

**EMBRIOGENESIS SOMATIK EKSPLAN DAUN MUDA UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS VATI-1 DENGAN PENAMBAHAN
PICLORAM ATAU 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D)
PADA MEDIA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

ANNILEN



**UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

**SOMATIC EMBRYOGENESIS OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz)
YOUNG LEAF EXPLANTS VARIETY VATI-1 BY ADDITION OF
PICLORAM OR 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D) IN
VITRO MEDIUM**

By

ANNILEN

The development of cassava faces problem in low productivity and limited availability of superior planting materials. Efforts to increase the availability of superior cassava planting materials is by plant propagation through somatic embryogenesis. The objective of this study was to determine the effect of the concentration of several types of auxin in inducing primary callus and somatic embryo formation of cassava variety Vati-1. This study used a single-factor completely randomized design (CRD). The factor was the concentration of various types of auxin, namely: A1 (MS + NAA 6 mg/l) as the control, A2 (MS + NAA 6 mg/l + Picloram 8 mg/l), A3 (MS + NAA 6 mg/l + Picloram 12 mg/l), A4 (MS + NAA 6 mg/l + Picloram 15 mg/l), A5 (MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 8 mg/l), A6 (MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 12 mg/l), A7 (MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 15 mg/l). The data obtained were tested for homogeneity with Bartlett test. Then the data were analyzed using ANOVA and continued with the comparison of the mean values using the LSD test at the 5% level. The results showed that all treatments induced callus in cassava variety Vati-1 with the percentage of callus explants more than 90%. The percentage of callus explants in the treatment of picloram 8 mg/l, picloram 15 mg/l, 2,4-D 8 mg/l, 2,4-D 12 mg/l is 100% and in the control treatment, picloram 12 mg/l, 2,4-D 15 mg/l is $97 \pm 0.35\%$. Only picloram 8 mg/l treatment induced somatic embryos with a percentage of embryonic explants of 63.9 ± 0.78 , the average number of somatic embryos per callus was 12.87 ± 0.18 embryos and the number of primary somatic embryos was 296 embryos.

Keywords: Cassava, Picloram, Somatic Embryogenesis, Vati-1

ABSTRAK

EMBRIOGENESIS SOMATIK EKSPLAN DAUN MUDA UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS VATI-1 DENGAN PENAMBAHAN PICLORAM ATAU 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D) PADA MEDIA *IN VITRO*

Oleh

ANNILEN

Permasalahan dalam pengembangan ubi kayu yaitu produktivitas yang rendah dan ketersediaan bibit unggul yang terbatas. Upaya untuk meningkatkan ketersediaan bibit unggul ubi kayu salah satunya yaitu dengan perbanyak tanaman melalui embriogenesis somatik. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin dalam menginduksi kalus primer dan embrio somatik ubi kayu varietas Vati-1. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal. Faktor tersebut adalah konsentrasi berbagai jenis auksin yaitu: A1 (MS + NAA 6 mg/l) sebagai kontrol, A2 (MS + NAA 6 mg/l + Picloram 8 mg/l), A3 (MS + NAA 6 mg/l + Picloram 12 mg/l), A4 (MS + NAA 6 mg/l + Picloram 15 mg/l), A5 (MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 8 mg/l), A6 (MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 12 mg/l), A7 (MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 15 mg/l). Data yg diperoleh di uji homogenitas dengan uji bartlett. Kemudian data dianalisis menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji BNT pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan dapat menginduksi kalus primer pada ubi kayu varietas Vati-1 dengan persentase eksplan berkalus lebih dari 90%. Persentase eksplan berkalus pada perlakuan picloram 8 mg/l, picloram 15 mg/l, 2,4-D 8 mg/l, 2,4-D 12 mg/l yaitu 100% dan pada perlakuan kontrol, picloram 12 mg/l, 2,4-D 15 mg/l yaitu $97 \pm 0,35\%$. Dalam penelitian ini, hanya perlakuan picloram 8 mg/l yang dapat menginduksi embrio somatik dengan persentase eksplan berembrio sebesar $63,9 \pm 0,78$, rerata jumlah embrio somatik per kalus $12,87 \pm 0,18$ embrio dan jumlah embrio somatik primer yaitu 296 embrio.

Kata kunci: Embriogenesis somatik, Picloram, Singkong, Vati-1

**EMBRIOGENESIS SOMATIK EKSPLAN DAUN MUDA UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS VATI-1 DENGAN PENAMBAHAN
PICLORAM ATAU 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D)
PADA MEDIA *IN VITRO***

Oleh

Annilen

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi

**: EMBRIOGENESIS SOMATIK EKSPLAN
DAUN MUDA UBI KAYU (*Manihot esculenta*
Crantz) VARIETAS VATI-1 DENGAN
PENAMBAHAN PICLORAM ATAU 2,4-
DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D)
PADA MEDIA *IN VITRO***

Nama

: Annilen

NPM

: 2014161021

Jurusan

: Agronomi dan Hortikultura

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

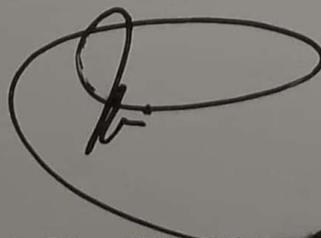


Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D.
NIP 197905152008122005



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

2. Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura



Ir. Maria Viva Rini, M.Agr.Sc., Ph.D.
NIP 196603041990122001

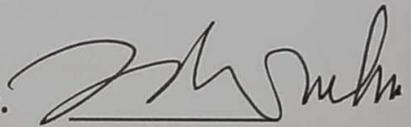
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

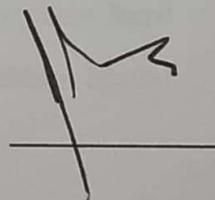
Ketua : Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D.



Sekretaris : Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc.



Anggota : Ir. Ardian, M.Agr.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kusyanta Futas Hidayat, M.P.

NIP 196411181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **08 Oktober 2024**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “**Embriogenesis Somatik Eksplan Daun Muda Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Varietas Vati-1 dengan Penambahan Picloram atau 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) pada Media *In Vitro***” merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian 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, 08 Oktober 2024
Penulis,



Annilen
NPM 2014161021

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Gunung Megang Kabupaten Tanggamus pada tanggal 30 Juni 2002 yang bernama Annilen merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan almarhum Bapak Mustar dan almarhumah Ibu Dimawanah. Kakak penulis bernama Ansella Safira dan Adik penulis bernama Dion Marvel. Penulis bertempat tinggal di Desa Gunung Megang, Kecamatan Pulau Panggung, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Gunung Megang pada tahun 2014. Pada tahun 2017 penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Talang Padang pada tahun 2017. Pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Sumberejo pada tahun 2020.

Penulis merupakan mahasiswa aktif di program studi Agronomi, Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang diterima pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Penulis juga aktif pada kegiatan organisasi mahasiswa sebagai anggota Bidang Kaderisasi dan Organisasi periode 2021– 2022 dan sebagai Bendahara Bidang Kaderisasi dan Organisasi HIMAGRHO periode 2023. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Desa Punjul Agung, Kecamatan Buay Bahuga, Kabupaten Waykanan, Provinsi Lampung pada bulan Januari-Februari 2023. Penulis melaksanakan program Praktik Umum (PU) di PT Great Giant Food (GGF) yang berlokasi di Lampung Tengah pada bulan Juli-Agustus 2023. Penulis juga pernah menjadi asisten dosen dalam mata kuliah Biologi, Pembiakan Vegetatif dan Kultur Jaringan pada tahun 2023.

Karya Sederhana Ini Penulis Persembahkan

Untuk Orang-Orang Tersayang

**Almh. Mak, Alm. Bak, Kang Sella, Marvel, Kak Rizki dan Semua Keluarga
Besar Penulis Sebagai Rasa Hormat dan Terima Kasih Atas Segala Do'a dan
Dukungan**

Serta

**Almamater Tercinta
Universitas Lampung**

SANWACANA

Puji syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. atas segala rahmat, hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul “**Embriogenesis Somatik Eksplan Daun Muda Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Varietas Vati-1 dengan Penambahan Picloram atau 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) pada Media *In Vitro***”. Dengan selesainya penulisan skripsi ini tentu tidak terlepas dari segala bantuan, arahan, nasihat, motivasi, dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Ibu Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D. selaku Pembimbing Pertama sekaligus Pembimbing Akademik yang sudah penulis anggap sebagai ibu selama di perkuliahan, terima kasih banyak karena telah memberikan waktu, bimbingan, nasihat, pengarahan, kritik dan saran, serta semangat kepada penulis selama perkuliahan, pelaksanaan penelitian hingga skripsi ini dapat selesai.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc. selaku Pembimbing Kedua yang telah meluangkan waktu dalam membimbing penulis, memberikan saran, masukan, arahan dan motivasi bagi penulis selama pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.
4. Bapak Ir. Ardian, M.Agr. selaku Penguji yang telah memberikan saran, nasihat, dan arahan kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi.
5. Ibu Ir. Maria Viva Rini, M.Agr.Sc., Ph.D. selaku Ketua Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

