

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi robusta termasuk famili Rubiaceae dan merupakan salah satu spesies kopi yang memiliki nilai ekonomi penting. Nama ilmiah yang digunakan adalah *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner. Tanaman ini berasal dari kawasan Afrika tropis dan kemudian berkembang luas sebagai tanaman perkebunan di berbagai negara beriklim tropis.

Secara taksonomi, kopi robusta diklasifikasikan dalam Kingdom Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Ordo Gentianales, Famili Rubiaceae, Genus *Coffea*, dan Spesies *Coffea canephora*. Penulisan nama ilmiah perlu dibedakan dari nama dagang atau nama klon karena respons kultur jaringan dapat dipengaruhi oleh genotipe.

Tanaman kopi robusta berupa perdu berkayu dengan batang utama tegak dan percabangan plagiotrop. Daun tersusun berhadapan, berbentuk elips hingga lonjong, berwarna hijau, dan memiliki permukaan relatif mengkilap. Bunga berwarna putih dan tumbuh berkelompok pada ketiak daun. Buah berubah dari hijau menjadi merah ketika matang dan umumnya mengandung dua biji.

Kopi robusta tumbuh baik pada wilayah tropis dengan suhu relatif hangat, ketersediaan air memadai, tanah berdrainase baik, dan bahan organik yang cukup. Kondisi tanaman induk memengaruhi mutu eksplan. Tunas yang sehat, muda, dan bebas gejala hama maupun penyakit lebih sesuai digunakan karena memiliki jaringan aktif dan tingkat kerusakan fisiologis yang lebih rendah.

Perbanyakan kopi robusta secara generatif dapat menghasilkan keragaman sifat. Dalam produksi bahan tanam unggul, perbanyakan vegetatif diperlukan untuk mempertahankan karakter tanaman induk. Kultur jaringan, termasuk embriogenesis somatik, memiliki potensi menghasilkan bahan tanam dalam jumlah besar. Campos et al. (2017) menjelaskan bahwa respons embriogenesis

somatik kopi bersifat bergantung genotipe sehingga protokol perlu disesuaikan dengan spesies, klon, dan sumber eksplan.

2.2 Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan adalah teknik menumbuhkan sel, jaringan, atau organ tanaman pada media buatan dalam kondisi aseptik dan lingkungan terkendali. Teknik ini memanfaatkan totipotensi sel tanaman. Totipotensi tidak berarti setiap sel akan langsung membentuk tanaman, tetapi menunjukkan adanya potensi genetik yang dapat diekspresikan apabila kondisi nutrisi, zat pengatur tumbuh, cahaya, suhu, dan kelembapan sesuai.

Keunggulan kultur jaringan meliputi kemampuan menghasilkan bahan tanaman dalam jumlah besar pada ruang terbatas, perbanyakan yang tidak bergantung langsung pada musim, produksi klon yang relatif seragam, dan peluang memperoleh bahan tanam bebas patogen tertentu. Teknik ini juga mendukung konservasi plasma nutfah, penyelamatan embrio, produksi metabolit, transformasi genetik, dan penelitian fisiologi tanaman.

Keterbatasan kultur jaringan meliputi kebutuhan fasilitas khusus, tenaga terampil, biaya media dan energi, risiko kontaminasi, serta kemungkinan perubahan somaklonal apabila kultur berlangsung lama atau melalui fase kalus. Keberhasilan setiap tahap sangat ditentukan oleh konsistensi prosedur aseptik.

Tahapan umum mikropropagasi terdiri atas pemilihan tanaman induk dan persiapan eksplan, inisiasi kultur, multiplikasi, pengakaran, serta aklimatisasi. Penelitian ini berfokus pada tahap inisiasi. Pada tahap tersebut, tujuan utama adalah memperoleh eksplan yang bebas kontaminasi dan tetap berada dalam kondisi jaringan yang layak untuk melanjutkan pertumbuhan.

Media merupakan sumber unsur hara makro, unsur hara mikro, vitamin, karbon, dan komponen organik lain. Sukrosa biasanya ditambahkan karena kemampuan fotosintesis eksplan di dalam botol masih terbatas. Komposisi media yang kaya nutrisi menyebabkan kontaminan mikroba juga dapat tumbuh sangat cepat apabila masuk ke dalam kultur.

