

**TEKNOLOGI EMBRIOGENESIS SOMATIK UNTUK PERBANYAKAN
UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) KLON CN DENGAN
PENAMBAHAN 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID
(2,4-D) DAN PICLORAM**

(Skripsi)

Oleh

**INDAH SASKIA SOFIYAN
NPM 2054121007**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRACT

SOMATIC EMBRYOGENESIS TECHNOLOGY FOR PROPAGATION OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) CN CLONES WITH THE ADDITION OF 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D) AND PICLORAM

By

INDAH SASKIA SOFIYAN

Demand for cassava for industry in Indonesia continues to increase. Propagation needs to be carried out using tissue culture through the process of somatic embryogenesis to meet cassava productivity. This study aims to determine the type or concentration of PGRs (picloram and 2,4-D) in the induction of primary callus and the formation of somatic embryos originating from young cassava leaf explants of the CN clone. This research was conducted using a single factor completely randomized design (CRD) with seven treatments, namely control (MS + NAA 6 mg/L), MS + NAA 6 mg/L + Picloram (8, 12, 15 mg/L), MS + NAA 6 mg/L + 2,4-D (8, 12, 15 mg/L). The research results on all observed variables did not show any significant differences. All treatments have almost the same time span for callus appearance, namely 10-12 days. Based on the value error standard, the highest callus weight was found in the 15 mg/L picloram treatment with an average of 0.22 g. In the scoring of callus percentage 2 wai and 3 wai, the average score was in range 2-3 with an area distribution of 51-75%. The percentage of explants with callus in the 8 and 12 mg/L picloram treatments had the highest percentage of 100% (all explants formed callus). Based on error standard value, the embryonic percentage explants at 8 mg/L picloram was significantly different from other treatments. Treatments with picloram at 15 mg/L and 2,4-D at 15 mg/L resulted in the highest number of embryos compared to other treatments. This study concludes that CN clone cassava plants respond well to all treatments.

Keywords: *cassava, CN clones, embryogenesis somatic, picloram, 2,4-D*

ABSTRAK

TEKNOLOGI EMBRIOGENESIS SOMATIK UNTUK PERBANYAKAN UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) KLON CN DENGAN PENAMBAHAN 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D) DAN PICLORAM

Oleh

INDAH SASKIA SOFIYAN

Permintaan ubi kayu untuk industri di Indonesia terus meningkat. Perbanyakannya perlu dilakukan secara kultur jaringan melalui proses embriogenesis somatik untuk memenuhi produktivitas ubi kayu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis atau konsentrasi ZPT (picloram dan 2,4-D) dalam induksi kalus primer dan pembentukan embrio somatik yang berasal dari eksplan daun muda ubi kayu klon CN. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktor tunggal dengan tujuh perlakuan yaitu kontrol (MS + NAA 6 mg/L), MS + NAA 6 mg/L + Picloram (8, 12, 15 mg/L), MS + NAA 6 mg/L + 2,4-D (8, 12, 15 mg/L). Hasil penelitian pada semua variabel pengamatan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Semua perlakuan memiliki rentang waktu muncul kalus yang hampir sama yaitu 10-12 hari. Berdasarkan nilai *standard error*, bobot kalus tertinggi terdapat pada perlakuan picloram 15 mg/L memiliki rata-rata 0,22 g. Pada skoring persentase kalus per eksplan 2 msi dan 3 msi memiliki rata-rata skor yang hampir sama yaitu 2-3 dengan sebaran luasan 51-75%. Pada persentase eksplan berkalus perlakuan picloram 8 dan 12 mg/L memiliki persentase tertinggi sebesar 100% yang artinya semua eksplan membentuk kalus. Berdasarkan nilai *standard error*, persentase eksplan berembrio pada picloram 8 mg/L berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan dengan picloram 15 mg/L dan 2,4-D 15 mg/L menghasilkan jumlah embrio tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tanaman ubi kayu klon CN memberikan respon yang baik terhadap semua perlakuan.