6. Seluruh Dosen Jurusan Agronomi dan Hortikultura yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman selama penulis menempuh Pendidikan di Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
7. Kedua orang tua tercinta, almarhumah Mak, almarhum Bak, Kakak Ansella Safira, Adik Dion Marvel serta semua keluarga besar yang telah memberikan doa, dukungan, motivasi, kasih sayang, dan cinta kepada penulis.
8. Indah Saskia Sofiyan, Sabrina Salsabila Sulaeman, dan Vernanda Saktilas, sebagai teman satu penelitian yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi, terima kasih untuk suka dan duka yang dialami selama penelitian ini.
9. Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Ibu Hayane Adeline Warganegara, S.P., M.Si., Lilis, Retna, Kalvina, Fiska, Tedy, Miftah, Mba Lika, Mba Anggun, Mba Nabila, Mba Jessy, Bang Wahyu, Bang Wahyudi yang memberikan semangat, dukungan, bantuan, dan pengajaran selama proses magang dan penelitian.
10. Oktavianus Gading Saputra, yang selalu memberi semangat, dukungan, dan bantuan kepada penulis selama perkuliahan, penelitian sampai dengan selesainya penulisan skripsi ini.
11. Semua teman-teman Agronomi dan Hortikultura angkatan 2020 tercinta yang telah kebersamai penulis selama masa perkuliahan.
12. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan atas bantuan yang diberikan kepada penulis. Penulis sangat menyadari masih banyak kekurangan dalam skripsi ini, akan tetapi penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Bandar Lampung, 08 Oktober 2024



Annilen

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Landasan Teori	5
1.5 Kerangka Pemikiran.....	7
1.6 Hipotesis.....	9
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Deskripsi Umum Tanaman Ubi Kayu	10
2.2 Pemanfaatan Ubi Kayu.....	11
2.3 Kultur Jaringan dan Embriogenesis Somatik Ubi Kayu.....	12
2.4 Media Kultur Jaringan dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).....	15
III. METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.3 Metode Penelitian.....	18
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	18
3.5 Variabel Pengamatan.....	25
3.6 Analisis Data.....	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Hasil.....	29
4.2 Pembahasan.....	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1 Kesimpulan.....	44

5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi media MS (Murashige and Skoog, 1962)	21
2. Skor pembentukan kalus primer per eksplan.....	27
3. Rekapitulasi analisis ragam pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin pada pembentukan embrio somatik varietas Vati-1	33
4. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap persentase eksplan berkalus pada 3 MSI (%).....	35
5. Rerata skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 1 MSI.....	35
6. Rerata skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 3 MSI.....	37
7. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap persentase eksplan berembrio pada 6 MSI (%).....	38
8. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap jumlah Embrio pada 6 MSI.....	39
9. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap waktu muncul kalus primer.....	51
10. Analisis ragam pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap waktu muncul kalus primer.....	51
11. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap bobot kalus primer.....	51
12. Analisis ragam pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap bobot kalus primer.....	52
13. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 1 MSI.....	52

14. Analisis ragam pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 1 MSI.....	52
15. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 2 MSI.....	53
16. Analisis ragam pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 2 MSI.....	53
17. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 3 MSI.....	53
18. Analisis ragam pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap penentuan skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 3 MSI.....	54
19. Jumlah Embrio Perlakuan Picloram 8 mg/l.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan kerangka pemikiran	7
2. Regenerasi kultivar ubi kayu melalui embriogenesis.....	15
3. Keragaan pembentukan kalus per eksplan berdasarkan skor.....	27
4. Visualisasi kalus primer pada 1 MSI varietas Vati-1.....	29
5. Visualisasi kalus primer pada 2 MSI varietas Vati-1.....	30
6. Visualisasi kalus primer pada 3 MSI varietas Vati-1.....	31
7. Visualisasi kalus embriogenik dan non-embriogenik varietas Vati-1 pada 3 MSI.....	31
8. Visualisasi embrio berbagai fase.....	32
9. Visualisasi <i>green cotyledon</i> berumur 5 MST pada media regenerasi tunas.....	33
10. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap waktu muncul kalus primer.....	34
11. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap skor persentase pembentukan kalus per eksplan pada 2 MSI.....	36
12. Pengaruh konsentrasi beberapa jenis auksin terhadap bobot kalus primer pada 3 MSI.....	37

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman yang memiliki nilai ekonomi tinggi dalam industri pangan dan pertanian. Selain di Indonesia, ubi kayu juga merupakan salah satu sumber pangan penting di dunia. Hampir satu miliar orang memanfaatkan tanaman ubi kayu sebagai sumber pangan (Mongomake *et al.*, 2015). Provinsi Lampung merupakan salah satu produsen ubi kayu terbesar di Indonesia. Rerata produksi ubi kayu di Indonesia pada tahun 2014-2019 mencapai 6,22 juta ton. Namun, terjadi penurunan produksi sebesar 38,64% yaitu dari 8,03 juta ton menjadi 4,92 juta ton pada waktu yang sama. Penurunan produktivitas ubi kayu ini juga terjadi di provinsi Lampung dari 26,38 ton/ha pada tahun 2014 menjadi 24,72 ton/ha pada tahun 2019 (Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Lampung, 2019).

Permasalahan dalam pengembangan ubi kayu yaitu produktivitas yang rendah dan ketersediaan bibit yang tidak kontinu. Penyebab penurunan produktivitas ubi kayu meliputi hama dan penyakit tanaman, senyawa sianogenik tinggi, protein rendah, dan pati rendah. Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) yang mempengaruhi penurunan produktivitas ubi kayu di antaranya yaitu gulma, hama, dan penyakit (hawar daun bakteri, busuk batang bakteri, antraknosa, bercak hawar daun, bercak daun coklat, bercak daun putih, penyakit tepung, bercak daun bercincin terpusat, busuk akar, dan virus) (Sastrahidayat, 2017). Ketersediaan bibit yang kurang menyebabkan petani menggunakan bibit dengan kualitas buruk. Hal ini menyebabkan hasil panen cenderung tidak seragam, dan pada uji sampel kadar pati di pabrik akan rendah sehingga harga ubi kayu akan rendah. Hal

tersebut dapat menyebabkan pendapatan petani ubi kayu menurun. Sehingga diperlukannya penyediaan bibit ubi kayu dalam jumlah besar dan berkualitas.

Salah satu varietas unggul ubi kayu yang banyak ditanam di Lampung yaitu varietas Vati-1 yang dimanfaatkan sebagai bahan baku industri. Ubi kayu varietas Vati-1 mempunyai ciri ubi berwarna putih dan agak pahit. Ubi kayu varietas Vati-1 memiliki potensi hasil yang besar yaitu 46,9 ton/ha dan juga varietas ini cukup tahan terhadap serangan hama dan tungau (Balitkabi, 2019). Selain itu, ubi kayu varietas Vati-1 memiliki kadar pati tinggi yaitu 21,92%. Pati ubi kayu bermanfaat baik dalam bidang industri pangan maupun non pangan. Pada industri pangan, pati ubi kayu dimanfaatkan dalam pembuatan mie, roti, pemanis, saus, permen dan lain sebagainya (Henry *et al.*, 1998). Sedangkan pada industri non pangan pati ubi kayu digunakan dalam pembuatan perekat, bahan pengecoran, kertas, tekstil, plastik, obat dan lain sebagainya.

Menurut Hartati *et al.* (2021) penyediaan bibit ubi kayu masih banyak dilakukan secara konvensional melalui setek batang. Sedangkan kebutuhan bibit ubi kayu pada luasan lahan satu hektar yaitu 10.000-14.000 setek untuk budidaya ubi kayu monokultur. Sehingga penyediaan ubi kayu menggunakan setek batang akan menjadi kendala dalam pengembangan ubi kayu untuk kebutuhan industri yang memiliki lahan budidaya sangat luas. Beberapa kelemahan dari penyediaan ubi kayu menggunakan setek batang yaitu ketersediaan pohon induk yang terbatas, tidak dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama karena akan cepat busuk dan tanaman induk berpotensi untuk menularkan penyakit. Oleh karena itu diperlukan upaya/teknologi yang dapat memperbanyak bibit ubi kayu dalam waktu yang singkat dan jumlah yang banyak.

Perbanyak ubi kayu dapat dilakukan secara cepat dan dengan jumlah yang banyak salah satunya dapat menggunakan teknologi kultur jaringan dengan embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik adalah suatu proses yang sangat efisien untuk mikropropagasi dan regenerasi beberapa genotipe ubi kayu karena dapat meningkatkan laju multiplikasi dan produksi embrio yang mampu berkembang menjadi tanaman utuh (Ibaraki and Murata, 2001). Pada penelitian

ini menggunakan embriogenesis somatik secara tidak langsung (*indirect somatic embryogenesis*) melalui pembentukan kalus. Kalus merupakan kumpulan sel yang membelah diri secara cepat dan tidak mempunyai karakteristik sel-sel dari bagian jaringan, organ, atau struktur tanaman tertentu. Pada embriogenesis somatik tidak langsung, dengan perlakuan tertentu sel-sel kalus tersebut dapat diarahkan untuk berubah menjadi sel-sel yang akan membentuk embrio. Sel-sel yang mempunyai karakteristik yang dapat membentuk embrio disebut sel-sel embriogenik.

