

**EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU (*Manihot esculenta*
Crantz.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI PICLORAM
MENGUNAKAN EKSPLAN DAUN PUCUK**

(Skripsi)

Oleh

**Riska Yulisawati
1914161005**



**JURUSAN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI PICLORAM MENGGUNAKAN EKSPLAN DAUN PUCUK

Oleh

RISKA YULISAWATI

Kualitas dan kuantitas ubi kayu dapat ditingkatkan dengan perbaikan sifat genetik tanaman. Salah satunya melalui transformasi genetik yang membutuhkan embrio somatik sebagai jaringan target. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi picloram, klon, dan interaksi antara konsentrasi picloram dan klon dalam menginduksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan Juni 2022 sampai April 2023. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial (3 x 3). Faktor pertama, yaitu klon ubi kayu (K) yang terdiri dari 3 taraf, yaitu klon BW-1 (K1), TDS-S (K2), dan Vamas-1 (K3). Faktor kedua, yaitu konsentrasi picloram (P) yang terdiri dari 3 taraf, yaitu picloram 4 mg/l (P1), 8 mg/l (P2), dan 12 mg/l (P3). Hasil penelitian menunjukkan picloram 4 mg/l mampu menginduksi kalus primer berdasarkan persentase eksplan berkalus pada BW-1 dan TDS-S (100%) dan *scoring* 3,1 (luasan eksplan berkalus hingga 75%). Picloram 4 dan 12 mg/l mampu menginduksi embriogenesis somatik berdasarkan persentase eksplan berembrio klon TDS-S pada picloram 4 mg/l ($38,7 \pm 0,8\%$) dan jumlah embrio klon TDS-S pada picloram 12 mg/l ($38,5 \pm 21,0$ embrio). Klon TDS-S membentuk kalus dalam waktu 12,3 HST, bobot kalus 0,13 g, persentase eksplan berembrio ($38,7 \pm 0,8\%$), dan jumlah embrio ($38,5 \pm 21,0$ embrio). Interaksi antara klon dan konsentrasi picloram tidak berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus, *scoring* persentase pembentukan kalus per eksplan 3 MST, dan bobot kalus primer 3 MST.

Kata kunci: BW-1, embrio somatik, picloram, TDS-S, Vamas-1

**EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz.)
PADA BEBERAPA KONSENTRASI PICLORAM MENGGUNAKAN
EKSPLAN DAUN PUCUK**

Oleh

Riska Yulisawati

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Agronomi dan Hortikultura
Fakultas Pertanian, Universitas Lampung**



**JURUSAN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz.) PADA
BEBERAPA KONSENTRASI PICLORAM
MENGUNAKAN EKSPAN DAUN
PUCUK**

Nama Mahasiswa : **Riska Yulisawati**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1914161005**

Jurusan : **Agronomi dan Hortikultura**

Fakultas : **Pertanian**




1. Komisi Pembimbing


Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D.
NIP 197905152008122005


Ir. Ardian, M.Agr.
NIP 196211281987031002

2. Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura


Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.
NIP 196110211985031002

MENGESAHKAN

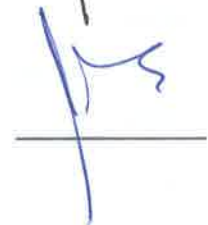
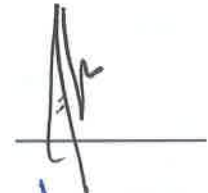
1. Tim Penguji

Ketua : Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D.

Sekretaris : Ir. Ardian, M.Agr.

Penguji

Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 September 2023

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Embriogenesis Somatik Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) pada Beberapa Konsentrasi Picloram Menggunakan Eksplan Daun Pucuk”** merupakan hasil karya saya sendiri. Penyusunan skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 20 Oktober 2023
Penulis,



Riska Yulisawati
NPM 1914161005

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Way Kandis, Kecamatan Tanjung Senang, Kota Bandar Lampung pada tanggal 8 Oktober 2000. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara pasangan Sutaryono dan Apriliani Sumi Astuti. Pendidikan penulis diawali dari SDN 1 Way Kandis pada tahun 2007. Penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 21 Bandar Lampung pada tahun 2013 dan pada tahun 2016 penulis melanjutkan pendidikan di SMAN 15 Bandar Lampung. Penulis memulai studi pendidikan tinggi pada tahun 2019 di Universitas Lampung sebagai mahasiswa Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis mengikuti kegiatan Himpunan Mahasiswa Agronomi dan Hortikultura (HIMAGRHO) menjadi anggota bidang Penelitian dan Pengembangan sejak tahun 2019. Penulis telah melaksanakan Praktik Pengenalan Pertanian (P3) pada tahun 2020 di Desa Giham Balak, Kecamatan Sekincau, Kabupaten Lampung Barat. Pada tahun 2022, penulis melaksanakan Kegiatan Kerja Nyata (KKN) di Desa Campang Jaya, Kecamatan Sukabumi, Kota Bandar Lampung. Pada tahun yang sama, penulis berkesempatan menjadi asisten praktikum Dasar-Dasar Perlindungan Tanaman. Setahun setelahnya, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Lampung.

**Karya sederhana ini kupersembahkan untuk kedua orang tua tercinta
Bapak Sutaryono dan Ibu Apriliani Sumi Astuti serta adik-adikku tersayang
Renika Yulisa Wati dan Rafaka Morgana Sutaryono sebagai rasa hormat
dan terima kasih atas segala do'a dan dukungan**

**Almamater Tercinta
Universitas Lampung**

**“Sesungguhnya jika kamu bersyukur aku akan menambah (nikmat)
kepadamu”**

-Q.S Ibrahim : 7-

**“Ketika kamu ikhlas menerima semua kekecewaan hidup, maka Allah akan
membayar tuntas kekecewaan dengan beribu-ribu kebaikan”**

-Ali bin Abi Thalib-

**“Yakinlah ada sesuatu yang menantimu setelah sekian banyak kesabaran
yang kau jalani, yang akan membuatmu terpana hingga kau lupa betapa
pedihnya rasa sakit”**

-Ali bin Abi Thalib-

“Rayakan kebahagiaanmu dengan penuh rasa syukur”

-Riska Yulisawati-

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala nikmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “**Embriogenesis Somatik Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) pada Beberapa Konsentrasi Picloram Menggunakan Eksplan Daun Pucuk**”. Pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
3. Ibu Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D., selaku Pembimbing Pertama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis, memberikan ide, saran, arahan, nasihat, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi;
4. Bapak Ir. Ardian, M.Agr. selaku Pembimbing Kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, nasihat, arahan, dan motivasi kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi;
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc. selaku Penguji yang telah memberikan saran, nasihat, dan arahan kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi;
6. Bapak Ir. Yohanes Cahya Ginting, M.P. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, saran, dan arahan kepada penulis selama kuliah;

7. Keluarga tercinta, Bapak Sutaryono, Ibu Apriliani Sumi Astuti, adik-adikku Renika Yulisa Wati dan Rafaka Morgana Sutaryono atas do'a, dukungan, motivasi, materiil, dan kasih sayang yang telah diberikan kepada penulis;
8. Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Ibu Hayane A. Warganegara, S.P., M.Si., Lika, Anggun, Nabilla, Jessy, Wahyu, mba Titin, mba Ajeng, dan mba Panca yang telah memberikan semangat, dukungan, dan bantuan selama berlangsungnya penelitian;
9. Teman-teman penulis, Putri Rahmadani, Citra Khoirrun Nisa, A. Marvel, Resya R., dan Satria A. S. yang telah memberikan semangat, motivasi, dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi;
10. Sahabat perjuangan, Shanchai dan Xiaoyou yang telah menemani dan mendengarkan curahan hati penulis.

Bandar Lampung, 20 Oktober 2023

Riska Yulisawati

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Kerangka Pemikiran.....	4
1.6 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Botani Ubi Kayu	7
2.2 Kultur Jaringan.....	8
2.3 Embriogenesis Somatik.....	10
2.4 Media Kultur Jaringan dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	12
2.5 Transformasi Genetik Ubi Kayu	14
III. BAHAN DAN METODE	15
3.1 Waktu dan Tempat.....	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.3 Metode Penelitian	16

3.4 Pelaksanaan Penelitian	16
3.4.1 Asal sumber eksplan dan sterilisasi tunas	16
3.4.2 Sterilisasi alat dan bahan	17
3.4.3 Persiapan media	18
3.4.4 Penanaman eksplan	20
3.5 Variabel Pengamatan	21
3.5.1 Pengamatan secara visual	21
3.5.2 Waktu muncul kalus primer	22
3.5.3 Persentase eksplan berkalus primer	22
3.5.4 <i>Scoring</i> persentase pembentukan kalus per eksplan	22
3.5.5 Bobot kalus primer	23
3.5.6 Persentase eksplan berembrio	23
3.5.7 Jumlah embrio somatik per eksplan	23
3.5.8 Jumlah tunas hasil embrio somatik	23
3.6 Analisis Data	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Hasil	25
4.1.1 Visualisasi kalus primer, embrio somatik, dan kotiledon ubi kayu	25
4.1.2 Rekapitulasi analisis ragam	29
4.2 Pembahasan	35
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi media MS (<i>Murashige and Skoog</i> , 1962)	19
2. Jenis dan konsentrasi ZPT picloram media induksi kalus primer.....	19
3. <i>Scoring</i> persentase pembentukan kalus primer	22
4. Rekapitulasi analisis ragam pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram	29
5. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap persentase eksplan berkalus 3 MST (%).....	31
6. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap persentase eksplan berembrio 6 MST (%).....	33
7. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap jumlah embrio somatik per eksplan 6 MST	34
8. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap jumlah tunas hasil embrio somatik 8 MST	34
9. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap persentase eksplan berkalus primer 3 MST (%).....	50
10. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap <i>scoring</i> persentase pembentukan kalus per eksplan 3 MST	50
11. Uji homogenitas pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap <i>scoring</i> persentase pembentukan kalus per eksplan 3 MST.....	51
12. Analisis ragam pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap <i>scoring</i> persentase pembentukan kalus per eksplan 3 MST.....	51
13. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap waktu muncul kalus (HST)	52
14. Uji homogenitas pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap waktu muncul kalus (HST)	52