Kata kunci: embriogenesis somatik, klon CN, picloram, ubi kayu, 2,4-D

**TEKNOLOGI EMBRIOGENESIS SOMATIK UNTUK PERBANYAKAN
UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) KLON CN DENGAN
PENAMBAHAN 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID
(2,4-D) DAN PICLORAM**

Oleh

INDAH SASKIA SOFIYAN

Skripsi

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

pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi

**: TEKNOLOGI EMBRIOGENESIS SOMATIK
UNTUK PERBANYAKAN UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz) KLON CN
DENGAN PENAMBAHAN 2,4-
DICHLOROPHENOXY ACETIC
ACID (2,4-D) DAN PICLORAM**

Nama Mahasiswa

: Indah Saskia Sofiyan

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2054121007

Program Studi

: Agroteknologi

Fakultas

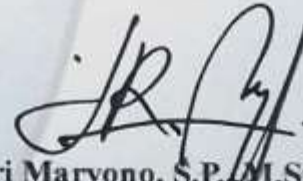
: Pertanian

MENYETUJUI:

1. Komisi Pembimbing,



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



Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si.
NIP 198002082005011002

2. Ketua Jurusan Agroteknologi,



Ir. Setyo Widagdo, M.Si.
NIP 196812121992031004

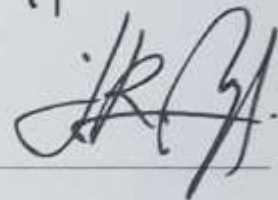
MENGESAHKAN

I. Tim Penguji

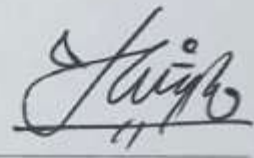
Ketua : Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D.



Sekretaris : Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si.



Penguji
Bukan Pembimbing : Ir. Rugayah, M.P.



II. Dekan Fakultas Pertanian



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 7 Oktober 2024

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “**Teknologi Embriogenesis Somatik untuk Perbanyak Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Klon CN dengan Penambahan 2,4 Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan Picloram**” merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang terdapat dalam skripsi ini telah diikuti dengan kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Jika di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 7 Oktober 2024
Penulis



Indah Saskia Sofyan
NPM 2054121007

RIWAYAT HIDUP

Penulis yang bernama lengkap Indah Saskia Sofiyon dilahirkan di Bandar Lampung pada 9 Juli 2002 merupakan anak kedua dari pasangan Bapak Sofiyon dan Ibu Lela Hestiana. Penulis memiliki tiga saudara kandung, seorang kakak perempuan yaitu Elfira Kurnia Putri, adik perempuan yaitu Intan Mauli Febrianti, dan adik laki-laki yaitu Kemas Hafiz Ridho Pratama. Penulis telah menyelesaikan masa pendidikannya di Taman Kanak-Kanak RA. Tunas Harapan pada 2008; Sekolah Dasar Negeri 4 Tanjung Aman pada 2014; Sekolah Menengah Pertama Negeri 3 Kotabumi pada 2017; Sekolah Menengah Atas Negeri 3 Kotabumi pada 2020. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Strata 1 di Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada 2020.

Penulis aktif dalam berorganisasi di salah satu unit kegiatan mahasiswa yaitu Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT). Pada periode 2022 penulis menjadi Anggota Bidang Kaderisasi dan periode 2023 penulis menjadi Sekretaris Bidang Kaderisasi. Penulis juga aktif menjadi asistensi praktikum Mata Kuliah Dasar-Dasar Agronomi, Kimia, P3 (Praktik Pengenalan Pertanian), dan Bioteknologi Pertanian. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada Januari sampai Februari 2023 di Desa Pampangan, Kecamatan Sekincau, Kabupaten Lampung Barat. Pada Juni sampai Agustus 2023 penulis melaksanakan kegiatan Praktik Umum (PU) di BSIP-TROA, Bogor, Jawa Barat.

**Saya persembahkan karya sederhana ini kepada kedua orang tua tersayang
Bapak Sofiyon dan Ibu Lela Hestiana, kakak dan adik-adikku tersayang,
serta almamaterku tercinta sebagai tanda baktiku dalam menuntut ilmu**

MOTTO

"Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan"
(Q.S Al Insyirah: 5-6)

“Lakukan kebaikan dan jadilah baik”

“Pikiran positif, suasana hati yang baik, hidup yang hebat”

“Sesungguhnya pertolongan akan datang bersama kesabaran”
(HR. Ahmad)

“Tak peduli dalam situasi apapun, jangan menyerah,
bahkan jika kamu merasa ingin menyerah”
(Mark Lee)

“Ambisi tidak ada batasnya, dan jika menginginkan sesuatu,
wujudkanlah, jadi lakukanlah”
(Rex Orange County)

SANWACANA

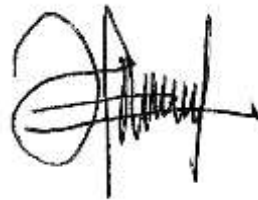
Puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat, rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Teknologi Embriogenesis Somatik untuk Perbanyakkan Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Klon CN dengan Penambahan 2,4 *Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dan Picloram**”. Tujuan dari penulisan skripsi ini adalah sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung. Penyusunan skripsi ini tidak dapat dilakukan tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu ucapan terima kasih penulis kepada:

- (1) Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. sebagai Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
- (2) Bapak Ir. Setyo Widagdo, M.Si. sebagai Ketua Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
- (3) Ibu Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Utama yang telah membimbing, memberikan waktu, ilmu, tenaga, pikiran serta memberikan saran maupun kritik untuk mengarahkan penulis selama melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi;
- (4) Bapak Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si. sebagai Dosen Pembimbing Kedua dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan waktu, ilmu, tenaga, pikiran dari awal perkuliahan hingga melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi;
- (5) Ibu Ir. Rugayah, M.P. sebagai Dosen Penguji dan Dosen Ketua Bidang Teknologi Budidaya dan Agrowisata yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi;
- (6) Keluarga tercinta yaitu Ayah Sofiyon dan Ibu Lela Hestiana, acik Elfira Kurnia Putri, adik-adikku Intan Mauli Febriyanti dan Kemas Hafiz Ridho

- Pratama, yang telah memberikan dukungan, doa, motivasi, serta bantuan secara moril maupun materiil yang selalu mengiringi perjuangan penulis;
- (7) Sahabat-sahabatku: Risa Febri Yanti dan Nisrina Hardianti yang selalu memberikan semangat, motivasi, dukungan, masukan, menemani penulis suka maupun duka dari bangku sekolah menengah pertama sampai perkuliahan;
 - (8) Sahabat perkuliahanku: Tri Meisyah Putri, Alya Fayza, Alike Fadhilah Manaf yang selalu memberikan motivasi, dukungan, masukan, dan menemani penulis dari awal masa perkuliahan sampai akhir penyusunan skripsi;
 - (9) Teman penelitian seperjuangan Cassava 20: Annilen Vio Merila, Vernanda Saktilas, dan Sabrina yang memberikan dukungan, motivasi, serta telah bersama-sama menemani penulis dalam melaksanakan penelitian;
 - (10) Keluarga Lab. Kultur Jaringan yang telah kebersamai penulis dari sebelum sampai selesai melaksanakan penelitian;
 - (11) Teman-teman Jurusan Agroteknologi 2020 yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan semangat dari awal masa perkuliahan sampai penyusunan skripsi.

Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada semua individu yang telah disebutkan maupun yang tidak disebutkan, yang telah memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis. Semoga segala kebaikan yang telah diberikan memperoleh pahala dan balasan dari Allah SWT. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat baik bagi pembaca maupun bagi penulis sendiri.

Bandar Lampung, 7 Oktober 2024
Penulis,



Indah Saskia Sofiyan

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Rumusan Masalah	4
1.4 Kerangka Pemikiran.....	4
1.5 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Ubi Kayu (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	7
2.2 Perbanyakan Ubi Kayu	9
2.3 Kultur Jaringan.....	10
2.4 Embriogenesis Somatik	11
III. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Metode Penelitian	14
3.4 Sterilisasi Alat	15
3.5 Persiapan Eksplan	16
3.6 Pembuatan Media.....	16
3.7 Sterilisasi Media.....	20
3.8 Sterilisasi Sumber Eksplan	21
3.9 Penanaman Sumber Eksplan.....	21

3.10 Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.11 Analisis Data	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Hasil	27
4.1.1 Perkembangan dan Visualisasi Umum Eksplan	27
4.1.2 Rekapitulasi Analisis Ragam.....	31
4.2 Pembahasan.....	36
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1 Simpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Media Murashige dan Skoog (1962)	17
2. Skoring Pembentukan Kalus Primer per Eksplan	24
3. Rekapitulasi Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Pembentukan Kalus Ubi Kayu Klon CN	31
4. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Waktu Muncul Kalus	49
5. Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Waktu Muncul Kalus Primer.....	49
6. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Waktu Muncul Kalus	50
7. Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Waktu Muncul Kalus Primer (Transformasi).....	50
8. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Bobot Kalus Primer.....	51
9. Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Bobot Kalus Primer.....	51
10. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Kalus per Eksplan 2 msi.....	52
11. Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Kalus per Eksplan 2 msi	52
12. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Kalus per Eksplan 3 msi.....	53
13. Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Kalus per Eksplan 3 msi	53
14. Jumlah Embrio per Kalus 8 msi	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan kerangka pemikiran.....	6
2. Visualisasi ubi kayu klon CN umur 4 bulan.....	9
3. Keragaan pembentukan kalus per eksplan berdasarkan nilai skor	25
4. Visualisasi perkembangan kalus primer ubi kayu klon CN yang berasal dari daun muda.....	28
5. Visualisasi kalus embriogenik dan non embriogenik ubi kayu klon CN 3 msi	28
6. Visualisasi perkembangan fase embrio somatik klon CN.....	29
7. Visualisasi induksi embriogenesis ubi kayu klon CN mulai dari eksplan hingga <i>planlet</i>	30
8. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap waktu muncul kalus	32
9. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap bobot kalus 3 msi	32
10. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT pada skoring persentase 2 msi dan 3 msi.....	33
11. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap persentase eksplan berkalus	34
12. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap persentase eksplan berembrio	35
13. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap jumlah embrio 8 msi	35