Embriogenesis somatik memiliki manfaat yaitu untuk perbanyak tanaman, transformasi genetik, dan benih sintetik. Dalam perbanyak tanaman embriogenesis somatik memiliki beberapa kelebihan antara lain dapat memproduksi bibit dalam jumlah yang besar, dapat dilakukan dalam waktu yang lebih singkat dan bebas dari hama penyakit. Embriogenesis somatik *in vitro* juga dapat digunakan untuk perakitan varietas unggul yaitu melalui induksi variasi somaklonal dan rekayasa genetika (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Keberhasilan perbanyak secara *in vitro* ini akan bermanfaat bagi pemenuhan ketersediaan bibit sepanjang tahun tanpa tergantung pada musim serta terjaminnya kualitas bibit.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) diperlukan dalam kultur jaringan. Telah banyak dilakukan penelitian untuk memperoleh metode yang tepat dalam embriogenesis somatik tanaman ubi kayu terkait penggunaan konsentrasi beberapa jenis auksin untuk memperbanyak tanaman secara efektif dan efisien. Menurut Hapsoro dan Yusnita (2018), auksin mempunyai peranan penting pada embriogenesis somatik. Auksin adalah zat pengatur tumbuh (ZPT) yang dapat menginduksi embriogenesis somatik. Beberapa jenis auksin yang dilaporkan pada penelitian ubi kayu adalah 2,4-D, NAA, Dicamba, TDZ, IAA, dan Picloram. Pembentukan embriogenesis somatik untuk fase pembentukan kalus diperlukan zat pengatur tumbuh jenis auksin kuat, sedangkan untuk fase selanjutnya konsentrasi auksin harus di kurangi dan kemudian di kombinasikan dengan sitokinin (Lestari, 2016).

Dalam upaya multiplikasi tunas ubi kayu secara *in vitro*, konsentrasi zat pengatur tumbuh yang sesuai pada media menentukan keberhasilan regenerasi tanaman. NAA merupakan zat pengatur tumbuh golongan auksin yang dapat digunakan untuk regenerasi tanaman. Kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh BA 0,3 mg/l + NAA 0,05 mg/l dilaporkan mampu memberikan pertumbuhan jumlah tunas terbanyak pada klon Unila UK-1 (Yelli dkk., 2022). Szabados *et al.* (1987) menyatakan bahwa setiap varietas ubi kayu mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan kalus embriogenik. Respon tanaman untuk menghasilkan tunas baru (multiplikasi tunas) atau kalus embriogenik bervariasi bergantung kepada banyak faktor antara lain bagian tanaman yang digunakan, umur fisiologis bagian tersebut atau umur pohon induk, jenis tanaman dan prosedur perbanyakannya termasuk jenis zat pengatur tumbuh yang ditambahkan pada media (Sudarmonowati dkk., 2002). Meski telah ditemukan keberhasilan regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik ubi kayu, tetapi protokol yang sama masih sulit diaplikasikan untuk penelitian yang sama dengan genotipe yang berbeda. Oleh karena, perlu dipelajari kemampuan masing-masing genotipe ubi kayu dalam embriogenesis.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapakah konsentrasi beberapa jenis auksin yang mampu menginduksi kalus primer tertinggi eksplan daun muda ubi kayu varietas Vati-1?
2. Berapakah konsentrasi beberapa jenis auksin yang mampu membentuk embrio somatik tertinggi kalus primer ubi kayu varietas Vati-1?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui konsentrasi beberapa jenis auksin yang mampu menginduksi kalus primer tertinggi eksplan daun muda ubi kayu varietas Vati-1.

2. Mengetahui konsentrasi beberapa jenis auksin yang mampu membentuk embrio somatik tertinggi ubi kayu varietas Vati-1.

1.4 Landasan Teori

Kultur jaringan berasal dari totipotensi sel yang dikemukakan oleh Schwann dan Schleiden pada tahun 1838, sel tanaman dan hewan bersifat autotomi secara fisiologi maupun biokimia, apabila sel berada pada lingkungan yang sesuai maka sel akan meregenerasi tubuhnya hingga menjadi individu yang utuh (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Ciri-ciri kultur jaringan, yaitu aseptik, hara lengkap, lingkungan terkendali, *in vitro*, dan perlu ZPT. Dalam pelaksanaan kultur jaringan diperlukan keahlian dan keterampilan khusus untuk memperoleh kultur yang aseptik, pembuatan media dengan takaran yang akurat, dan menguasai protokol perbanyakan tanaman secara *in vitro* (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Embriogenesis somatik merupakan bagian tanaman yang mengalami proses pembelahan sel untuk membentuk embrio menjadi tanaman baru melalui teknik perbanyakan kultur jaringan (Sasmita dkk., 2022). Pada embriogenesis somatik, sel akan membelah lalu mengalami diferensiasi membentuk embrio. Diferensiasi yaitu proses berubahnya sel-sel menjadi sekumpulan sel yang memiliki karakteristik baru (Hapsoro dan Yusnita, 2018). 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 dkk., 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).

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 tunas dan akar. Embrio somatik adalah embrio yang tumbuh dan berkembang dari hasil sel somatik (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Terdapat empat tahapan dalam embriogenesis somatik, yaitu globular, hati, torpedo, dan kotiledon (Saepudin dkk., 2015). Menurut Hapsoro dan Yusnita (2018), tahapan globular yaitu saat embrio berbentuk bulat dan umumnya pada perkembangannya mengalami pemanjangan untuk ke fase selanjutnya, tahapan hati yaitu saat embrio mulai membentuk tonjolan dibagian atas membentuk hati, tahapan torpedo yaitu terdapat cekungan dibagian atas membentuk torpedo, dan tahapan kotiledon yaitu embrio mulai membentuk kotiledon dengan bagian atas membuka sebagai bakal tunas.

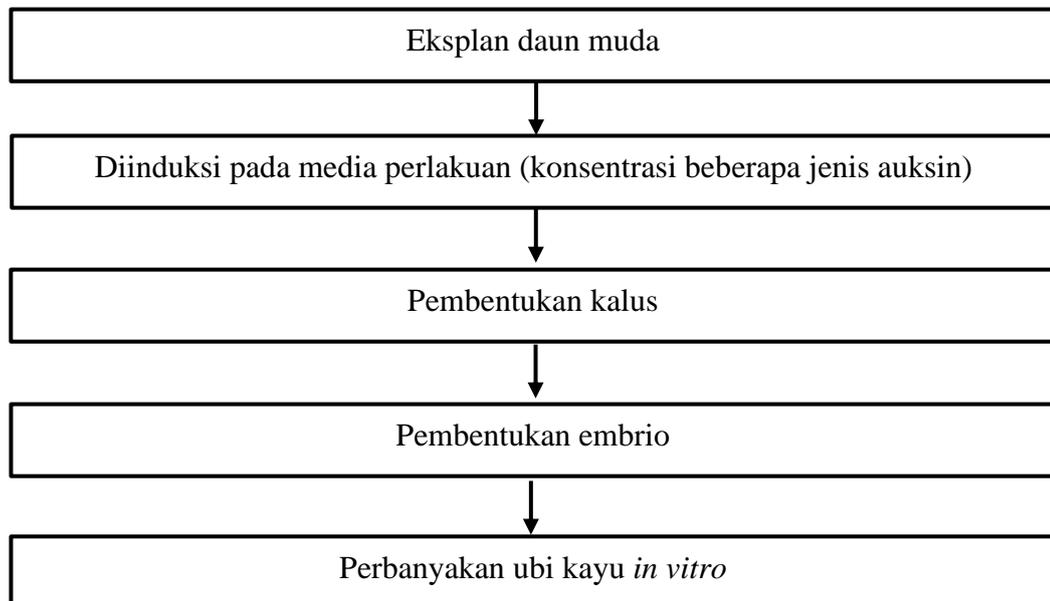
Dua golongan ZPT yang sangat penting dalam kultur jaringan yaitu auksin dan sitokinin (Wiraatmaja, 2017). Auksin merupakan ZPT yang disintesis oleh tanaman pada bagian meristematik. Auksin berfungsi merangsang terbentuknya kalus dan embrio somatik, merangsang pertumbuhan akar, menghambat inisiasi akar,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

Pembentukan dan pertumbuhan kalus akan terhambat jika pemberian konsentrasi beberapa jenis auksin yang tidak tepat (Hardjo dan Hartatie, 2018). Berdasarkan Penelitian Hankoua *et al.* (2006) media MS yang ditambah picloram mampu membentuk struktur embrio. Menurut 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. Atehnkeng *et al.* (2006) juga melaporkan picloram 12 mg/l mampu membentuk struktur embrio ubi kayu Afrika hingga ke tahap torpedo.