15. Analisis ragam pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap waktu muncul kalus (HST)	53
16. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap bobot kalus 3 MST (g).....	53
17. Uji homogenitas pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap bobot kalus 3 MST (g)	54
18. Analisis ragam pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap bobot kalus 3 MST (g)	54
19. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap persentase eksplan berembrio 6 MST (%).....	55
20. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap jumlah embrio somatik per eksplan 6 MST	55
21. Pengaruh klon ubi kayu dan konsentrasi picloram terhadap jumlah tunas hasil embrio somatik 8 MST	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan kerangka pemikiran.....	5
2. Morfologi tanaman ubi kayu	7
3. Tahap perkembangan embrio somatik tanaman dikotil secara <i>in vitro</i>	11
4. Keragaan pembentukan kalus per eksplan berdasarkan <i>scoring</i>	23
5. Visualisasi kalus primer ubi kayu 2 MST klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1 pada media induksi kalus primer	25
6. Visualisasi kalus primer ubi kayu 3 MST klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1 pada media induksi kalus primer	26
7. Visualisasi kalus embriogenik dan non embriogenik ubi kayu 3 MST klon TDS-S	26
8. Visualisasi fase embrio somatik ubi kayu 6 MST.....	27
9. Visualisasi <i>green cotyledon</i> ubi kayu 2 MST pada media regenerasi tunas	28
10. Visualisasi tunas ubi kayu 4 MST pada media MS0 dan MS0 + arang aktif	29
11. Pengaruh klon terhadap waktu muncul kalus	30
12. Pengaruh konsentrasi picloram terhadap <i>scoring</i> persentase pembentukan kalus per eksplan 3 MST	32
13. Pengaruh klon terhadap bobot kalus 3 MST	32

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Provinsi yang menjadi produsen ubi kayu terbesar di Indonesia meliputi Lampung, Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Jawa Barat. Empat provinsi tersebut mampu menyumbang produksi ubi kayu di Indonesia sekitar 76,37%. Produksi dan produktivitas ubi kayu di Lampung pada periode 2014-2018 cenderung mengalami penurunan. Tahun 2014 produksi ubi kayu mampu mencapai 8,03 juta ton. Namun, pada tahun 2018 produksi ubi kayu mengalami penurunan hingga 5,05 juta ton. Produktivitas ubi kayu tahun 2014 mengalami penurunan dari 263,87 kuintal/ha menjadi 238,75 kuintal/ha pada tahun 2018 (Kusnardi, 2019).

Beberapa permasalahan pada ubi kayu baik kualitas dan kuantitas, meliputi Hama dan Penyakit Tanaman (HPT), senyawa sianogenik tinggi, protein rendah, dan pati rendah. HPT yang umumnya dijumpai, seperti kutu putih (Hariyanto *et al.*, 2020) dan bercak daun coklat (Hayu, 2021). Senyawa glukosida sianogenik mampu membentuk asam sianida yang dapat bersifat racun bagi tubuh (Nurhidayanti *et al.*, 2021). Menurut Ariani *et al.* (2017), ubi kayu mengandung karbohidrat tinggi tetapi rendah protein. Kadar pati ubi kayu yang rendah disebabkan oleh waktu panen yang terlalu cepat sehingga menyebabkan kualitas ubi kayu menurun (Asnawi, 2003).

Kualitas dan kuantitas produksi ubi kayu dapat diperbaiki melalui pemuliaan konvensional (persilangan tanaman) maupun bioteknologi tanaman salah satunya melalui transformasi genetik tanaman yang membutuhkan teknologi kultur jaringan untuk menyediakan sel yang akan menjadi target penyimpanan gen.

Berdasarkan hasil penelitian Koetle *et al.* (2015), kalus embriogenik memiliki daya regenerasi yang tinggi sehingga berpotensi sebagai target transformasi genetik. Embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio baru dari jaringan eksplan yang sebelumnya tidak bermeristem (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Embriogenesis somatik bermanfaat untuk memperbanyak tanaman, transformasi genetik, dan benih sintetik. Sel somatik umumnya digunakan untuk perakitan varietas unggul melalui rekayasa genetik dan kultur *in vitro*. Sel somatik yang digunakan lebih efektif menghasilkan individu baru dengan perubahan genetik yang lebih solid (Yunita *et al.*, 2017). *Friable Embryogenic Callus* (FEC) dimanfaatkan untuk material transformasi genetik. Penggunaan FEC memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi daripada kotiledon yang cenderung menghasilkan transgen dengan ekspresi gen yang bersifat sementara (Fitriani, 2016).

Beberapa klon ubi kayu yang banyak dibudidayakan di Provinsi Lampung, yaitu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1. Klon BW-1 berasal dari Thailand yang dapat beradaptasi dengan baik di Lampung. Klon BW-1 digunakan untuk industri tapioka dengan kandungan kadar pati 26% yang dapat dipanen pada umur 6-7 bulan (Setiawan *et al.*, 2021). Klon TDS-S merupakan klon lokal yang disenangi petani di Lampung karena memiliki keunggulan berumur genjah. Varietas Vamas-1 merupakan varietas unggul tahan masam dan berumur genjah dengan kadar pati sebesar 20,4% (Ardian *et al.*, 2023). Varietas Vamas-1 memiliki beberapa keunggulan lainnya, seperti agak tahan terhadap hama tungau dan agak tahan busuk umbi yang disebabkan oleh *Fusarium* spp. (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2019).

Menurut Nugroho (2014), pembentukan embriogenesis dipengaruhi oleh sumber eksplan dan konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Kultivar ubi kayu berpengaruh terhadap tingginya frekuensi dan efisiensi pembentukan embriogenesis somatik. Pembentukan kalus embriogenik diperlukan ZPT golongan auksin. Auksin terdiri dari IBA, IAA, NAA, 2,4-D, dan picloram. Ubalua dan Mbanaso (2014) menyatakan bahwa media yang ditambah picloram mampu menginduksi pembentukan embrio somatik ubi kayu kultivar *Sandpaper*

dan TMS 60444. Picloram 8 mg/l dan 12 mg/l menghasilkan kalus yang embriogenik pada varietas ubi kayu Afrika (Atehnkeng *et al.*, 2006). Media MS yang ditambah picloram 4 ppm + BAP 1 ppm pada durian kultivar montong menghasilkan kalus yang cenderung bersifat embriogenik (Sukma *et al.*, 2010).

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan konsentrasi picloram yang tepat untuk induksi kalus dan embriogenesis somatik ubi kayu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1 sehingga akan didapatkan protokol embriogenesis somatik klon-klon tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah konsentrasi picloram berpengaruh terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1 secara *in vitro*?
2. Apakah klon berpengaruh terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu secara *in vitro*?
3. Apakah ada interaksi antara konsentrasi picloram dengan klon terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi picloram dalam menginduksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1 secara *in vitro*.
2. Mengetahui pengaruh klon dalam membentuk kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu secara *in vitro*.
3. Mengetahui apakah terdapat interaksi antara konsentrasi picloram dengan klon dalam menginduksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mendapatkan protokol embriogenesis somatik ubi kayu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1. Protokol ini dapat diaplikasikan untuk kegiatan transformasi genetik pada 3 klon tersebut dalam rangka perbaikan genetik tanaman untuk mendapatkan varietas unggul.