2.3 Eksplan Tunas dan Tahap Inisiasi

Eksplan merupakan bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal kultur. Eksplan dapat berupa pucuk, tunas aksilar, ruas batang, daun, akar, embrio, antera, atau jaringan lain. Pemilihan eksplan mempertimbangkan tujuan kultur, umur fisiologis, kemampuan regenerasi, tingkat kontaminasi, dan ketersediaan bahan.

Tunas mengandung meristem dan jaringan muda yang aktif membelah. Kondisi tersebut menguntungkan bagi regenerasi langsung, tetapi struktur tunas yang memiliki lipatan daun, ruas, dan celah permukaan dapat menyimpan mikroorganisme. Tunas dari tanaman lapangan umumnya lebih sulit disterilkan dibandingkan bahan yang berasal dari rumah kaca atau tanaman induk yang telah dipelihara secara khusus.

Tahap inisiasi meliputi pencucian awal, pemotongan bahan, sterilisasi permukaan, pembilasan dengan akuades steril, dan inokulasi pada media. Kegagalan tahap inisiasi dapat muncul sebagai kontaminasi cepat dalam beberapa hari atau kontaminasi lambat setelah kultur tampak steril. Kontaminasi cepat sering berkaitan dengan mikroorganisme permukaan atau kesalahan inokulasi, sedangkan kontaminasi lambat dapat berasal dari mikroorganisme yang terlindung pada celah jaringan atau berada secara endofitik.

Ukuran eksplan juga berpengaruh. Eksplan terlalu besar membawa luas permukaan dan potensi kontaminasi lebih tinggi, sedangkan eksplan terlalu kecil lebih mudah mengalami cedera dan kehilangan air. Oleh karena itu, keseragaman ukuran dan bagian tunas diperlukan agar perbandingan antartreatment tidak dipengaruhi oleh perbedaan bahan awal.

2.4 Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan merupakan upaya mengurangi atau menghilangkan mikroorganisme pada permukaan bahan tanaman sebelum penanaman. Istilah sterilisasi permukaan digunakan karena bahan kimia terutama bekerja pada bagian luar eksplan dan belum tentu menghilangkan mikroorganisme endofit di dalam jaringan.

Pencucian dengan air mengalir dan deterjen membantu menghilangkan tanah, debu, lapisan lilin, serta bahan organik yang dapat melindungi mikroorganisme. Setelah pencucian, sterilan kimia digunakan dalam konsentrasi dan waktu tertentu. Pembilasan menggunakan akuades steril diperlukan untuk menghilangkan residu bahan yang dapat bersifat fitotoksik.

Bahan sterilan yang sering digunakan dalam kultur jaringan antara lain alkohol, natrium hipoklorit, kalsium hipoklorit, hidrogen peroksida, fungisida, bakterisida, dan povidone iodine. Pemilihan bahan dipengaruhi oleh jenis eksplan dan tingkat kontaminasi awal. Beberapa bahan bekerja kuat terhadap mikroorganisme, tetapi juga dapat merusak tanaman sehingga protokol harus diuji secara empiris.

Asmono et al. (2022) menunjukkan bahwa keberhasilan sterilisasi eksplan daun kopi robusta dapat dipengaruhi oleh rangkaian fungisida, bakterisida, alkohol, dan natrium hipoklorit. Simbolon et al. (2026) juga mendapatkan kontaminasi rendah melalui pola sterilisasi bertingkat. Temuan tersebut menunjukkan bahwa sumber eksplan lapangan sering membutuhkan lebih dari satu mekanisme pengendalian kontaminan.

2.5 Alkohol sebagai Bahan Sterilan

Alkohol, khususnya etanol, digunakan sebagai desinfektan karena mampu merusak membran dan mendenaturasi protein mikroorganisme. Dalam kultur jaringan, alkohol biasanya diberikan dalam waktu singkat karena dapat menembus permukaan jaringan dan menyebabkan dehidrasi maupun kerusakan sel apabila paparan terlalu lama.

Efektivitas alkohol tidak hanya ditentukan oleh besarnya konsentrasi. Keberadaan air membantu proses denaturasi protein, sedangkan konsentrasi sangat tinggi dapat menyebabkan koagulasi protein pada permukaan dan mengurangi penetrasi. Pada bahan tanaman, respons juga dipengaruhi ketebalan kutikula, umur jaringan, dan luas luka potong.