Berdasarkan penelitian Rossin and Rey (2011), genotipe ubi kayu sangat berpengaruh nyata pada pembentukan embrio. Penggunaan picloram 8 dan 12 mg/L menghasilkan frekuensi tertinggi pada kultivar TMS60444, T200, MTAI16, CR25-4, dan CM523-7 dibandingkan dengan 2,4-D 8 dan 12 mg/L. Fletcher *et al.* (2011), penggunaan eksplan daun singkong dari beberapa kultivar menghasilkan jumlah kalus tertinggi dengan konsentrasi 8 mg/L 2,4-D dalam media. Nugroho (2017), melaporkan genotipe Jame-jame, Gajah, dan Adira 4 kecuali UJ-5 memiliki persen embriogenesis somatik pada media MS + 20 g/L sukrosa + 8 mg/L 2,4-D dan MS + 20 g/L sukrosa + 10 mg/L NAA lebih tinggi dibandingkan pada media GD + 20 g/L sukrosa + 8 mg/L 2,4-D dan GD + 20 g/L sukrosa + 10 mg/L NAA. Hal ini menunjukkan bahwa setiap jenis ubi kayu memiliki efektifitasnya masing-masing pada komposisi media tertentu, begitu pula dengan jenis ubi kayu lainnya.

1.5 Kerangka Pemikiran

Kerangka pemikiran penelitian ini ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Bagan kerangka pemikiran.

Berdasarkan landasan teori yang telah diuraikan, maka disusunlah kerangka pemikiran untuk memberikan penjelasan teoritis terhadap rumusan masalah. Eksplan daun muda yang berasal dari kultur steril ubi kayu diinduksi pada media perlakuan. Salah satu penentu keberhasilan embriogenesis somatik yaitu zat pengatur tumbuh (ZPT). Pembentukan kalus dapat dipercepat dengan pemberian auksin. Penggunaan auksin dengan konsentrasi yang tepat dapat menginduksi embriogenesis somatik dengan baik, namun konsentrasi auksin yang tepat ini sangat tergantung pada genotipe ubi kayu. Sehingga pada penelitian ini diharapkan dapat memperoleh konsentrasi jenis auksin yang tepat pada embriogenesis somatik ubi kayu varietas Vati-1. Selanjutnya dengan konsep induksi-ekspresi, eksplan akan merespons sinyal berupa zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin. Respons tersebut yaitu dediferensiasi dari daun membentuk kalus, kalus merupakan kumpulan sel yang membelah diri secara cepat.

Setelah itu kumpulan sel yang membelah diri secara cepat ini akan menjadi sel-sel embriogenik, yaitu sel-sel yang arah perkembangannya akan menjadi embrio. Ketika sel sudah menjadi embriogenik maka fase induksi berakhir. Lalu pada fase ekspresi, kalus embriogenik akan mengalami diferensiasi menjadi embrio somatik ketika berada pada kondisi lingkungan yang sesuai. Kondisi yang sesuai ini utamanya terkait dengan ketersediaan ZPT auksin. Pada umumnya, agar kalus embriogenik dapat berkembang menjadi embrio somatik, maka konsentrasi auksin rendah atau tidak ada ZPT dalam media. Fase ini merupakan fase terjadinya perkembangan embrio. Pada embrio somatik akan melewati empat fase, yaitu fase globular berbentuk bulat, fase hati berbentuk hati, fase torpedo berbentuk torpedo, dan fase kotiledon muncul struktur berbentuk kotiledon. Kemudian embrio mengalami maturasi sampai matang fisiologi untuk siap berkecambah. Selanjutnya embrio dikulturkan menjadi tanaman utuh dan dimanfaatkan untuk memperbanyak ubi kayu secara *in vitro*.

1.6 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang dikemukakan, dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat konsentrasi auksin yang mampu menginduksi kalus primer tertinggi eksplan daun muda ubi kayu varietas Vati-1.
2. Terdapat konsentrasi auksin yang mampu membentuk embrio somatik tertinggi ubi kayu varietas Vati-1.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Umum Tanaman Ubi kayu

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu tanaman pangan yang berasal dari Amerika Selatan. Ubi kayu merupakan tanaman semusim yang menjadi salah satu sumber karbohidrat sehingga banyak dibudidayakan di berbagai daerah. Klasifikasi ubi kayu adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Euphorbiales
Famili : Euphorbiaceae
Genus : *Manihot*
Spesies : *Manihot esculenta* Crantz

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) adalah salah satu tanaman pangan yang menjadi makanan pokok bagi penduduk di dunia, selain itu ubi kayu juga bermanfaat sebagai bahan baku industri dan pakan ternak. Secara umum, ubi kayu terdiri dari daun, batang, akar, dan umbi. Ubi kayu mempunyai ujung daun berbentuk panjang tajam. Warna daun ubi kayu 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. Batang ubi kayu mempunyai ukuran yang berbeda-beda tergantung dari varietas yang ditanam. Batang ubi kayu memiliki diameter 2-3 cm. Ubi kayu mempunyai jenis akar serabut. Akar ubi kayu terspesialisasi menjadi umbi. Umbi

mempunyai bentuk panjang dengan daging umbi berwarna putih (Saifuddin, 2022).

Ubi kayu adalah tanaman yang mempunyai bunga jantan dan bunga betina pada satu individu. Tanaman ubi kayu merupakan tanaman menyerbuk silang dikarenakan bunga betina tanaman ubi kayu mekar 10-14 hari lebih awal dari bunga jantan pada cabang yang sama (Ceballos *et al.*, 2012). Penyerbukan alami dapat terjadi saat bunga jantan dan bunga betina pada cabang yang berbeda atau pada tanaman yang berbeda tapi genotipe yang sama membuka secara bersamaan sedangkan genotipe dan kondisi lingkungan tumbuh juga akan mempengaruhi waktu berbunga tanaman ubi kayu (Ceballos *et al.*, 2012). Ubi kayu varietas Vati-1 mempunyai ciri ubi berwarna putih dan agak pahit. Ubi kayu varietas Vati-1 memiliki potensi hasil yang besar yaitu 46,9 ton/ha dan juga varietas ini cukup tahan terhadap serangan hama dan tungau (Balitkabi, 2019). Selain itu, ubi kayu varietas Vati-1 memiliki kadar pati tinggi yaitu 21,92%.

2.2 Pemanfaatan Ubi Kayu

Ubi kayu sampai saat ini masih dimanfaatkan oleh penduduk Indonesia sebagai makanan pokok. Ubi kayu atau singkong dapat dikembangkan menjadi berbagai produk olahan melalui agroindustri. Pengembangan agroindustri ubi kayu ini diharapkan dapat memperluas lapangan kerja, meningkatkan pendapatan masyarakat dan petani. Ubi kayu dapat diolah menjadi berbagai macam produk makanan maupun produk olahan bahan kimia. Produk olahan ubi kayu jadi ada tiga macam, yaitu makanan tradisional seperti tiwul, gogik, gatot, growol, dan tape; makanan pokok seperti liwet singkong dan nasi singkong; dan makanan jajanan seperti kue kaca mata, lemet, getuk, kripik, kerupuk dan lain sebagainya. Sedangkan produk olahan ubi kayu setengah jadi yaitu tapioka, gaplek dan tepung kasava (Wahyurini dan Sugandini, 2021). Limbah dari produksi ubi kayu dapat dimanfaatkan untuk dijadikan sebagai bahan pakan. Target hewan yang dapat mengonsumsi limbah ubi kayu ini adalah unggas, ruminansia kecil, dan ruminansia besar. Limbah pascapanen ubi kayu yang dapat dimanfaatkan untuk

diolah kembali menjadi bahan pakan adalah pucuk ubi kayu, batang ubi kayu, kulit ubi kayu, bonggol ubi kayu, gaplek afkir, singkong afkir, dan gamblong atau onggok yang mengandung karbohidrat mudah dicerna.

Menurut Antari dan Umiyasih (2009), semua bagian ubi kayu dapat digunakan sebagai pakan. Daun ubi kayu merupakan sumber protein yang pemberiannya dapat berbentuk kering atau silase. Batang ubi kayu dapat dicampurkan dengan daun sebagai pakan penguat. Kulit ubi dari ubi kayu dan onggok dapat dikeringkan dan dapat digunakan menjadi substrat untuk produksi sel protein tunggal. Kulit ubi kayu dapat juga dimanfaatkan sebagai sumber bahan bakar dengan mengolahnya mejadi biobriket. Biobriket adalah bahan bakar dalam bentuk padat. Biobriket dapat digunakan sebagai pengganti sumber energi tak terbarukan seperti fosil. Biobriket juga dapat dimanfaatkan sebagai pengganti penggunaan kayu bakar.