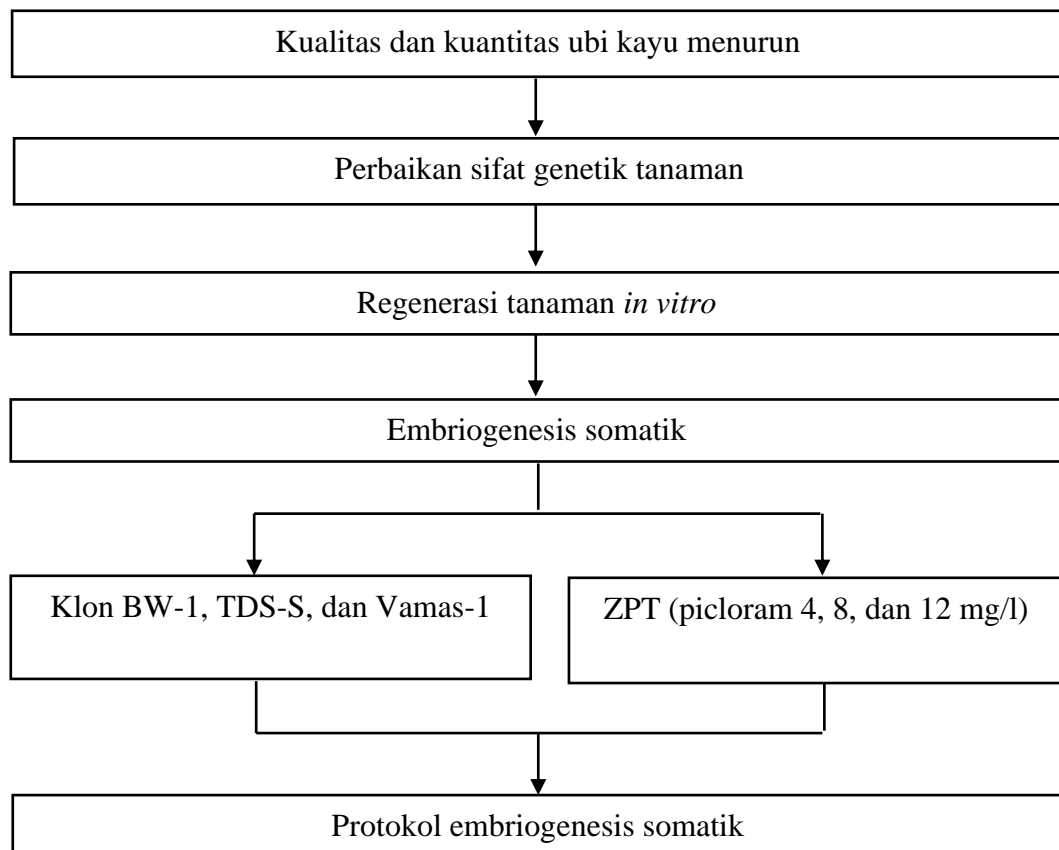
1.5 Kerangka Pemikiran

Kualitas dan kuantitas ubi kayu menurun disebabkan oleh Hama dan Penyakit Tanaman (HPT), senyawa sianogenik tinggi, protein rendah, dan pati rendah. Perbaikan sifat genetik tanaman dapat menjadi alternatif dalam meningkatkan kualitas dan kuantitas ubi kayu. Perbaikan sifat genetik tanaman secara bioteknologi dapat mentransformasikan sifat-sifat unggul ke tanaman target. Transformasi tersebut dengan tingkat keberhasilan yang tinggi dapat dilakukan dengan menggunakan sel atau jaringan target berupa embrio somatik. Embrio somatik berasal dari satu sel yang memiliki sifat *true-to-type*. Embrio yang terbentuk mampu tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh. Embrio somatik memiliki struktur bipolar, yaitu meristem tunas dan meristem akar. Sel-sel kalus pada embrio somatik yang berkembang melewati empat fase, yaitu fase globular, hati, torpedo, dan kotiledon.

Klon ubi kayu dapat berpengaruh terhadap keberhasilan pembentukan kalus. Klon ubi kayu yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1. BW-1 merupakan klon yang dapat beradaptasi dengan baik di Lampung. TDS-S merupakan klon lokal yang memiliki umur genjah. Vamas-1 merupakan varietas unggul nasional yang berumur genjah, agak tahan terhadap hama tungau, dan agak tahan busuk umbi. Eksplan BW-1 mampu berdiferensiasi membentuk kalus embriogenik kompak (Yelli *et al.*, 2023). Penggunaan klon nasional maupun lokal diharapkan mampu menghasilkan kalus yang embriogenik.

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) menjadi penentu keberhasilan embriogenesis somatik. Pemberian auksin mampu mempercepat pembentukan kalus.

Penggunaan auksin yang tinggi mampu menginduksi embriogenesis somatik dengan baik. ZPT golongan auksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah picloram. Picloram 12 mg/l mampu membentuk struktur embrio ubi kayu Afrika hingga ke tahap torpedo (Atehnkeng *et al.*, 2006). Media dasar MS yang ditambahkan dengan konsentrasi ZPT yang tepat diharapkan mampu memacu pembentukan kalus dan struktur embrio somatik ubi kayu. Genotipe yang merespon perlakuan media picloram dalam proses induksi melewati tahap globular ke kotiledon (Atehnkeng *et al.*, 2006). Eksplan yang disubkultur pada berbagai konsentrasi picloram diharapkan mampu menginduksi kalus dan embriogenesis somatik ubi kayu sehingga akan didapatkan protokol embriogenesis somatik (Gambar 1).



Gambar 1. Bagan kerangka pemikiran

1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

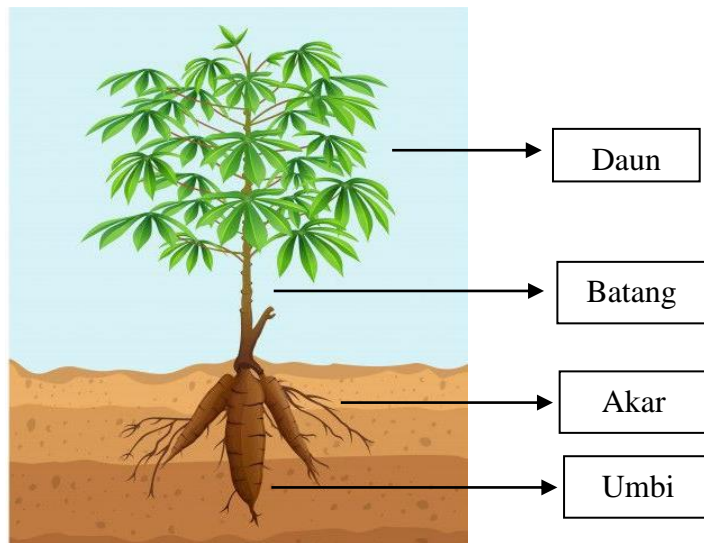
1. Konsentrasi picloram 12 mg/l dapat menginduksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1 secara *in vitro*.
2. Klon BW-1 menjadi klon yang dapat membentuk kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu secara *in vitro*.
3. Terdapat interaksi konsentrasi picloram dengan klon dalam menginduksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Ubi Kayu

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan tanaman semusim yang menjadi salah satu sumber karbohidrat. Taksonomi ubi kayu diuraikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Manihot</i>
Spesies	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz. (Bargumono <i>et al.</i> , 2013)



Gambar 2. Morfologi tanaman ubi kayu (Freepik, 2023)

Secara umum, ubi kayu terdiri dari daun, batang, akar, dan umbi. Ubi kayu memiliki ujung daun berbentuk panjang tajam. Ubi kayu memiliki warna daun mulai dari hijau tua hingga agak kekuningan. Daun berbentuk menjari dengan tepi daun yang terlihat rata. Batang ubi kayu berbentuk bulat panjang, berkayu, berbuku-buku, dan tumbuh memanjang. Ukuran batang ubi kayu berbeda-beda tergantung dari klon yang ditanam. Batang ubi kayu memiliki diameter 2-3 cm. Ubi kayu memiliki jenis akar serabut. Akar ubi kayu terspesialisasi menjadi umbi. Umbi memiliki berat \pm 500 g bahkan bisa lebih berat lagi. Umbi memiliki bentuk panjang dengan daging umbi berwarna putih. Kulit umbi terlihat sangat tipis yang memiliki warna coklat (Saifuddin, 2022).

Ubi kayu klon BW-1 memiliki batang berwarna perak, tangkai daun berwarna hijau kekuningan, warna daun hijau tua, warna pucuk daun hijau kekuningan, dan korteks batang berwarna hijau gelap (Kotto *et al.*, 2020). Hasil identifikasi berdasarkan Fukuda *et al.* (2010), ubi kayu klon TDS-S memiliki pucuk daun berwarna hijau keunguan, daun berwarna hijau tua, tangkai daun berwarna merah kehijauan, dan bagian luar batang berwarna perak. Ubi kayu klon Vamas-1 memiliki batang berwarna abu-abu kecoklatan, tangkai daun berwarna hijau kemerahan, dan kulit umbi berwarna coklat terang (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2019).

2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan teknik mengkulturkan bagian tanaman secara *in vitro* pada media yang mengandung hara lengkap pada kondisi yang aseptik di lingkungan yang terkendali agar tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh. Kultur jaringan memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan cara perbanyakan konvensional, seperti menghasilkan tanaman *true-to-type*, tidak membutuhkan tempat yang luas, produksi bibit tidak bergantung pada musim, menghasilkan bibit yang sehat, digunakan untuk mengeliminasi patogen yang sistemik, dan koleksi plasma nutfah. Kultur jaringan bermanfaat untuk perbanyakan secara klonal, penyimpanan plasma nutfah, penyelamatan embrio dari persilangan antar varietas, rekayasa genetika tanaman, dan sarana

untuk studi fisiologi tanaman. Kultur jaringan berasal dari teori totipotensi sel, yaitu setiap sel tumbuhan yang hidup dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh apabila lingkungannya sesuai. Ciri-ciri kultur jaringan, yaitu aseptik, hara lengkap, lingkungan terkendali, *in vitro*, dan perlu ZPT. Pelaksanaan kultur jaringan memerlukan keahlian dan keterampilan khusus untuk mendapatkan kultur yang aseptik, pembuatan media dengan takaran yang akurat, dan menguasai protokol perbanyakan tanaman secara *in vitro* yang *established* dari hasil riset (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Kultur jaringan memiliki 5 tahap, yaitu tahap 0 (pemilihan dan penanganan tanaman induk), tahap I (pembuatan kultur awal aseptik), tahap II (perbanyakan propagul), tahap III (pemanjangan dan pengakaran tunas), dan tahap IV (aklimatisasi planlet ke lingkungan *ex vitro*). Tahap 0 dilakukan agar eksplan yang dikulturkan berhasil. Tahap ini diawali dengan memilih tanaman induk yang sehat, umur fisiologi dan unsur ontogenetik tanaman induk, bagian tanaman yang dipakai untuk eksplan, cara sterilisasi eksplan, dan ukuran eksplan. Tahap I dilakukan untuk mendapatkan kultur yang aseptik. Eksplan disterilkan dan ditanam menggunakan *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC). Tahap II dilakukan untuk subkultur eksplan sehingga menghasilkan tunas-tunas mikro dalam jumlah banyak. Tahap III ini dilakukan dengan cara memisahkan setiap individu tunas yang nantinya ditanam pada media yang mengandung auksin. Tahap IV dilakukan agar planlet dapat beradaptasi di lingkungan *ex vitro* (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Perbanyakan ubi kayu dapat dilakukan secara organogenesis dan embriogenesis. Organogenesis dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Organogenesis secara langsung diawali dengan pembentukan tunas-tunas adventif kemudian dilanjutkan dengan pengakaran tunas. Organogenesis secara tidak langsung diawali dengan munculnya kalus pada permukaan eksplan.