Penggunaan alkohol sebagai sterilan tunggal memiliki keterbatasan. Alkohol dapat mengurangi mikroorganisme permukaan, tetapi spora tertentu, mikroba yang berada pada lipatan jaringan, dan kontaminan endofit dapat tetap

bertahan. Oleh karena itu, banyak protokol menggunakan alkohol sebagai perlakuan pendahuluan yang diikuti sterilan oksidatif seperti natrium hipoklorit.

Penelitian ini membandingkan konsentrasi alkohol 40%, 50%, dan 60% dengan waktu paparan yang sama. Perbandingan tersebut memberikan informasi mengenai kecenderungan efektivitas dalam rentang konsentrasi yang diuji, tetapi tidak dapat digunakan untuk menyatakan konsentrasi optimum universal tanpa pengujian konsentrasi lain, waktu paparan, dan parameter kerusakan jaringan.

2.6 Kontaminasi pada Kultur *In Vitro*

Kontaminasi kultur jaringan dapat berasal dari eksplan, media, alat, ruang kerja, udara, operator, atau penutupan botol yang tidak sempurna. Media dengan sukrosa dan mineral menyediakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan jamur dan bakteri. Kontaminan dapat berkompetisi dengan eksplan untuk memperoleh nutrisi, menghasilkan metabolit toksik, dan mengubah kondisi kimia media.

Kontaminasi jamur umumnya tampak sebagai miselium menyerupai kapas, serabut, atau koloni berwarna putih, abu-abu, hijau, maupun hitam. Pertumbuhan jamur dapat menyebar cepat pada permukaan media dan menutupi eksplan. Kontaminasi bakteri sering ditandai oleh lendir, koloni basah, lapisan keruh, atau perubahan kejernihan media di sekitar eksplan.

Identifikasi berdasarkan ciri visual hanya menghasilkan kategori umum jamur atau bakteri. Penentuan genus atau spesies memerlukan isolasi, pengamatan mikroskopis, uji biokimia, atau metode molekuler. Karena penelitian ini menggunakan pengamatan visual, istilah jenis kontaminasi dibatasi menjadi kategori jamur dan bakteri, bukan identifikasi taksonomi.

Waktu munculnya kontaminasi dapat digunakan sebagai indikator tambahan. Kontaminasi yang muncul lebih lambat menunjukkan bahwa perlakuan mampu menekan atau menunda perkembangan kontaminan, tetapi belum tentu menghilangkannya. Dalam penilaian perlakuan, waktu muncul harus dipertimbangkan bersama persentase kultur steril.

2.7 Media Murashige dan Skoog

Media Murashige dan Skoog dikembangkan sebagai media dengan kandungan unsur mineral relatif tinggi untuk mendukung pertumbuhan jaringan tanaman (Murashige & Skoog, 1962). Media MS menjadi salah satu media dasar yang paling luas digunakan dan dapat dimodifikasi sesuai kebutuhan spesies dan tahap kultur.

Komponen utama media MS meliputi unsur hara makro, unsur hara mikro, besi, vitamin, sumber karbon, dan bahan pematat apabila digunakan sebagai media padat. Dalam penelitian ini digunakan media MS0, yaitu media dasar tanpa penambahan zat pengatur tumbuh. Penggunaan MS0 ditujukan untuk menyediakan lingkungan nutrisi dasar selama pengamatan awal sterilisasi.

pH media umumnya disesuaikan sebelum sterilisasi karena memengaruhi ketersediaan unsur hara dan kekuatan gel. Media disterilkan menggunakan autoklaf agar mikroorganisme pada larutan dan wadah dapat dieliminasi sebelum eksplan ditanam.

2.8 Penelitian Terdahulu

Penelitian terdahulu memperlihatkan bahwa efektivitas sterilisasi pada kopi bergantung pada jenis eksplan dan kombinasi bahan yang digunakan. Ringkasan beberapa penelitian disajikan pada Tabel 2.1.

Peneliti	Eksplan	Perlakuan utama	Hasil penting
Asmono et al. (2021)	Daun kopi arabika dan robusta	Tiga metode sterilisasi; kombinasi beberapa sterilan	Metode sterilisasi tertentu menekan kontaminasi dan browning; respons berbeda menurut jenis kopi.