2.3 Kultur Jaringan dan Embriogenesis Somatik Ubi Kayu

Kultur jaringan tanaman merupakan suatu teknik pengkulturan bagian tanaman baik berupa sel, jaringan, organ, embrio, biji atau tanaman utuh secara *in vitro* pada media yang mengandung hara lengkap pada kondisi yang aseptik di lingkungan yang terkendali sehingga dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh. Kultur jaringan mempunyai beberapa kelebihan antara lain yaitu menghasilkan bibit sehat yang seragam, identik dengan induknya, tidak bergantung pada iklim dan cuaca, tidak memerlukan luas lahan dalam pembibitan, mempermudah perbanyakan tanaman yang sulit diperbanyak secara konvensional, tidak memerlukan banyak tenaga kerja, dan menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dengan waktu yang singkat (Ziraluo, 2021). Selain itu, kultur jaringan dapat membantu dalam konservasi dan preservasi plasma nutfah termasuk *embryo rescue* (Kustiani, 2020).

Terdapat 5 tahap dalam kultur jaringan, 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 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* (LAFC). 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).

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). Embriogenesis somatik memiliki keunggulan untuk menghasilkan bahan tanam dengan jumlah yang banyak dalam waktu yang singkat dan minim pekerja serta menghasilkan individu baru yang identik dengan induknya (Prawoto dkk., 2008).

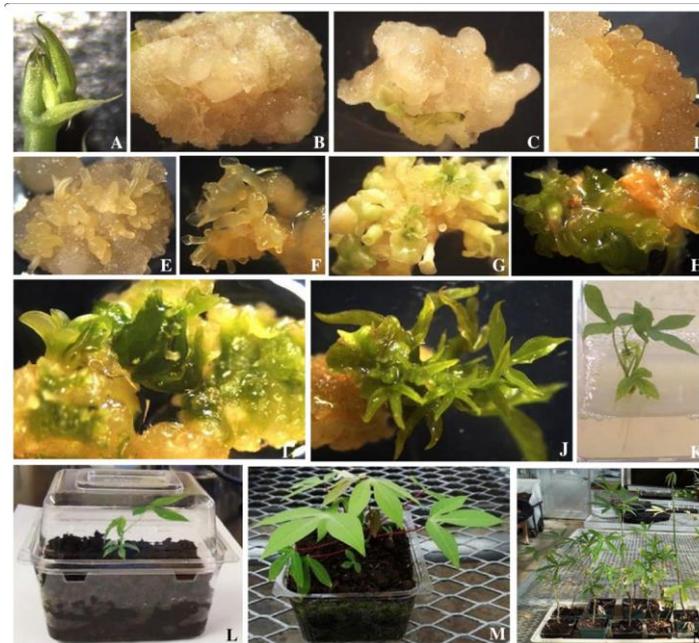
Kalus merupakan kumpulan sel yang tidak terorganisir. Kalus terbentuk apabila eksplan ditanam pada media yang ditambah dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) untuk menginduksi kalus, misalnya ZPT golongan sitokinin dan auksin. Istilah dediferensiasi diberikan untuk eksplan berupa organ tanaman yang sudah terdiferensiasi seperti daun, batang, tunas, akar yang membentuk kalus. Organ tanaman tersebut yang sel-selnya sudah terdiferensiasi dikembalikan lagi menjadi tidak terdiferensiasi. Kemudian jika kalus-kalus tersebut kembali membentuk

organ tanaman maka disebut rediferensiasi (Dwiyani, 2015). Sel-sel baru akan diperoleh dari pembentukan kalus sehingga sangat penting dalam proses regenerasi tanaman (Marthani dkk., 2016).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan kalus yaitu media, lingkungan kultur, dan sumber eksplan (Xiong *et al.*, 2018). Menurut Busaifi dan Hirjani (2019), berdasarkan tekstur dan komposisi selnya kalus dibedakan menjadi kalus yang kompak dan remah. Kalus kompak terdiri dari sel-sel kecil yang sangat rapat sehingga memiliki tekstur yang padat dan keras. Kalus remah terdiri 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.

Menurut Hapsoro dan Yusnita (2018), embrio yang dihasilkan merupakan embrio bipolar untuk menjadi bakal akar dan bakal tajuk dari sel-sel yang membentuknya. Embrio yang dihasilkan dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman baru. Embrio tersebut dapat dijadikan sebagai material tanaman pada rekayasa genetika untuk perbaikan sifat tanaman. Embrio dapat menghasilkan propagul dengan jumlah banyak dan tidak terbatas dengan waktu yang relatif lebih cepat serta ideal untuk disimpan sebagai bahan tanaman (Fahria, 2020).

Sistem regenerasi yang dapat digunakan pada ubi kayu melalui embriogenesis somatik menurut Mongomake *et al.* (2015) seperti pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Regenerasi kultivar ubi kayu melalui embriogenesis somatik.

2.4 Media Kultur Jaringan dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Komposisi media dasar dan zat pengatur tumbuh (ZPT) sangatlah penting dalam kultur *in vitro*. Media dasar Murashige dan Skoog adalah jenis media dasar yang biasa digunakan dalam kultur jaringan dan untuk regenerasi hampir seluruh jenis tanaman. Komponen-komponen media kultur jaringan, yaitu air, hara makro, hara mikro, sumber energi (gula), vitamin, ZPT, dan pematid media (agar-agar). Air yang digunakan adalah air yang dimurnikan menggunakan destilator. Air tersebut sering disebut sebagai akuades atau air suling. Umumnya sukrosa yang digunakan adalah sukrosa dengan konsentrasi 20-60 g/l (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik (bukan nutrisi tanaman) yang dalam konsentrasi rendah mampu merangsang, menghambat pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan. ZPT dibedakan menjadi lima golongan, yaitu auksin, sitokinin, asam absisik, giberelin dan etilen. Asam absisik mempunyai fungsi

menghambat pertumbuhan, mempertahankan dormansi, merangsang dan penutupan stomata saat kekurangan air. Giberelin memiliki fungsi untuk mendorong pemanjangan batang. Etilen berfungsi dalam pematangan buah dan merangsang penuaan (Wiraatmaja dan Rai, 2016).

Golongan auksin yaitu NAA dapat menginduksi terjadi embriogenesis somatik dengan melakukan terminasi pada ekspresi gen awal, dan mengaktifkan gen yang berfungsi untuk menghasilkan sel embriogenik (George *et al.*, 2008). NAA dalam konsentrasi rendah berperan untuk mengatur sejumlah proses perkembangan seperti pembengkakan jaringan, pembelahan sel dan pembentukan akar adventif (Yelli dkk., 2022). Kalus dapat terbentuk akibat eksplan daun dipotong dan mengalami pelukaan. Setelah itu, sel-sel yang menyentuh media menjadi meristematik dan aktif membelah seperti jaringan penutup luka. Selain itu, di dalam media terkandung ZPT yang memacu pembengkakan pada eksplan sehingga mempercepat waktu induksi kalus (Widuri dkk., 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024 hingga Mei 2024. Lokasi penelitian adalah (1) Pengambilan setek ubi kayu varietas Vati-1 di kebun PT. Great Giant Pineapple Kabupaten Lampung Tengah, (2) Penanaman setek di Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung, (3) Penelitian *in vitro* yang dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Tanaman (Kultur Jaringan) Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, kompor gas, panci, erlenmeyer, gelas ukur, gelas beaker, destilator, botol kultur steril, ubin, *hand sprayer*, pembakar bunsen, alat-alat diseksi (pinset, *scapel*, dan *blade*), *laminar air flow cabinet* (LAFC), bak/ember, *hot plate*, kamera, *petridish*, sendok pengaduk, mikroskop binokuler, *showcase*, rak kultur, pipet tetes, *box*, kereta dorong, botol schott, plastik *wrapping*, lampu, timbangan analitik, pipet mikro, pH meter, dan *magnetic stirrer*.

Bahan yang digunakan yaitu agar-agar (*gelrite dan oxoid*), alkohol 70%, NaClO 1,05%, CuSO₄, tisu, kapas, akuades, air, spirtus, larutan tween 20, detergen, sukrosa, sabun cuci piring, air steril, KOH 1 N, dan HCl 1 N. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksplan daun muda pada bagian pucuk daun dari tunas steril ubi kayu varietas Vati-1 yang steril. Media dasar yang digunakan yaitu media Murashige dan Skoog (MS). ZPT yang digunakan adalah beberapa

jenis auksin, yaitu Picloram, *2,4-Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D), *Napthalene acetic acid* (NAA), dan sitokinin jenis *benzyladenine* (BA).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan yang disusun secara tunggal atau satu faktor. Faktor tersebut adalah konsentrasi berbagai jenis ZPT auksin, yaitu kontrol (MS + NAA 6 mg/l), MS + NAA 6 mg/l + Picloram 8 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + Picloram 12 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + Picloram 15 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 8 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 12 mg/l, dan MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 15 mg/l. Terdapat 7 taraf perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali, setiap ulangan terdiri atas 3 botol dan setiap botol diisi 3 eksplan. Sehingga diperoleh 28 satuan percobaan dengan 84 botol kultur dan 252 eksplan.