Embrio tanaman terbagi menjadi dua jenis, yaitu embrio zigotik dan embrio somatik. Embrio zigotik adalah embrio hasil dari pertumbuhan dan perkembangan dari sel gamet jantan dan sel gamet betina (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Menurut

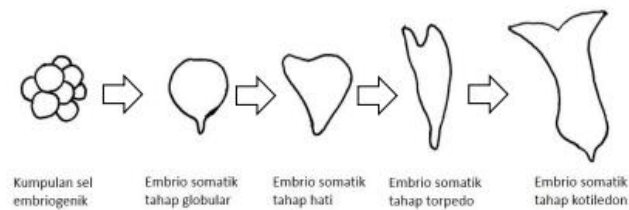
Hapsoro dan Yusnita (2022), tahapan embrio zigotik, yaitu sel gamet jantan dan betina bertemu → terbentuk zigot → terbentuk embrio → embrio berkembang menjadi tajuk dan akar. Embrio somatik adalah embrio yang tumbuh dan berkembang dari hasil sel somatik (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Embrio zigotik berlangsung secara sinkronus sedangkan embrio somatik berlangsung secara asinkronus. Sinkronus terjadi saat sel-sel calon embrio menjalani tahap demi tahap embriogenesis dalam waktu yang sama sedangkan asinkronus terjadi dalam waktu yang berbeda (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Proses pembentukan embrio somatik disebut dengan embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Embriogenesis somatik secara langsung terjadi secara langsung melalui permukaan jaringan eksplan. Embriogenesis somatik secara tidak langsung diawali dengan pembentukan kalus pada permukaan eksplan (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Tahapan embriogenesis secara langsung, yaitu eksplan yang mengandung sel-sel embriogenik → embrio somatik → embrio somatik matang. Tahapan embriogenesis secara tidak langsung, yaitu eksplan → kalus kompeten → kalus embriogenik → embrio somatik → embrio somatik matang (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

2.3 Embriogenesis Somatik

Embriogenesis somatik adalah bagian tanaman yang mengalami proses pembelahan sel untuk membentuk embrio menjadi tanaman baru melalui teknik perbanyakan kultur jaringan (Sasmita *et al.*, 2022). Embriogenesis somatik memiliki empat tahapan, yaitu globular, hati, torpedo, dan kotiledon (Saepudin *et al.*, 2015). Menurut Hapsoro dan Yusnita (2018), embrio somatik pada tahap globular akan berbentuk bulat, tahap hati berbentuk hati, tahap torpedo berbentuk torpedo, dan tahap kotiledon muncul struktur berbentuk kotiledon (Gambar 3). Proses pembentukan embrio somatik terbagi menjadi dua tahap yaitu tahap induksi dan tahap ekspresi. Sel kompeten mulai terbentuk menjadi sel-sel embriogenik (tahap induksi). Setelah itu, pada tahap ekspresi sel embriogenik yang telah terbentuk akan berdiferensiasi menjadi embrio somatik (Wijaya *et al.*,

2022). Pada embriogenesis somatik, setelah embrio terbentuk akan mengalami maturasi yang dicirikan oleh morfologi embrio yang matang dengan mengembangkannya kotiledon serta terakumulasinya produk simpanan (karbohidrat, protein, dan lemak) (Hapsoro dan Yusnita, 2018).



Gambar 3. Tahap perkembangan embrio somatik tanaman dikotil secara *in vitro* (Hapsoro dan Yusnita, 2018)

Kalus merupakan proliferasi massa jaringan yang belum terdiferensiasi (Lina *et al.*, 2013). Sel-sel baru akan dihasilkan dari pembentukan kalus sehingga sangat penting dalam proses regenerasi tanaman (Marthani *et al.*, 2016). Pembentukan kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu media, lingkungan kultur, dan sumber eksplan (Xiong *et al.*, 2018). Kalus berdasarkan tekstur dan komposisi selnya dibedakan menjadi kalus yang kompak dan remah. Kalus kompak tersusun dari sel-sel kecil yang sangat rapat sehingga memiliki tekstur yang padat dan keras. Kalus remah tersusun dari sel-sel dengan ruang antar sel yang banyak sehingga memiliki tekstur lunak. Kalus kompak mampu mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak sehingga baik untuk digunakan sebagai bahan penghasil metabolit sekunder (Busaifi dan Hirjani, 2019).

Kalus yang terbentuk secara alami sebagai respon perbaikan terhadap kondisi stres. Kalus yang memiliki warna hijau mengandung banyak klorofil dengan ukuran kalus cukup besar sehingga regenerasi kalus berjalan dengan baik dan sel-sel aktif membelah (Busaifi dan Hirjani, 2019). Massa kalus dapat diperbanyak dengan menambahkan kombinasi hormon eksogen karena dapat memperpanjang proses pembelahan sel. Lingkungan tumbuh *in vitro* dapat dimodifikasi setelah dihasilkan massa kalus dari sepotong kecil jaringan induknya. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan akumulasi produk senyawa metabolit sekunder, mengurangi

eksplorasi, dan resiko kepunahan suatu spesies tanaman (Mastuti, 2020).

Kalus primer adalah kalus yang terbentuk pada jaringan eksplan (Mastuti *et al.*, 2020). Kalus primer dapat dilihat saat embrio yang pertama kali muncul (Finer, 1988). kalus putih hasil induksi kalus primer dapat menghasilkan kalus embriogenik. kalus embriogenik adalah kalus yang berkembang membentuk embrio somatik (Yelnititis, 2020). Kalus embriogenik memiliki ciri-ciri, yaitu warna kalus putih susu atau krem, struktur kalus kering, dan berstruktur remah. Kalus non embriogenik memiliki ciri-ciri, yaitu kalus bening kecoklatan, struktur kalus kompak dan basah (Alfian *et al.*, 2015).

2.4 Media Kultur Jaringan dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Perbanyak dengan teknik kultur jaringan pada umumnya menggunakan media dasar *Murashige and Skoog* (MS) karena efektif untuk induksi tunas *in vitro*. Komponen-komponen media kultur jaringan, yaitu air, hara makro, hara mikro, sumber energi (gula), vitamin, kompleks addenda, arang aktif, ZPT, dan pematid media (agar-agar). Air yang digunakan adalah air yang dimurnikan menggunakan destilator. Air tersebut sering disebut sebagai akuades atau air suling. Gula yang umumnya digunakan adalah sukrosa dengan konsentrasi 20-60 g/l. Gula yang dipakai untuk kultur embrio memiliki konsentrasi > 30 g/l (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

ZPT adalah senyawa organik (bukan nutrisi tanaman) yang dalam konsentrasi rendah (< 1 mM) mampu merangsang, menghambat pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan. ZPT terbagi menjadi lima golongan, yaitu auksin, sitokinin, asam absisik, giberelin dan etilen. Asam absisik berfungsi menghambat pertumbuhan, mempertahankan dormansi, merangsang dan penutupan stomata saat kekurangan air. Giberelin berfungsi untuk mendorong pemanjangan batang. Etilen berfungsi dalam pematangan buah dan merangsang penebaran (Wiraatmaja dan Rai, 2016).

Auksin dan sitokinin menjadi dua golongan ZPT yang sangat penting dalam kultur jaringan (Wiraatmaja, 2017). Auksin adalah ZPT yang disintesis oleh tanaman pada bagian meristematik. Jenis-jenis auksin, yaitu IAA, IBA, NAA, 2,4-D, dan picloram. Auksin berfungsi merangsang terbentuknya kalus dan embrio somatik, merangsang pertumbuhan akar, menghambat inisiasi akar, dan menghambat absisi. Sitokinin adalah ZPT yang merangsang pembelahan sel (sitokinesis). Jenis-jenis sitokinin, yaitu thidiazuron, BA/BAP, 2-iP, zeatin, dan kinetin. Sitokinin berfungsi merangsang pembelahan sel, merangsang pembentukan tunas adventif, meningkatkan aktivitas *sink*, dan menghambat *senses* (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Pertumbuhan kalus akan terhambat jika pemberian konsentrasi ZPT yang tidak tepat (Hardjo dan Hartatie, 2018). Media MS yang ditambah picloram mampu membentuk struktur embrio (Hankoua *et al.*, 2006). Menurut Moura *et al.* (2017) bahwa perlakuan picloram lebih baik dibandingkan dengan dicamba untuk pembentukan embrio somatik. Embrio somatik pada perlakuan picloram berwarna kekuningan dan mengkilat (Moura *et al.*, 2017). Danso *et al.* (2010) menyatakan bahwa picloram 8 atau 16 mg/l mampu membentuk kalus lebih cepat (dalam satu minggu kultur). Secara morfologis, embrio yang menggunakan perlakuan picloram seringkali lebih besar dan menghasilkan kalus embriogenik 90-100% (Danso *et al.*, 2010). Penggunaan 2,4-D dan picloram mampu meningkatkan kalus embriogenik 90-100% dan induksi embrio primer yang berasal dari eksplan daun muda. Media yang ditambah picloram mampu meningkatkan perkembangan awal kalus lebih cepat daripada 2,4-D. Picloram memiliki potensi dalam menginduksi kompetensi embriogenik dibandingkan 2,4-D (Danso *et al.*, 2010).