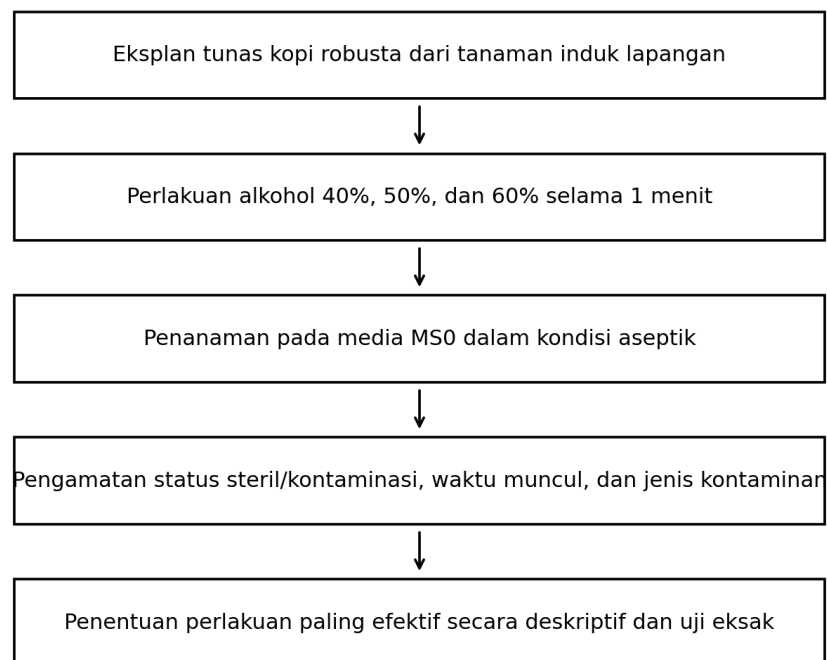
Peneliti	Eksplan	Perlakuan utama	Hasil penting
Asmono et al. (2022)	Daun kopi robusta BP 308	Fungisida, bakterisida, antibiotik, alkohol 70%, dan NaOCl	Rangkaian sterilan memengaruhi keberhasilan inokulasi dan pembentukan kalus.
Lubis et al. (2025)	Daun kopi arabika Sidikalang	Lima pola sterilisasi bertingkat	Pola terbaik menghasilkan kontaminasi 6,6% dan pembentukan kalus 93,3%.
Kusbianto et al. (2025)	Daun kopi robusta Milo Pace	Deterjen, bakterisida, fungisida, NaOCl, H ₂ O ₂ , dan alkohol	Metode terbaik menekan kontaminasi menjadi 20% dan mempertahankan 60% eksplan hidup.
Simbolon et al. (2026)	Daun kopi robusta Sidikalang	Pola bertingkat dengan deterjen, fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol, dan asam askorbat	Pola terbaik menghasilkan kontaminasi 6,6%, browning 0%, dan kalus 93,3%.

Tabel 2.1 Ringkasan penelitian terdahulu mengenai sterilisasi eksplan kopi

Perbedaan penelitian ini terletak pada penggunaan eksplan tunas kopi robusta dan fokus pada satu faktor, yaitu konsentrasi alkohol 40%, 50%, dan 60%. Penelitian terdahulu umumnya menggunakan eksplan daun dan kombinasi sterilan bertingkat. Dengan demikian, hasil penelitian ini berfungsi sebagai pengujian awal efektivitas alkohol, bukan sebagai pengganti protokol sterilisasi lengkap.

2.9 Kerangka Pemikiran

Eksplan tunas kopi robusta yang berasal dari tanaman lapangan berpotensi membawa mikroorganisme. Perlakuan alkohol dengan konsentrasi berbeda diperkirakan menghasilkan kemampuan pengendalian kontaminan yang berbeda. Efektivitas perlakuan dinilai dari persentase kultur steril, persentase kontaminasi, waktu munculnya kontaminasi, dan kategori kontaminan. Perlakuan terbaik adalah perlakuan yang menghasilkan persentase steril tertinggi dan kontaminasi paling lambat, tanpa menyatakan viabilitas karena parameter pertumbuhan tidak dicatat.



Gambar 2.1 Kerangka pemikiran penelitian