum morifolium*) terhadap Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin. *Jurnal Unsrat*, 1(2), 1–4.
- Suhendra, D., & Rezki, D. (2022). Kondisi Perubahan Bobot dan Kadar Air Benih Kopi pada Perlakuan Konsentrasi Hormon Giberellin (Ga3) dan Lama Perendaman. *Jurnal Agroplasma*, 9(2), 245–253.
- Sulichantini, E. D., Nazari, A. P. D., & Nuanyah, A. (2024). Identifikasi Kontaminasi Kultur Jaringan Pisang Cavendish. *Jurnal Agrotek Tropika*, 12(2), 400. <https://doi.org/10.23960/jat.v12i2.6721>
- Sumadji, A. R. (2015). Induksi Kalus Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas IR64, Mentik Wangi Dan

- Rojolele Melalui Kultur In Vitro. *Widya Warta*, 39(1), 69–84.
- Tarigan, B. L., ButarButar, Y., Simanjuntak, R., Pulungan, A. S., & Situmorang, N. (2024). Penerapan Aspek Bioetika Kultur Jaringan Tanaman Anggrek *Dendrobium* Sp. Terhadap Permasalahan Kontaminasi Mikroorganisme di Laboratorium Kultur Jaringan Upt. Pengembangan Benih Hortikultura. *Biogenerasi*, 9(2), 1155–1160.
- Vettorazzi, R. G., Carvalho, V. S., Teixeira, M. C., Campostrini, E., Cunha, M. Da, de Matos, E. M., & Viccini, L. F. (2019). Cryopreservation of immature and mature seeds of Brazilian orchids of the genus *Cattleya*. *Scientia Horticulturae*, 256(June), 108603. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108603>
- Wahyuni, A., Satria, B., & Zainal, A. (2020). Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara In Vitro. *Agrosains : Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), 39. <https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>
- Wahyuningtyas, L. (2024). *Induksi kalus akasia (Acacia mangium) dengan penambahan kombinasi 2,4-D dan BAP pada media MS*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Widasari, R., Mukarlina, M., & Zakiah, Z. (2021). Pertumbuhan Biji Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) dengan Pemberian NAA dan Ekstrak Biji Jagung (*Zea mays*) secara In Vitro. *Jurnal Bios Logos*, 11(1), 47.
- Wulandari, M., Abdullah, & Netty. (2022). Ketahanan Kalus Embrio Kedelai (*Glycine max* L) Terhadap Tekanan Salinitas (NaCl) Secara In Vitro. *Journal Techno Eco Farming (JTEF)*, 2(April), 8–21.
- Zakiah, Z., & Turnip, M. (2024). Induction of Somatic Embryogenesis of Pontianak Siamese Orange Cotyledon Cultures on Murashige Skoog Media with the Addition of 2,4-D and Kinetin. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(2), 241–250. <https://doi.org/10.29303/jbt.v24i2.6721>
- Zasari, M., Yusnita, & Saputri, O. (2015). Pengaruh Pemberian Berbagai Jenis Adenda Dalam Media ½ Ms Terhadap Pertumbuhan Seedling Anggrek Phalaenopsis In Vitro. *Enviagro, Jurnal Pertanian Dan Lingkungan*, 8(1), 31–36.
- Zulfitra, R., Gustian, & Satria, B. (2018). Induksi Kalus Embriogenik Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Secara In Vitro. *Prosiding Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komda Sumatera Barat “Kedaulatan Benih Menuju Lumbung Pangan Dunia 2045,”* 404–412.