Menurut George *et al.* (2008), NAA yang masuk ke dalam golongan auksin yang dapat menginduksi terjadi embriogenesis somatik dengan melakukan terminasi pada ekspresi gen awal, dan mengaktifkan gen yang berfungsi untuk menghasilkan sel embriogenik. NAA dalam konsentrasi rendah berperan untuk mengatur sejumlah proses perkembangan seperti pembengkakan jaringan, pembelahan sel dan pembentukan akar adventif (Yelli *et al.*, 2022). Media MS

ditambah dengan NAA karena NAA berfungsi sebagai perangsang atau mendorong pengembangan sel (Lindung, 2014).

Kalus terbentuk akibat eksplan daun dipotong dan mengalami pelukaan. Setelah itu, sel-sel yang menyentuh media menjadi meristematik dan aktif membelah seperti jaringan penutup luka (Desriatin, 2010). Respon tersebut sering disebut dengan kalogenesis yang bertujuan untuk mendapatkan individu baru pada teknik kultur *in vitro*. Kalus akan lebih cepat terbentuk pada bagian bawah permukaan daun. Hal ini terjadi karena bagian bawah permukaan daun menyerap unsur hara yang terdapat di dalam media (Nisak *et al.*, 2012). Selain itu, di dalam media terkandung ZPT yang memacu pembengkakan (*swelling*) pada eksplan sehingga mempercepat waktu induksi kalus (Widuri *et al.*, 2015). Proliferasi sel dapat dihasilkan apabila rasio ZPT di dalam eksplan seimbang dengan ZPT dalam media tumbuh (Yelnititis, 2020).

2.5 Transformasi Genetik Ubi Kayu

Transformasi genetik adalah proses penyisipan gen asing ke tanaman tertentu yang bertujuan untuk mendapatkan tanaman unggul (Dwiyani *et al.*, 2016).

Teknologi rekayasa genetika dapat menyisipkan beberapa gen spesifik ke dalam genom tanaman tanpa merusak sifat agronomis yang dimiliki tanaman (Lestari, 2016). Program bioteknologi memungkinkan embriogenesis somatik sebagai alat dalam meningkatkan perbaikan genetik tanaman (Setiawan *et al.*, 2015). Variasi keragaman sumber daya genetik dapat terbentuk melalui variasi pada tanaman ubi kayu yang muncul dari hasil perbanyakan secara *in vitro* dengan penambahan ZPT sehingga bermanfaat dalam upaya perakitan varietas baru (Hartanti *et al.*, 2019). Eksplan yang ideal untuk transformasi genetik adalah embrio somatik karena memiliki kemampuan untuk menunjukkan embriogenesis berulang dan entitas selnya sedikit. Perkembangan sistem genetik pada tanaman sangat bergantung pada perkembangan regenerasi dari jaringan atau sel (Sood *et al.*, 2013).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juni 2022 sampai April 2023 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain autoklaf *Budenberg*, autoklaf *Tomy*, *Laminar Air Flow Cabinet (L AFC)*, gelas *beaker*, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, botol *schott*, mangkuk kecil, mikropipet, pH meter, pipet tetes, *magnetic stirrer*, botol kultur, timbangan analitik, timbangan digital, *scalpel*, *blade*, pinset, ubin/keramik, bunsen, *petri dish*, korek api, *sprayer*, *show case*, derigen, rak kultur, keranjang, kereta dorong, *box container*, kompor, tabung gas, panci, gayung, ember, bak, sabut pembersih, kain lap, mikroskop binokuler *Olympus*, kamera, komputer, dan alat tulis (penggaris, pensil, pena).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain tunas ubi kayu klon BW-1, TDS-S, dan Vamas-1, media MS0, picloram, *Naphthalene Acetic Acid (NAA)*, CuSO_4 , arang aktif, air, detergen, NaClO , sabun cuci piring, akuades, agar-agar, sukrosa, KOH 1 N, HCl 1 N, tisu, kapas, karet, plastik ukuran 12 x 25 cm, plastik *wrapping*, dan label.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial (3 x 3). Faktor pertama, yaitu klon ubi kayu (K) yang terdiri dari 3 taraf, yaitu klon BW-1 (K1), TDS-S (K2), dan Vamas-1 (K3). Faktor kedua, yaitu konsentrasi picloram (P) yang terdiri dari 3 taraf, yaitu picloram 4 mg/l (P1), 8 mg/l (P2), dan 12 mg/l (P3). Terdapat 9 kombinasi perlakuan yang masing-masing perlakuan terdiri atas 4 ulangan. Setiap ulangan terdiri atas 3 botol dengan masing-masing botol berisi 3 eksplan. Oleh karena itu, didapat 36 satuan percobaan dengan total eksplan 324.

Kombinasi perlakuan yang diperoleh adalah sebagai berikut:

1. K1P1 = klon BW-1 + picloram 4 mg/l + NAA 6 mg/l
2. K1P2 = klon BW-1 + picloram 8 mg/l + NAA 6 mg/l
3. K1P3 = klon BW-1 + picloram 12 mg/l + NAA 6 mg/l
4. K2P1 = klon TDS-S + picloram 4 mg/l + NAA 6 mg/l
5. K2P2 = klon TDS-S + picloram 8 mg/l + NAA 6 mg/l
6. K2P3 = klon TDS-S + picloram 12 mg/l + NAA 6 mg/l
7. K3P1 = klon Vamas-1 + picloram 4 mg/l + NAA 6 mg/l
8. K3P2 = klon Vamas-1 + picloram 8 mg/l + NAA 6 mg/l
9. K3P3 = klon Vamas-1 + picloram 12 mg/l + NAA 6 mg/l

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Asal sumber eksplan dan sterilisasi tunas

Sumber eksplan ubi kayu klon BW-1 berasal dari Tanjung Bintang, TDS-S diperoleh dari PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Lampung Tengah, dan Vamas-1 berasal dari BALITKABI Malang. Stek ubi kayu yang dipelihara di rumah kaca akan tumbuh tunas aksilar dalam waktu \pm 2 minggu. Tunas dengan 3 buku teratas diambil dan dipotong sepanjang \pm 5 cm. Tunas dicuci pada air mengalir selama 30 menit. Tunas dikocok di dalam LAFC dengan larutan NaClO 20% (20 ml NaClO + 80 ml air steril) dan ditambahkan *tween*-20 sebanyak 2 tetes/100 ml selama 15 menit dan dibilas sebanyak 3 kali dengan air steril. Tunas dikocok kembali

dengan alkohol 70% sebanyak 100 ml dan dibilas kembali sebanyak 3 kali (Yelli *et al.*, 2023).

3.4.2 Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang akan disterilisasi seperti botol, alat diseksi (pinset dan *scalpel*), keramik, *petri dish*, botol *schott*, gelas ukur, dan kapas. Botol kontam disusun kedalam autoklaf *Budenberg* dengan waktu sterilisasi selama 30 menit, pada suhu 121°C, dan tekanan 1,2 kg/cm². Setelah sterilisasi selesai, botol yang telah kosong (tidak ada tanaman maupun media kontam) dimasukkan ke dalam bak yang berisi air dan detergen ± 40 g (2 sendok takar). Botol dicuci dengan cara digosok hingga bersih menggunakan larutan *sunlight*. Bagian botol yang dicuci, yaitu bagian dalam dan luar botol serta melepas label yang masih menempel. Pastikan tidak ada sisa tanaman maupun media di bagian dalam maupun luar botol. Botol direndam ke dalam bak yang berisi air, detergen ± 40 g, dan NaClO 150 ml selama satu malam.

Botol kembali dicuci hingga benar-benar bersih dan dibilas di bawah air mengalir. Setelah itu, botol direndam air panas selama ± 15 menit. Botol ditiriskan dengan keadaan mulut botol berada di bawah kemudian diletakkan di atas kereta dorong yang sebelumnya telah dilap dengan larutan wipol dan dialasi kertas. Botol ditutup dengan plastik dan diikat karet. Botol yang telah bersih, kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf *Tomy* selama 30 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm². Setelah sterilisasi selesai, botol steril disusun ke dalam *box container* bersih.

Sterilisasi alat diseksi dilakukan dengan cara membungkus alat dengan kertas yang telah dilapisi plastik tahan panas dan diikat karet. Sterilisasi ubin dilakukan dengan cara membungkus alat dengan kertas dan diikat karet. Sterilisasi *petri dish* dilakukan dengan cara membungkus alat dengan plastik tahan panas dan diikat karet. Sterilisasi kapas dilakukan dengan memasukkan kapas ke dalam botol kultur. Sterilisasi gelas ukur dilakukan dengan menutup mulut gelas dengan plastik kemudian diikat karet. Alat dan bahan yang telah siap disterilisasi

kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf *Tomy* selama 30 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm².

3.4.3 Persiapan media

3.4.3.1 Pembuatan media

1. Media pre-kondisi (MS0)

Komponen media MS0 (Tabel 1) dicampur dengan sukrosa 30 g ke dalam gelas *beaker* yang sebelumnya sudah diisi akuades ± 300 ml. Larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan ditera dengan gelas ukur hingga mencapai volume akhir 1000 ml. Larutan dimasukkan kembali ke gelas *beaker* dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah itu, larutan diukur pHnya hingga mencapai 5,8 dengan menggunakan pH meter. Jika larutan terlalu asam (pH < 5,8) maka ditambahkan KOH 1N dengan pipet tetes, sedangkan jika larutan terlalu basa (pH > 5,8) maka ditambahkan HCl 1N. Media dimasak dengan mencampurkan agar-agar 7 g, kemudian diaduk hingga mendidih. Media yang telah masak dimasukkan ke dalam botol kultur steril yang diisi ± 30 ml media. Botol yang berisi media ditutup kembali menggunakan plastik dan diikat karet.