Rincian taraf perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

- A1 : MS + NAA 6 mg/l (kontrol)
- A2 : MS + NAA 6 mg/l + Picloram 8 mg/l
- A3 : MS + NAA 6 mg/l + Picloram 12 mg/l
- A4 : MS + NAA 6 mg/l + Picloram 15 mg/l
- A5 : MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 8 mg/l
- A6 : MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 12 mg/l
- A7 : MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 15 mg/l

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Teknik kultur jaringan mempunyai prinsip aseptik dimana alat dan bahan yang digunakan dalam kultur jaringan harus aseptik untuk meminimalisir kontaminasi. Dalam mencapai kondisi yang aseptik perlu dilakukan sterilisasi. Sterilisasi botol kultur dilakukan melalui dua tahapan. Tahap pertama, botol kultur disterilkan

dengan autoklaf *Budenberg* pada suhu 121°C atau pada tekanan $1,2 \text{ kg/cm}^3$ selama 30 menit. Setelah itu, sisa media atau tanaman kontaminasi dikeluarkan dari botol kemudian dicuci dengan larutan detergen 2 g/l. Setelah dicuci, direndam semalaman dengan larutan 2 g/l detergen ditambah dengan 250 ml larutan desinfektan berupa larutan pemutih komersial. Untuk botol yang bersih (tidak terdapat sisa media atau tanaman kontaminasi), setelah disterilisasi langsung direndam dengan larutan detergen 2 g/l ditambah 250 ml larutan desinfektan berupa larutan pemutih komersial.

Kemudian, botol dicuci dengan serabut jaring dan serabut kawat dengan cara menggosok bagian dalam dan luar permukaan kaca botol hingga bersih. Botol yang telah dicuci dibilas dengan air mengalir hingga bekas detergennya hilang. Setelah itu, botol direndam dalam air panas selama 10-15 menit. Lalu ditiriskan dengan alas kertas dan kemudian mulut botol ditutup dengan penutup plastik berukuran 12 x 12 cm dan diikatkan pada leher botol menggunakan karet. Botol yang telah ditutup dengan plastik kemudian disterilkan kembali menggunakan autoklaf Tomy selama 30 menit pada suhu 121°C atau pada tekanan $1,2 \text{ kg/cm}^3$. Alat-alat lain yang digunakan dalam teknik kultur jaringan yaitu alat diseksi (pinset dan *scalpel*), *petridish*, ubin, botol schott, kapas, dan gelas ukur. Alat-alat tersebut disterilkan dengan cara dibungkus kertas kemudian dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diikat dengan karet, untuk kapas dimasukkan ke dalam botol kultur.

3.4.2 Persiapan Media

3.4.2.1 Pembuatan Media

Media dasar yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (Media MS) (1962) yang memiliki kandungan garam-garam mineral yang ditunjukkan pada Tabel 1. Dalam pembuatan media dasar MS, komponen-komponen media MS dicampurkan dalam *beaker glass* yang berisi aquades $\pm 400 \text{ ml}$ kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen. Setelah itu, media ditera hingga sesuai

dengan volume yang diinginkan. Selanjutnya, media diaduk kembali dengan *magnetic stirrer* dan diatur derajat keasamannya menjadi 5,8 menggunakan HCl 1 N atau KOH 1 N. Penggunaan bahan tersebut sesuai dengan pH awal media, jika pH awal media dibawah 5,8 maka digunakan KOH 1 N dan apabila diatas 5,8 maka digunakan HCl 1 N. Setelah pH sudah sesuai, larutan media dimasak dengan menambahkan agar-agar *oxoid*. Selama proses memasak media, dilakukan pengadukan yang bertujuan untuk melarutkan agar-agar. Larutan media yang telah mendidih kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur steril sebanyak ± 30 ml/botol. Lalu, botol ditutup kembali menggunakan plastik dan karet tahan panas. Untuk menandai komposisi di dalam media yang dibuat, botol diberi label sesuai dengan komponen media yang dibuat atau dapat berupa kode tertentu.

Tabel 1. Komposisi media Murashige and Skoog (1962)

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

3.4.2.2 Media Pre-kondisi

Media pre-kondisi adalah media yang digunakan untuk menyiapkan eksplan daun muda ubi kayu. Dalam penelitian ini, media pre-kondisi yang digunakan adalah media yang mengandung ½ konsentrasi hara makro media MS (Media ½ MS). Media ini digunakan untuk menumbuhkan tunas ubi kayu yang disterilkan untuk menghasilkan daun muda yang digunakan sebagai bahan percobaan. Dalam

pembuatan media pre-kondisi, penggunaan bahan kimia yang dicampurkan hampir sama seperti pembuatan media dasar MS (Tabel 1), namun dalam penggunaan stok makro yang awalnya 100 ml/l berubah menjadi hanya setengah volumenya saja yaitu 50 ml/l.

3.4.2.3 Media Induksi Kalus Primer dan Embrio Somatik (Media A)

Media induksi kalus primer dan embrio somatik (Media A) merupakan media yang digunakan sebagai media perlakuan untuk menginduksi kalus primer dan embrio somatik. Media dasar pada media A berupa media MS yang ditambahkan NAA 6 mg/l, CuSO₄ 10 mM, sukrosa 40 g/l, dan agar-agar *oxoid* 8 g/l. Menurut Danso and Lloyd (2002), penambahan CuSO₄ pada media dapat meningkatkan induksi embrio primer dan meningkatkan produksi embrio sekunder serta dapat mempersingkat waktu pematangan embrio somatik menjadi 25 hari sejak inisiasi embrio. Media dasar tersebut kemudian dikombinasikan sesuai dengan perlakuan yang digunakan, yaitu Kontrol (MS + NAA 6 mg/l), MS + NAA 6 mg/l + Picloram 8 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + Picloram 12 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + Picloram 15 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 8 mg/l, MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 12 mg/l, dan MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 15 mg/l.

Dalam penelitian ini, media A digunakan sebanyak dua kali yaitu saat penanaman eksplan daun muda ke dalam media perlakuan dan saat kalus primer yang terbentuk disubkultur pada 3 minggu setelah induksi (MSI). Subkultur ke dalam media yang sama dilakukan untuk menginduksi embrio somatik pada kalus, mencegah *browning*, dan menyediakan kembali nutrisi yang dibutuhkan oleh kalus.

3.4.2.4 Media Maturasi Embrio (Media B)

Media maturasi embrio (Media B) merupakan media yang digunakan untuk pematangan embrio somatik yang terbentuk dari kalus primer sehingga berkembang menjadi kotiledon. Media dasar pada maturasi embrio somatik

adalah media MS yang ditambahkan NAA 0,5 mg/l, CuSO₄ 10 mM, sukrosa 40 g/l, dan agar-agar *oxoid* 8 g/l. Pada media B ini, ZPT yang digunakan diturunkan konsentrasinya menjadi 2 mg/l dengan tujuan memicu kalus untuk berhenti membelah dan fokus memicu perkembangan embrio sehingga embrio mencapai fase kotiledon. Pada penelitian ini, media B yang digunakan adalah MS + NAA 0,5 mg/l + Picloram 2 mg/l dan MS + NAA 0,5 mg/l + 2,4-D 2 mg/l.

3.4.2.5 Sterilisasi Media

Sterilisasi media dilakukan dengan mengautoklaf media yang sudah dituang ke dalam botol kultur. Botol yang sudah berisi media tersebut diautoklaf menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121 °C dan tekanan 1,2 Kg/cm³. Setelah media disterilkan, media disimpan dalam ruang penyimpanan media dengan suhu 25 ±2 °C.

3.4.3 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan yaitu eksplan daun muda pada buku pertama yang sudah membuka dari kultur steril ubi kayu. Eksplan daun diperoleh dengan menyiapkan tanaman sumber eksplan yang berasal dari varietas Vati-1 yang ditanam dalam *polybag* lalu dipelihara di Rumah Kaca, Laboratorium Lapangan Terpadu, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Perawatan yang dilakukan untuk tanaman sumber eksplan adalah dengan melakukan penyiraman dan penyemprotan insektisida. Penanaman dilaksanakan di rumah kaca agar tanaman yang tumbuh sehat dan bebas dari penyakit dan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Saat tanaman berusia 2 minggu, tunas yang tumbuh diambil dari 3 buku teratas dan kemudian disterilisasi lalu ditanam pada media pre-kondisi *in vitro*.