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ubi kayu merupakan sumber bahan pangan yang penting di dunia. Indonesia merupakan produsen ubi kayu terbesar keempat di dunia setelah Nigeria, Brazil, dan Thailand. Di Indonesia, ubi kayu salah satu tanaman pangan yang sangat penting dan strategis untuk dikembangkan sebagai bahan makanan ataupun bahan baku industri (Pranowo, 2021). Sebagai bahan pangan, ubi kayu digunakan untuk berbagai produk olahan seperti tapioka dan pakan ternak sedangkan bahan baku industri digunakan untuk biofuel. Pengembangan ubi kayu di Indonesia terus berkembang berkat program pemerintah yang menggunakan sumber energi alternatif dari berbagai produk pertanian. Sumber energi alternatif tersebut berupa biofuel cair seperti biodiesel dan bioetanol (Ariningsih, 2016).

Sentra ubi kayu di Indonesia terletak di Provinsi Lampung, Jawa Tengah, Jawa Timur, dan Jawa Barat. Dalam konteks produksi dan pengembangan ubi kayu, Provinsi Lampung dikenal sebagai sentra utama ubi kayu di Indonesia (Pranowo, 2021). Beberapa klon yang sering ditanam di Lampung yaitu ubi kayu klon CN, klon Kasetsart, klon Thailand, klon Martapura, klon Baturaja, dan lain-lain. Klon Thailand ini memiliki kadar pati yang tinggi, berkisar antara 20-27%, serta potensi hasil mencapai 20-35 ton per hektar dan dapat dipanen setelah 8-10 bulan. Klon Kasetsart memiliki kadar pati yang cukup tinggi, yaitu antara 19-30%, serta potensi hasil mencapai 25-38 ton per hektar dan dapat dipanen setelah 9-10 bulan (Pranowo, 2021). Klon CN memiliki jumlah umbi yang lebih banyak dan bobot ubi segar per tanaman yang tinggi sehingga produksinya mencapai 60 ton per hektar. Karakteristik dari klon CN yaitu kulit umbi berwarna putih kecoklatan, jari-jari daun yang panjang, daun dan batang berwarna hijau gelap, tangkai daun

yang berwarna kemerahan, dan klon CN dapat di panen pada umur tujuh bulan (Tani Bertopeng, 2023).

Pengembangan ubi kayu menghadapi permasalahan, seperti kurangnya ketersediaan bahan baku lokal yang tidak konstan serta produktivitas yang masih rendah sehingga tidak menjamin pengolahannya secara berkepanjangan untuk bidang industri. Pengembangan ubi kayu harus ditingkatkan untuk memenuhi kualitas dan kuantitas yang diinginkan sehingga dapat memenuhi permintaan industri dengan menambah jumlah bahan tanam (Darajat dan Tistama, 2014). Saat ini, petani memperoleh bibit dengan cara menanam kembali batang tanaman (stek) setelah panen. Namun, metode ini memiliki beberapa kelemahan, seperti risiko penularan penyakit dari tanaman induk ke tanaman baru, jumlah bibit yang dihasilkan terbatas terutama untuk bibit unggul sehingga tidak dapat memenuhi permintaan petani. Selain itu, proses ini memerlukan waktu yang cukup lama, sekitar 8-12 bulan hingga tanaman siap panen, dan bibit tidak dapat disimpan lebih dari satu bulan. Kelemahan lainnya banyak petani yang menanam ubi kayu melalui stek batang menghasilkan bibit yang tidak seragam (Yelli *et al.*, 2023).