2. Media induksi kalus primer (MKP)

Media induksi kalus primer dibuat dengan komposisi media MS0 (Tabel 1) yang ditambahkan 2 µM CuSO₄, agar-agar 8 g, sukrosa 40 g, dan ZPT picloram dengan konsentrasi pada Tabel 2.

Tabel 1. Komposisi media MS (*Murashige and Skoog, 1962*)

Komponen media	Konsentrasi dalam media MS (mg/l)	Konsentrasi dalam larutan stok (mg/l)	Vol larutan stok per liter media (ml)
Stok Makro (10x)	-	-	100
NH ₄ NO ₃	1650	16500	-
KNO ₃	1900	19000	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	3700	-
KH ₂ PO ₄	170	1700	-
Stok Mikro A (100x)	-	-	10
H ₃ BO ₃	6,2	620	-
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9	1690	-
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	860	-
Stok Mikro B (100x)	-	-	10
KI	0,83	830	-
Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O	0,25	250	-
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	25	-
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	25	-
Stok CaCl₂ (100x)	-	-	10
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	44000	-
Stok Fe (100x)	-	-	10
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	2780	-
Na ₂ EDTA	37,5	3730	-
Stok Vitamin MS (100x)	-	-	10
Tiamin-HCl	0,1	10	-
Piridoksin-HCl	0,5	50	-
Asam Nikotinat	0,5	50	-
Glisin	2	200	-
Stok Mio-Inositol (10x)	-	-	100
Mio Inositol	100	1000	-

Tabel 2. Jenis dan konsentrasi ZPT picloram media induksi kalus primer

Perlakuan	Picloram (mg/l)	NAA (mg/l)
1	4	6
2	8	6
3	12	6

3. Media induksi embriogenesis somatik (MES)

Media induksi embrio menggunakan media MS0 pada Tabel 1 dengan menambahkan konsentrasi picloram 2 mg/l dan NAA 0,5 mg/l.

4. Media regenerasi tunas

Media regenerasi tunas adalah media MS0 (Tabel 1) yang ditambah dengan BA 0,2 mg/l. Media ini bertujuan untuk menginduksi tunas dari embrio.

5. Media pengakaran

Media pengakaran menggunakan media MS0 (Tabel 1) dan media MS0 yang ditambah arang aktif 1 g/l. Media ini bertujuan untuk menginduksi akar dari tunas yang telah tumbuh.

3.4.3.2 Sterilisasi media

Semua media yang telah dibuat sesuai dengan komposisinya, selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf *Tomy* selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1,2 kg/cm². Setelah media dingin dan padat, media disimpan dalam *box container* yang bersih.

3.4.4 Penanaman eksplan

3.4.4.1 Penanaman tunas pada media pre-kondisi

Tunas dipotong sepanjang ± 1 cm yang memiliki 1 mata tunas dengan menggunakan *scalpel* dan *blade*. Tunas ditanam ke dalam botol yang berisi media MS0 sebanyak 3 tunas/botol dengan posisi vertikal. Botol diberi label dengan mencantumkan jenis klon dan tanggal tanam. Setelah itu, bagian atas botol ditutup plastik *wrapping* sampai rapat. Eksplan disimpan ke dalam ruang kultur pada kondisi terang 24 jam dengan suhu $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Penyinaran bertujuan untuk mempercepat pertumbuhan tunas.

3.4.4.2 Penanaman eksplan pada media induksi kalus

Eksplan yang diambil berupa daun muda berukuran 5 mm x 2 mm dari tanaman berumur \pm 15 hari setelah subkultur pada media pre-kondisi. Daun yang dijadikan eksplan memiliki kriteria, yaitu daun paling muda yang telah membuka dengan ukuran 7-9 mm x 2-3 mm. Eksplan daun dipotong dengan membuang bagian tepi atas dan bawah sehingga membentuk persegi panjang. Eksplan dimasukkan ke media dengan posisi bagian bawah daun yang menyentuh media. Masing-masing botol diisi dengan 3 eksplan dan diberi label dengan mencantumkan jenis klon, perlakuan, dan tanggal tanam. Eksplan diinkubasi ke dalam ruang kultur selama 6 minggu pada kondisi gelap 24 jam dengan suhu $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan disubkultur setiap 3 minggu sekali ke media yang sama.

3.4.4.3 Induksi embriogenesis somatik

Kalus primer yang terbentuk pada minggu ke-3 ditimbang untuk menentukan bobot kalus. Penimbangan kalus dilakukan dalam kondisi aseptik di dalam LAFC. Setelah itu, kalus dipindah ke media MS0 yang ditambahkan picloram 2 mg/l dan NAA 0,5 mg/l. Kalus diinkubasi selama \pm 4 minggu pada kondisi gelap 24 jam dengan suhu $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Kemudian, induksi tunas dari embrio menggunakan media MS0 yang ditambah BA 0,2 mg/l. Tunas diinkubasi pada kondisi terang 16 jam dan gelap 8 jam dengan suhu $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Pengamatan secara visual

Pengamatan secara visual dilakukan setiap 2 hari sekali selama 3-4 Minggu Setelah Tanam (MST) untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan kalus. Pengamatan visual terdiri dari warna kalus, struktur kalus, munculnya kalus pertama dari eksplan, dan fase embrio somatik. Warna kalus yang berasal dari eksplan daun diamati dari eksplan dikulturkan hingga eksplan membentuk kalus. Pengamatan struktur kalus dilakukan dengan melihat kalus kompak dan kalus

remah. Pengamatan munculnya kalus pertama dari eksplan dilakukan dengan melihat bagian yang muncul pada kalus pertama (bagian tepi daun atau tulang daun). Pengamatan fase embrio somatik dilakukan dengan melihat fase globular, hati, torpedo, dan kotiledon.

3.5.2 Waktu muncul kalus primer

Waktu muncul kalus diamati setiap 2 hari sekali selama 3 MST atau hingga semua daun sudah berkalus. Inisiasi pembentukan kalus primer ditandai dengan bagian eksplan yang mengkerut, membesar, dan berwarna putih kekuningan (Han *et al.*, 2011).

3.5.3 Persentase eksplan berkalus primer

Persentase eksplan berkalus diamati saat kalus berumur 3 MST. Rumus penghitungan persentase eksplan berkalus adalah sebagai berikut.

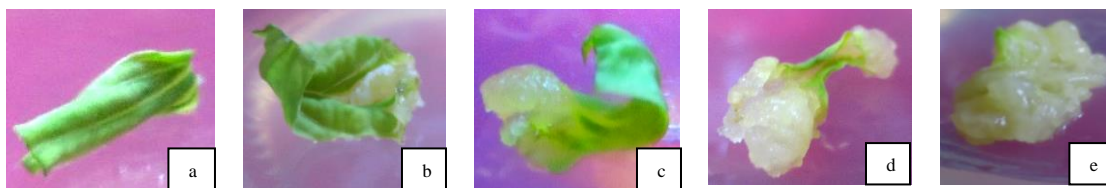
$$\text{Persentase eksplan berkalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan berkalus}}{\text{Total eksplan}} \times 100$$

3.5.4 Scoring persentase pembentukan kalus per eksplan

Pengamatan *scoring* persentase pembentukan kalus per eksplan dilakukan pada minggu ke-1 dan minggu ke-3 di media induksi kalus primer. Persentase pembentukan kalus primer (Gambar 4) dikelompokkan dengan menggunakan *scoring* 0-4 yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. *Scoring* persentase pembentukan kalus primer

Skor	Interval pembentukan kalus primer pada eksplan (%)
0	Kalus belum terbentuk
1	Kalus terbentuk hingga 25% pada eksplan
2	Kalus terbentuk > 25% hingga 50% pada eksplan
3	Kalus terbentuk > 50% hingga 75% pada eksplan
4	Kalus terbentuk > 75% pada eksplan



Gambar 4. Keragaan pembentukan kalus per eksplan berdasarkan *scoring* a) skor 0, b) skor 1, c) skor 2, d) skor 3, e) skor 4 (Yelli *et al.*, 2023).

3.5.5 Bobot kalus primer

Bobot kalus primer ditimbang dengan cara menimbang seluruh bagian eksplan (berkalus dan tidak berkalus) tanpa dipotong saat umur 3 MST sekaligus dilakukan subkultur ke media induksi kalus primer. Bobot kalus primer ditimbang di dalam LAFC dalam kondisi steril.

3.5.6 Persentase eksplan berembrio

Persentase eksplan berembrio diamati saat kalus berumur 6 MST dari masing-masing perlakuan. Rumus penghitungan persentase eksplan berembrio adalah sebagai berikut.

$$\text{Persentase eksplan berembrio} = \frac{\text{Jumlah eksplan berembrio}}{\text{Total eksplan}} \times 100$$

3.5.7 Jumlah embrio somatik per eksplan

Pengamatan jumlah embrio somatik per eksplan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler *Olympus*. Pengamatan dilakukan saat kalus berumur 6 MST di media induksi embrio somatik.

3.5.8 Jumlah tunas hasil embrio somatik

Jumlah tunas hasil embrio somatik dihitung saat berumur 8 MST di media pengakaran (MS0). Tunas yang dihitung adalah tunas normal dan abnormal.