3.4.4 Sterilisasi Tunas Ubi Kayu Sumber Eksplan

Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi dan kegagalan. Terdapat dua tahapan proses sterilisasi. Tahap pertama yaitu pencucian tunas menggunakan air mengalir dua kali selama kurang lebih ± 60 menit. Tunas yang telah dicuci kemudian direndam dalam larutan detergen dengan konsentrasi 5 g/l selama 5 menit kemudian dibilas dengan air mengalir hingga bersih. Tahap kedua dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Tunas yang telah disterilisasi pada tahap pertama kemudian dikocok pada larutan *chlorox* mengandung NaClO 1,05% dan ditambahkan larutan *tween 20* sebanyak 2 tetes/100 ml selama 15 menit. Setelah proses ini selesai, eksplan dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali dengan masing-masing pembilasan selama dua menit. Kemudian, eksplan direndam dengan larutan ethanol 70% selama satu menit sambil diaduk, kemudian dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali masing-masing dua menit.

3.4.5 Penanaman Sumber Eksplan

Penanaman dilaksanakan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) pada media $\frac{1}{2}$ MS (media pre-kondisi). Tunas yang telah disterilisasi kemudian dipotong dengan ukuran 1-2 cm yang terdiri minimal 1 buku tiap tunas. Tunas yang telah dipotong ditanam tegak lurus dengan media dan dibenamkan bagian bawahnya hingga ke dalam media. Setiap botol kultur berisi 3 eksplan tunas. Setelah ditanam pada media pre-kondisi, kultur diinkubasi selama 12-15 hari dengan kondisi cahaya terang pada suhu 25 ± 2 °C.

3.4.6 Induksi Kalus Primer dan Embrio Somatik

Setelah tunas tumbuh pada media pre-kondisi 12-15 hari, eksplan yang digunakan berupa daun muda atau pucuk dan dipotong hingga berukuran 5x2 mm yang berasal dari kultur steril ubi kayu. Setiap botol kultur ditanami tiga eksplan dengan posisi bawah daun menyentuh media. Induksi kalus dilakukan dengan

mengkubasi dalam kondisi gelap dengan suhu 25 ± 2 °C selama tiga minggu pada media media A. Setelah tiga minggu, kalus ditimbang bobotnya kemudian dipindahkan ke media dengan komposisi nutrisi yang sama dengan sebelumnya dan diinkubasi kembali dalam kondisi gelap dengan suhu 25 ± 2 °C selama tiga minggu untuk menginduksi embrio somatik. Setelah embrio terbentuk, dilakukan subkultur ke dalam media maturasi embrio(Media B).

Setelah eksplan diinduksi selama lima minggu, eksplan yang menunjukkan pertumbuhan kalus embriogenik disubkultur ke media B (maturasi). Kalus yang terbentuk kemudian disubkulturkan ke media B dengan masing-masing botol diisi tiga kalus. Kalus diinduksi dalam ruang kultur dalam kondisi gelap dengan suhu 25 ± 2 °C. Media B adalah media yang digunakan untuk pematangan embrio yang sudah terbentuk pada media induksi kalus primer dan embrio somatik. Media ini berfungsi untuk menginduksi pematangan embrio.

Setelah pembentukan embrio, embrio tersebut akan diinduksi menjadi planlet. Embrio yang telah matang dipindahkan ke dalam media regenerasi tunas yang terdiri dari MS + BA 0,2 mg/l selama empat minggu dan diinkubasi dalam kondisi terang. Selanjutnya, tunas yang berwarna hijau dipindahkan ke dalam media MS0 selama 2-3 minggu sehingga menjadi planlet yang normal (tunas telah memiliki akar dan daun).

3.5 Variabel pengamatan

Variabel yang diamati meliputi pengamatan visual perkembangan embrio somatik, waktu muncul kalus primer, bobot segar kalus primer 3 minggu setelah induksi (MSI), persentase eksplan berkalus, skor pembentukan kalus per eksplan 1 MSI, 2 MSI, dan 3 MSI, persentase eksplan berembrio, dan jumlah embrio.

3.5.1 Pengamatan visual

Pengamatan visual dilakukan saat eksplan berumur 1, 2, dan 3 MSI dengan mengamati perkembangan eksplan seperti warna kalus dan struktur kalus. Pengamatan struktur kalus dilaksanakan untuk mengetahui perkembangan eksplan pada fase-fase embrio somatik pada tanaman ubi kayu. Embrio somatik diamati pada saat 6 MSI dengan menggunakan mikroskop binokuler *Olympus*.

3.5.2 Waktu muncul kalus primer

Waktu muncul kalus primer diamati setelah penanaman eksplan pada media induksi kalus primer (Media A) setiap hari hingga semua eksplan membentuk kalus atau maksimal 2 minggu.

3.5.3 Persentase eksplan berkalus

Persentase eksplan berkalus diamati dengan menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus dalam waktu 3 MSI pada media induksi kalus primer (Media A). Rumus perhitungan persentase eksplan berkalus adalah sebagai berikut.

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

3.5.4 Bobot segar kalus primer 3 MSI

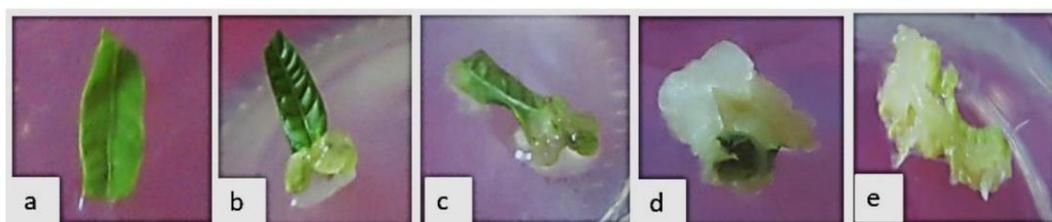
Kalus ditimbang pada saat 3 MSI pada media induksi kalus primer (Media A). Untuk menghindari kontaminasi tinggi akibat penimbangan, bobot kalus ditimbang dengan cara *sampling* yaitu dengan menimbang 5 kalus pada masing-masing perlakuan dengan ukuran kecil, sedang, dan besar. Selanjutnya, bobot kalus ditentukan dengan mengacu pada bobot kalus yang sudah ditimbang sebelumnya.

3.5.5 Skor pembentukan kalus per eksplan 1 MSI, 2 MSI, dan 3 MSI

Skor dilakukan dengan cara mengamati pembentukan kalus pada setiap eksplan setelah 1 MSI, 2 MSI, dan 3 MSI. Pembentukan kalus pada eksplan dikelompokkan berdasarkan skor yang dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Tabel 2. Skor pembentukan kalus primer per eksplan

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



Gambar 3. Keragaan pembentukan kalus per eksplan berdasarkan skor a). skor 0, b). skor 1, c). skor 2, d). skor 3, e) skor 4 (Anggi, 2022).

3.5.6 Persentase eksplan berembrio

Persentase eksplan berembrio dihitung dengan menghitung jumlah eksplan yang membentuk embrio pada 3 MSI pada media B dari masing-masing perlakuan berdasarkan jumlah eksplan pada perlakuan tersebut. Rumus perhitungan persentase eksplan berembrio adalah sebagai berikut.

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

3.5.7 Jumlah embrio per eksplan

Jumlah embrio dihitung dengan menghitung jumlah embrio saat 3 MSI pada media B dari masing-masing perlakuan berdasarkan jumlah eksplan berembrio. Rumus perhitungan rerata jumlah embrio adalah sebagai berikut.

$$\text{Rerata jumlah embrio} = \frac{\text{Jumlah embrio}}{\text{Jumlah eksplan berembrio}}$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan di analisis dan diolah menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) pada taraf 5% dan dilanjutkan dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji BNT pada taraf 5%. Homogenitas diuji dengan uji Bartlett. Variabel pengamatan yang dilakukan analisis data meliputi waktu muncul kalus (HSI), skor persentase pembentukan kalus primer per eksplan pada 1, 2, dan 3 MSI (%), dan bobot kalus primer pada 3 MSI (g). Sedangkan variabel yang tidak dilakukan analisis data, yaitu persentase eksplan berkalus pada 3 MSI, persentase eksplan berembrio, dan jumlah embrio per kalus. Data yang tidak dianalisis dengan ANOVA diuji standar errornya dengan rumus sebagai berikut.

$$var = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

$$SD = \sqrt{var}$$

$$SE = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Keterangan:

Var = Varian

SD = Standar deviasi

SE = Standar error

n = Banyak sampel

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi beberapa jenis auksin berpengaruh dalam menginduksi kalus primer eksplan daun muda ubi kayu varietas Vati-1 secara *in vitro*. Semua konsentrasi menghasilkan persentase eksplan berkalus lebih dari 90%. Persentase eksplan berkalus 100% yaitu pada perlakuan picloram 8 mg/l, picloram 15 mg/l, 2,4-D 8 mg/l dan 2,4-D 12 mg/l. Sedangkan perlakuan kontrol, picloram 12 mg/l dan 2,4-D 15 mg/l menghasilkan persentase eksplan berkalus $97 \pm 0,35\%$.
2. Konsentrasi picloram 8 mg/l menginduksi embrio somatik pada varietas Vati-1 dengan persentase eksplan berembrio sebesar $63,9 \pm 0,78$, jumlah total embrio 296 embrio dan rerata embrio per kalus sebesar $12,87 \pm 0,18$. Pada penelitian ini perlakuan picloram merupakan perlakuan terbaik dalam pembentukan embrio pada varietas Vati-1.