3.6 Analisis Data

Variabel pengamatan yang dilakukan analisis data meliputi waktu muncul kalus (HST), *scoring* persentase pembentukan kalus per eksplan 3 MST (%), dan bobot kalus primer 3 MST (g). Sedangkan variabel yang tidak dilakukan analisis data, yaitu persentase eksplan berkalus primer 3 MST (%), persentase eksplan berembrio 6 MST (%), jumlah embrio somatik per eksplan 6 MST, dan jumlah tunas hasil embrio somatik 8 MST. Data yang diperoleh dilakukan uji homogenitas ragam menggunakan uji Bartlett. Jika asumsi terpenuhi maka dilanjutkan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Perlakuan yang menunjukkan perbedaan yang signifikan dilakukan pemisahan nilai tengah menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Picloram 4 mg/l mampu menginduksi kalus primer berdasarkan persentase eksplan berkalus pada BW-1 dan TDS-S (100%) dan *scoring* 3,1 (luas eksplan berkalus hingga 75%). Picloram 4 dan 12 mg/l mampu menginduksi embriogenesis somatik berdasarkan persentase eksplan berembrio klon TDS-S pada picloram 4 mg/l ($38,7 \pm 0,8\%$) dan jumlah embrio klon TDS-S pada picloram 12 mg/l ($38,5 \pm 21,0$ embrio).
2. Klon TDS-S mampu membentuk kalus dalam waktu 12,3 HST, bobot kalus 0,13 g, persentase eksplan berembrio sebesar $38,7 \pm 0,8\%$, dan jumlah embrio ($38,5 \pm 21,0$ embrio).
3. Tidak terdapat interaksi antara klon dan konsentrasi picloram dalam menginduksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka disarankan penelitian lanjutan untuk mencari media yang tepat untuk meningkatkan jumlah embrio yang dihasilkan per eksplan serta penelitian lanjutan untuk mendapatkan konsentrasi media yang tepat supaya embrio dapat membentuk planlet dengan persentase yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, F. N., Restanto, D. P., dan Soeparjono, S. 2015. induksi kalus embriogenik tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) varietas NXI 1-3. *Berkala Ilmiah Pertanian* 10(10) : 1-4.
- Anggraeni, D., Ismaini, L., Surya, M. I., Rahmi, H., dan 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. *Jurnal Agrikultura* 33(3) : 276-288.
- Anuradha, T., Kumar, K. K., and Balasubramanian, P. 2015. Cyclic somatic embryogenesis of elite Indian cassava variety H-226. *Indian Journal of Biotechnology* 14 : 559-565.
- Ardian, Setiawan, K., Noerwijati, K., Utomo, S. D., Yelli, F., Syaifudin, A., and Sungkono. 2023. Detection of early harvest cassava clone through plant height development and starch content in dry land of Lampung. *ISSAAS-SEAPPRO-22* 1208 : 1-5.
- Ariani, L., Estiasih, T., dan Martati, E. 2017. Physicochemical characteristic of cassava (*Manihot utilisima*) with different cyanide level. *Jurnal Teknologi Pertanian* 18(2) : 119-128.
- Asnawi, R. 2003. Analisis fungsi produksi usahatani ubikayu dan industri tepung tapioka rakyat di Provinsi Lampung. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Lampung. *J. Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian* 6(2): 131-140.
- Atehnkeng, J., Adetimirin, V. O., and Ng, S. Y. C. 2006. Exploring the African cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) germplasm for somatic embryogenic competence. *Afr J Biotechnol* 5(14) : 1324-1329.
- Ayuningrum, K., Budisantoso, I., dan Kamsinah. 2015. Respon pemberian hormon 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan subkultur kalus kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) secara in vitro. *Biosfera* 32(1) : 59-65.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2019. *Badan Litbang Pertanian Varietas Vamas-1*. <http://www.litbang.pertanian.go.id/varietas/1400/>. Diakses pada 21 Januari 2023 pukul 19.21.

- Bargumono, H. M. dan Wongsowijaya, S. 2013. 9 *Umbi Utama Sebagai Pangan Alternatif Nasional*. Leutika prio. Yogyakarta.
- Bhojwani, S. S. and Soh, S. W. Y. 1999. *Morphogenesis in plant tissue culture*. Dordrecht Kluwer Academic Publisher.
- Budaya, M. S., Mursyanti, E., dan Yuda, P. 2022. Transformasi genetik pada kalus embriogenik tanaman suku *Rubiaceae*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 7(2) : 94-107.
- Busaifi, R. dan Hirjani. 2019. induksi kalus embriogenik tanaman tebu (*Saccharum Officinarum* L.) pada berbagai kombinasi 2,4D dan BAP secara in vitro. *Agrosains* 5(2) : 91-102.
- Danso, K. E., Elegba, W., Oduro, V., Kpentey, P. 2010. Comparative study of 2,4-D and picloram on friable embryogenic calli and somatic embryos development in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *International Journal of Integrative Biology* 10(2) : 94 - 100.
- Desriatin, N. L. 2010. *Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh IAA dan Kinetin terhadap Morfogenesis pada Kultur In Vitro Tanaman Tembakau (Nicotiana tabacum* L. var. Pracak-95). Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Dwiyani, R., Yuswanti, H., Darmawati, I. A. P., dan Mayadewi, N. N. A. 2016. *Transformasi Genetik pada Tanaman Melalui Agrobacterium tumefaciens*. Swasta Nulus. Bali.
- Fadilah, R., Ratnasari, E., dan Isnawati. 2014. Induksi dan pertumbuhan kalus daun tin (*Ficus carica*) dengan penambahan berbagai kombinasi konsentrasi IBA dan kinetin pada media MS secara in vitro. *LenteraBio* 3(3) : 141-146.
- Finer, J. J. 1988. Apical proliferation of embryogenic tissue of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *Plant Cell Rep* 7 : 238-241.
- Fitriani, H. 2016. Friable embryogenic callus (FEC) sebagai material perbaikan sifat unggul ubi kayu. *BioTrends* 7(1) : 9-13.
- Freepik. 2023. *Cassava Tree Plant with Roots*. <https://pin.it/7jQD6fD>. Diakses pada 17 September 2023 pukul 22.14.
- Fukuda, W. M. G., Guevara, C. L., Kawuki, R., and Ferguson, M. E. 2010. *Selected Morphological and Agronomic Descriptors for The Characterization of Cassava*. IITA. Ibadan.
- George, E. F., Hall, M. A., and Klerk, G. D. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3 ed. Springer. Belanda.

- Han, Y., Wu, F., Jin, X. and Zhang, G. 2011. Genotypic differences in callus induction and plant regeneration from mature embryos of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Zhejiang University Science B* 12(5) : 399-407.
- Hankoua, B. B., N. J., Taylor, S. Y. C., Ng, I., Fawole, J., Puonti-Kaerlas, C., Padmanabhan, J. S., Yadav, C. M., Fauquet, A. G. O., Dixon, V.N. and Fondong. 2006. Production of the first transgenic cassava in Africa via direct shoot organogenesis from friable embryogenic calli and germination of maturing somatic embryos. *Afr J Biotechnol*, 5(19) : 1700-1712.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2018. *Kultur Jaringan (Teori dan Praktik)*. ANDI (Anggota IKAPI). Yogyakarta.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2022. *Embriogenesis Somatik In Vitro untuk Perbanyakkan Klonal dan Pemuliaan Tanaman*. AURA, CV. Anugrah Utama Raharja, dan Anggota IKAPI. Bandar Lampung.
- Hardjo, P. H., dan Hartatie. 2018. *Kultur Jaringan Anggrek Embriogenesis Somatik Vanda tricolor* (Lindl.) var. *pallida*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Hariyanto, H. N., Nurchayati, Agus Sufajari, A., dan Kurnia, T. I. D. 2020. Identifikasi keanekaragaman hama kutu putih (*mealybug*) pada tanaman singkong di kecamatan Wongsorejo dan Kalipuro. *Biosense* 3(1) : 1-15.
- Hartanti, F., Miftahudin, dan Hartati, N. S. 2019. Keragaman morfologi dan molekuler ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) hasil perbanyakkan in vitro. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia* 6(2) : 288-300.
- Hayu, A. A. 2021. *Penyebaran Penyakit Bercak Daun Coklat (Cercospora henningsii* Allesch.) pada Ubi Kayu di Kecamatan Pematang Bandar Kabupaten Simalungun Provinsi Sumatera Utara. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hidayah, V. N., dan Dewanti, P. 2023. Pengaruh kombinasi BAP (6-Benzylaminopurine) dan 2,4-D (Dichlorophenoxy acetic acid) untuk pembentukan kalus tebu (*Saccharum officinarum* L.) melalui metode thin cell layer. *Jurnal Agrotek Tropika* 11(1) : 89-95.
- Indah, P. N. dan Ermavitalini, D. 2013. Induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains Dan Seni Pomits* 2(1) : 1-6.
- Koetle, M. J., Finnie, J. F., Balazs, E., and Van Staden, J. 2015. A review on factors affecting the *Agrobacterium*-mediated genetic transformation in ornamental monocotyledonous geophytes. *South African Journal of Botany* 98 : 37-44.

- Kotto, F., Yuliadi, E., Setiawan, K., Hadi, M. S. 2020. Inventarisasi Klon Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Di Empat Wilayah Provinsi Lampung. *Journal of Tropical Upland Resources* 2(2) : 162-172.
- Kusnardi. 2019. *Kinerja Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Lampung Tahun 2014-2018*. Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Lampung. Bandar Lampung.
- Lestari, E. G. 2016. *Pemuliaan Tanaman Melalui Induksi Mutasi dan Kultur In Vitro*. IAARD Press. Jakarta.
- Lina, F. dan Wahyono, R. 2013. Pengaruh 6-benzylamino purine (BAP) dan 6-furfuryl amino purine (kinetin) pada media MS terhadap pertumbuhan eksplan ujung apikal tanaman jati secara in vitro. *LenteraBio* 2(1) : 167-178.
- Lindung. 2014. *Teknologi Aplikasi Zat Pengatur Tumbuh*. Balai Pelatihan Pertanian. Jambi.
- Manurung, B. H., Damanik, R. I., dan Bayu, E. S. 2018. Kombinasi 2,4 D dan BAP untuk induksi kalus embriogenik beberapa varietas kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) pada kondisi hipoksia secara in vitro. *Jurnal Agroekoteknologi FP USU* 6(1) : 86-92.
- Marigi, E. N., Masanga, J. O., Munga, T. L., Karanja, L. S., Ngugi, M. P., Thagana, W. M., Kirubi, D., Mwangi, M., Githunguri, C. M., Muiru, W. M., Miano, D. W., Alakonya, A. E., and Oduor, R. O. 2016. Optimisation of a somatic embryogenesis and transformation protocol for farmer-preferred cassava cultivars in Kenya. *African Crop Science Journal* 24 : 35-44.
- Marisa, F., Hidayati, L., Sasongko, A. B., dan Nuringtyas, T. R. 2021. Callus induction from cotyledon of *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke. *Jurnal Biologi Tropis* 21(2) : 427-433.
- Marthani, Q., Anggraito, Y., Rahayu, E. 2016. Kalogenesis eksplan setengah biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) secara in vitro menggunakan BAP dan NAA. *Jurnal Unnes* 5(1).
- Mastuti, R., Widoretno, W., dan Harijati, N. 2020. Kultur kalus tanaman obat ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Journal of Tropical Biology* 8(1) : 26-35.
- Mongomake, K., Doungous, O., Khatabi, B., and Fondong, V. N. 2015. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *SpringerPlus* 4 : 477.
- Moura, L. C. D., Xavier, A., Cruz, A. C. F. D., Gallo, R., Gatti, K. C., Miranda, N. A., and Otoni, W. C. 2017. Effect of explant type, culture media and picloram and dicamba growth regulators on induction and proliferation of

- somatic embryos in *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. *Revista Arvore* 41(5): 1-10.
- Murashige, T., and Skoog, F. K. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15 : 473-497.
- Ngugi, M. P., Oduor, R. O., Omwoyo, R. O., Njagi, J. M., Mgtutu, A. J., and Cheruiyot, R. C. 2015. Regeneration of Kenyan cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) genotypes. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology* 3(2) : 1-7.
- Nisak, K., T. Nurhidayati., dan Purwani, K. I. 2012. Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada kultur jaringan tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* 1(1) : 1-6.
- Nugroho, C. C. 2014. *Induksi Kalus Embriogenik Beberapa Genotipe Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz.)*. Unikarta. Tenggara.
- Nugroho, C. C. 2017. Induksi kalus embriogenik beberapa genotipe ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.). *Jurnal Magrobis* 17(1) : 1-15.
- Nurhidayanti, Aristoteles, dan Apriantari, A. 2021. Uji kadar asam sianida pada ubi kayu dengan perendaman NaCl dan NaHCO₃ metode spektrofotometri. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam* 18(2) : 138-145.
- Purba, R. V., Yuswanti, H., dan Astawa, I. N. G. 2017. Induksi kalus eksplan daun tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) dengan aplikasi 2,4-D secara in vitro. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* 6(2) : 218-228.
- Purwianingsih, W., dan Yuniarti, L. 2004. Anatomi kalus dari eksplan *Catharanthus roseous* (L.). G. Don dan tapak dara. *Jurnal Pengajaran MIPA* 5(1) : 19-29.
- Rusdianto dan Indrianto, A. 2012. Induksi kalus embriogenik pada wortel (*Daucus carota* L.) menggunakan 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Jurnal Bionature* 13(2) : 136-140.
- Saepudin, A., Nurul Khumaida, N., Sopandie, D., dan Ardie, S. W. 2015. Induksi dan proliferasi embriogenesis somatik in vitro pada lima genotipe kedelai. *J. Agron. Indonesia* 44(3) : 261-270.
- Saifuddin. 2022. *Karakteristik Morfologi Beberapa Varietas Tanaman Ubi Kayu (Manihot Esculenta Crantz) di Tarakan*. Skripsi. Universitas Borneo Tarakan. Tarakan.
- Sari, Y. P., Kusumawati, E. Saleh, C., Kustiawan, W., and Sukartingsih. 2018. Effect of sucrose and plant growth regulators on callogenesis and

- preliminary secondary metabolic of different explant *Myrmecodia tuberosa*. *Nusantara Bioscience* 10(3) : 183-192.
- Sasmita, H. D., Dewanti, P., dan Alfian, F., N. 2022. Somatik Embriogenesis Anggrek *Dendrobium lasianthera x Dendrobium antennatum* dengan Penambahan BA dan NAA. *J. Agron. Indonesia* 50(2) : 202-208.
- Setiawan, K., Paringin, A. E. D., Yuliadi, E., Hadi, M. S., and Ardian. 2021. The effect of micro fertilizer on growth and yield of two cassava clones (*Manihot esculenta* Crantz) planting in early dryseason, South Lampung, Indonesia. *Earth and Environmental Science* 824012002.
- Setiawan, R. B., Khumaida, N., dan Dinarti, D. 2015. *Induksi Mutasi Tanaman Gandum (Triticum Aestivum L.) Melalui Iradiasi Sinar Gamma secara In Vitro Untuk Toleransi Terhadap Suhu Tinggi*. Skripsi. IPB University. Bogor.
- Shinta, Minarno, E. B., Rofiqoh, I. 2020. In vitro embryogenic callus induction of *Carica pubescens* Lenne and *K.Koch* using 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) and BAP (6-Benzylaminopurin). *Journal of Biological Researches* 25(2) : 38-44.
- Sisharmini, A., Apriana, A., dan Sustiprijatno. 2010. Induksi kalus dan regenerasi beberapa genotipe gandum (*Triticum aestivum* L.) secara in vitro. *Jurnal AgroBiogen*, 6(2) : 57-64.
- Sitorus, E. N., Hastuti, E. D., dan Setiari, N. 2011. Induksi kalus binahong (*Basella rubra* L.) secara in vitro pada media Murashige & Skoog dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda. *BIOMA* 13(1) : 1-7.
- Sood, A., Bhattacharya, A., Sharma, M., Sharma, R. K., Nadha, H. K., Sood, P., Mehta, R., Kaur, D., Brar, J., and Ahuja, P. S. 2013. *Somatic Embryogenesis and Agrobacterium Mediated Genetic Transformation in Bamboos*. Narosa Publishing House. New Delhi.
- Sukma, D., Efendi, D., Ragapadmi., dan Pusparani, R. 2010. *Inisiasi Kalus Embriogenik Dari Eksplan Embrio Zlotik Durian*. IPB. Bogor.
- Syombua, E. D., Wanyonyi, C. N., Adero, M. O., Mbinda, W. M., Ngungi, M. P. M., Alakonya, A. E., and Oduor, R. O. 2019. Explant type and hormone regime influences somatic embryogenesis and regeneration in cassava. *African Journal of Biotechnology* 18(25) : 532-539.
- Ubalua, A. O. and Mbanaso, E. 2014. Somatic embryogenesis in two Nigerian cassava cultivars (Sandpaper and TMS 60444). *J. Evol. Biol. Res* 6(3) : 9-12.

- Wahyuni, A., Satria, B., dan Zainal, A. 2020. Induksi kalus gaharu dengan NAA dan BAP secara in vitro. *Agrosains* 22(1) : 39-44.
- Wardani, D. P., Solichatun, dan Setyawan, A. D. 2004. Pertumbuhan dan produksi saponin kultur kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada variasi penambahan asam 2,4-Diklorofenoksi asetat (2,4-D) dan kinetin. *Biofarmasi* 2(1) : 35-43.
- Widuri, L. I., Dewanti, P., dan Soeparjono, S. 2015. Induksi somatik embriogenesis tanaman tebu transgenik bebas virus (*Saccharum officinarum* L.) sut event 02 menggunakan 2,4-D dan BAP. *Berkala Ilmiah Pertanian* 10(10) : 1-5.
- Wijaya, H., Lestari, A., dan Sandra, E. 2022. Pengaruh jenis eksplan dan komposisi media terhadap pembentukan embrio somatik tanaman aglaonema Aceh (*Aglaonema rotundum*) secara in vitro. *AGROHITA Jurnal* 7(4) : 670-679.
- Wiraatmaja, I. W. 2017. *Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Cara Penggunaannya dalam Bidang Pertanian*. Universitas Udayana. Denpasar.
- Wiraatmaja, W., dan Rai, I. N. 2016. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. UNUD. Denpasar.
- Xiong, Y., X. Yang, T. Gao, T. Zhao, Z. Chen, X. An. 2018. High-efficiency somatic embryogenesis from seedlings of *Koeleruteria paniculata* Laxm. *Forest* 9 : 1-17.
- Yelli, F., Ardian., dan Utomo, S. D. 2022. Pengaruh BA dan NAA terhadap multiplikasi tunas ubi kayu secara in vitro. *Jurnal AGRO* 9(2): 193-207.
- Yelli, F., Titin, A., Utomo, S. D., and Pathak, A. 2023. Somatic embryogenesis in two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Not Bot Horti Agrobi* 51(1): 13039.
- Yelnititis. 2013. Induksi embrio somatik *Shorea pinanga* Scheff. pada kondisi fisik media berbeda. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 7(2) : 73-84.
- Yelnititis. 2020. Induksi kalus embriogenik dan embrio somatik dari eksplan daun kulim (*Scorodocarpus borneensis* Becc.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 14(2) : 75-83.
- Yunita, R., Khumaida, N., Sopandie, D., dan Mariska, I. 2017. Optimasi regenerasi padi indica melalui jalur organogenesis. *Jurnal AgroBiogen* 13(1) : 35-42.