5.2 Saran

Pada penelitian ini telah diperoleh prosedur embriogenesis somatik ubi kayu varietas Vati-1, disarankan untuk penelitian lanjutan dapat menghasilkan embrio somatik menjadi planlet melalui optimasi media dan menggunakan bioreaktor untuk efisiensi perbanyak embrio somatik

DAFTAR PUSTAKA

- Anggi, P. R. 2022. *Penggunaan Picloram dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) Pada Embriogenesis Somatik Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz) Varietas Unila UK-1 Menggunakan Eksplan Potongan Daun*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Antari, R. dan Umiyasih, U. 2009. Pemanfaatan tanaman ubi kayu dan limbahnya secara optimal sebagai pakan ternak ruminansia. *Wartazoa*. 19 (4): 191–201.
- Atehkneng, J., Adetimirin, V. O. and Ng, S. Y. C. 2006. Exploring the african cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm for somatic embryogenic competence. *African Journal of Biotechnology* 5(14): 1324-1329.
- Balitkabi (Badan Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Ubi). 2019. *Laporan Kinerja Balai Penelitian Aneka Kacang dan Ubi*. Kementrian Pertanian. Malang.
- Budaya, M. S., Mursyanti, E. dan Yuda, P. 2022. Transformasi genetik pada kalus embriogenik tanaman suku rubiaceae. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 7(4): 94-107.
- Busaifi, R. dan Hirjani. 2019. Induksi kalus embriogenik tanaman tebu (*Saccharum Officinarum* L.) pada berbagai kombinasi 2,4-D dan BAP secara *in vitro*. *Agrosains*. 5(2): 9-102.
- Ceballos, H., Kulakow, P. and Hershey, C. 2012. Cassava breeding: current status, bottlenecks and potential of biotechnology tools. *Tropical Plant Biology*. 5: 73-87.
- Danso, K. E. and Lloyd, F. B. V. 2002. Induction of high frequency somatic embryos in cassava for cryopreservation. *Plant Cell Reports*. 21 (3): 226-232.
- Danso, K. E., Elegba, W., Oduro, V. and 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.

- Dhanya, J. N., Leen, D. C., Deepthi, M., Moushmi, M. R., Beena, M. N., Sheela, T. and Makesh Kumar. 2017. Comparative potential of somatic embryogenesis and friable embryogenic callus production in farmer preferred Indian Cassava Cultivars. *Journal of Root Crops*. 43(1):23–33.
- Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Lampung. 2019. *Kinerja Tanaman Pangan*.
- Dwiyani, R. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawa Sari. Denpasar.
- Elegba, W., E. McCallum, W., Gruissem, H. and Vanderschuren. 2021. Efficient genetic transformation and regeneration of a farmer-preferred cassava cultivar from Ghana. *Journal of Frontiers in Plant Science*. 12(668042):1–12.
- Fahria, E. 2020. *Pengaruh medium dan thidiazuron terhadap embriogenesis somatik Vanda tricolor*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Fletcher, E. K. A., Amoako, T. N. E., and Twumasi, P. 2011. Effect of 2,4-D, explants type and cultivar on the callogenesis expression of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Ghana. *African Journal of Biotechnology*. 10 (46): 9396–9401.
- George, E. F., Hall, M. A., and Klerk, G. D. 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3 ed. Springer. Belanda.
- Hankoua, B. B. N. J., Taylor, S. Y. C., Ng, I., Fawole, J., Puonti, K. 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. *African Journal of Biotechnology*. 5(19): 1700-1712.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2018. *Kultur Jaringan: Teori dan Praktik*. Andi Publisher. Yogyakarta.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2022. *Embriogenesis Somatik In Vitro untuk Perbanyakan 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.
- Hartati, T. M., Roini, C. and Rodianawati, I. 2021. Growth response of local cassava to cutting models and number of buds. *Journal of Sustainable Agriculture*. 36(2): 379-391.

- Henry G, A., Westby. and Collinson, C. 1998. *Global cassava end-uses and markets: Current situation and Recommendations for further study*. FAO. 58.
- Ibaraki, Y. and Murata, K. 2001. Automation of somatic embryo production. *Plant Cell Tiss Org Culture*. 65(3):179-199.
- Lestari, E. G. 2016. *Pemuliaan Tanaman Melalui Induksi Mutasi dan Kultur In Vitro*. IAARD Press. Jakarta.
- Kustiani, E. 2020. *Kultur Jaringan: Teori dan Praktek*. UNIK Press. Kediri.
- Marigi, E.N., Masanga, J.O., Munga, T.L., Karanja, L.S., Ngungi, M.P., Thagana, W.M., Kirub, D., Mwangi, M., Githungurp, 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.
- Marlin., Yulian. dan Hermansyah. 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik pada Kultur Jantung Pisang Curup dengan Penambahan Sukrosa, BAP dan 2,4-D. *Jurnal Agrivor*. 11(2):275-283.
- Marthani, Q., Anggraito, Y. dan Rahayu, E. 2016. Kalogenesis eksplan setengah biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) secara *in vitro* menggunakan BAP dan NAA. *Jurnal Unnes*. 5(1).
- 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*. 1-12.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15: 473-497.
- Nugroho, C. C. 2017. Induksi kalus embriogenik beberapa genotipe ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Magrobis*. 17(1):1-15.
- Prawoto, A. A., Wibawa, A., Santoso, A. B., Dradjat, B., Sulistiowati, E., Satyoso, H. U., Winarno, H., Baon, J. B., Selamat, J., Dibyorachmanto, K., Misnawi, Jasman, P., Rahardjo, P., Pujiyanto., Erwiyono, R., Abdoellah, S., Dahniah, S., Mulato, S., Sukamto, S., Sulistyowati, Wardani, S., Widyotomo, S., Pangabea, T. R., Wahyudi, T., Yusanto. dan Zaenudin. 2008. *Panduan Lengkap Kakao*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Putra, I. M. 2022. *Pengaruh Picloram dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) terhadap Pembentukan Kalus Primer pada Embriogenesis Somatik In Vitro Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz) Klon UJ-5 dengan Menggunakan Eksplan Potongan Daun*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung.

- Rossin, C. B. and Rey, M. E. C. 2011. Effect of explant source and auxins on somatic embryogenesis of selected cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Cultivars. *South African Journal of Botany*. 77 (1): 59–65.
- Saifuddin. 2022. *Karakteristik Morfologi Beberapa Varietas Tanaman Ubi Kayu (Manihot Esculenta Crantz) di Tarakan*. Skripsi. Universitas Borneo Tarakan. Tarakan.
- 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.
- 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.
- Sastrahidayat, I. R. 2017. *Penyakit pada Tanaman Ubi-Ubian*. UB Press. Malang.
- Sitinjak, M. A., Isda, M. N. dan Fatonah. S. 2015. Induksi kalus dari eksplan daun *in vitro* keladi tikus (*Typhonium* sp.) dengan perlakuan 2,4-D dan kinetin. *Jurnal Biologi*. 8(1):32–39.
- Sitorus, E. N., Hastuti, E. D. dan Setiasari, 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.
- Sudarmonowati, E., Hartati, R. dan Taryana, T. 2002. Produksi tunas, regenerasi dan evaluasi hasil Ubi kayu (*Manihot esculenta*) Indonesia asal kultur jaringan di lapang. *Natur Indonesia*. 4 (2): 96-108.
- Sugiyarto, L. dan Paramita, C. K. 2014. Induksi kalus daun binahong (*Anredera cordifolia* L.) dalam upaya pengembangan tanaman obat tradisional. *J. Sains Dasar*. 3(1) 56 – 60.
- Szabados, L., Hoyos, R. and Roca, W. 1987. In vitro somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava. *Plant Cell Reports*. 6 (3): 248-251.
- Trisnawarti, N. dan Sumardi, N. I. 2000. *Kultur Ovule Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Terhadap Keberhasilan Embriogenesis Somatik*. Balai Penelitian Buah. Solok.
- Wahyurini, E. dan Sugandini, D. 2021. *Budidaya dan Aneka Olahan Singkong*. Project Report. LPPM UPN Veteran Yogyakarta. Yogyakarta.
- 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.
- Wiratmaja, I. W. 2017. *Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Cara Penggunaannya dalam Bidang Pertanian*. Universitas Udayana. Denpasar.
- Wiratmaja, W. dan Rai, I. N. 2016. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. UNUD. Denpasar.
- Xiong, Y., Yang, X., Gao, T., Zhao, T., Chen, Z. and An, X. 2018. High-efficiency somatic embryogenesis from seedlings of *Koeleria 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.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6(3):181–194.
- Ziraluo, Y. P. B. 2021. Metode perbanyakan tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* Poiret) dengan teknik kultur jaringan atau stek planlet. *Jurnal Inovasi Penelitian*. 2 (3): 1037–1046.