Ketersediaan bibit yang tidak seragam dapat merugikan petani maupun masyarakat. Selain mempengaruhi kualitas pertumbuhan ubi kayu, sering terjadi kegiatan tanam ulang atau sulam karena bibit tidak bisa tumbuh atau mati. Pengadaan bibit biasanya dilakukan sendiri oleh petani dengan cara memotong bibit menggunakan golok atau sabit. Hal ini menyebabkan kondisi bibit yang dihasilkan umumnya mengalami kerusakan ujung bibit (pecah bibit) dan bibit yang dihasilkan ukurannya tidak seragam. Cara pemotongan bibit yang tidak seragam dapat mempengaruhi pertumbuhan ubi kayu, termasuk bobot tanaman, diameter batang, serta luas permukaan daun (Asmara *et al.*, 2023). Oleh karena itu, untuk memenuhi kebutuhan bibit dalam jumlah besar, dengan waktu yang lebih cepat dan kualitas yang baik serta seragam, diperlukan metode perbanyakan bibit melalui kultur jaringan. Dalam teknik kultur jaringan terdapat suatu proses yang biasa digunakan untuk menumbuhkan *planlet* yaitu embriogenesis somatik.

Embriogenesis somatik secara *in vitro* merupakan solusi alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi rendahnya produktivitas. Embriogenesis somatik adalah sebuah proses buatan di mana tanaman atau embrio berasal dari satu sel somatik. Embrio somatik terbentuk dari sel-sel tanaman yang biasanya tidak terlibat dalam perkembangan jaringan tanaman biasa. Proses induksi embriogenesis somatik dapat dilakukan melalui dua jalur, yaitu langsung dan tidak langsung. Jalur langsung terjadi ketika embrio dimulai langsung dari jaringan eksplan dan menghasilkan klon identik, sementara jalur tidak langsung terjadi ketika eksplan mengalami pembentukan kalus sebelum embrio terbentuk (Rusdianto dan Indrianto, 2015).

Embriogenesis somatik ubi kayu sangat dipengaruhi oleh sumber dan jenis eksplan awal, serta komposisi media dan auksin sebagai zat pengatur tumbuh (ZPT) (Rossin dan Rey, 2011). Dalam menginduksi embrio somatik yang umum digunakan dengan mengkulturkan jaringan tanaman dalam media yang mengandung auksin seperti *2,4-dichlorophenoxy acid* (2,4-D) (Rusdianto dan Indrianto, 2015). Auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus adalah 2,4-D dan picloram (Wardani, 2020). Serangkaian penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dua zat pengatur tumbuh yang paling sering digunakan untuk memicu embriogenesis pada tanaman ubi kayu adalah picloram dan 2,4-D (Atehnkeng *et al.*, 2006).

Penelitian ini menginduksi kalus tanaman ubi kayu klon CN dengan penambahan konsentrasi ganda picloram dan 2,4-D serta tambahan *Naphthalene acetic acid* (NAA) pada media sehingga menghasilkan bahan tanaman untuk perbanyakan sesuai yang ditargetkan. Hasil embriogenesis somatik klon CN yang berkembang dengan baik maka dapat digunakan sebagai bahan tanaman untuk bahan industri.

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab masalah yang dirumuskan dalam pertanyaan sebagai berikut:

- (1) Apakah terdapat pengaruh pemberian ZPT (2,4-D dan picloram) terhadap induksi kalus primer eksplan daun muda ubi kayu klon CN secara *in vitro*?
- (2) Apakah terdapat pengaruh konsentrasi yang paling baik pada masing-masing jenis ZPT (picloram dan 2,4-D) terhadap pembentukan dan perkembangan embrio somatik yang berasal dari kalus primer klon CN?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- (1) Mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi ZPT (picloram dan 2,4-D) terhadap induksi kalus primer eksplan ubi kayu klon CN;
- (2) Mengetahui konsentrasi yang memiliki pengaruh terbaik pada masing-masing jenis ZPT (picloram dan 2,4-D) dalam pembentukan dan perkembangan embrio somatik yang berasal dari kalus primer klon CN.

1.4 Kerangka Pemikiran

Ubi kayu merupakan suatu pangan alternatif yang memiliki banyak manfaat baik sebagai bahan makanan maupun bahan baku industri. Namun, kurang tersedianya jumlah bahan tanam ubi kayu dapat menyebabkan penurunan produksi.

Penurunan ini disebabkan tidak terpenuhinya kebutuhan bibit yang diperlukan karena kualitas dan kuantitas yang masih rendah. Pengembangan ubi kayu perlu dilakukan dengan mengupayakan memperbanyak tanaman melalui perbanyakan secara vegetatif. Perbanyakan secara vegetatif tanaman dapat dilakukan secara konvensional maupun nonkonvensional.

Perbanyakan tanaman secara konvensional seperti stek memiliki beberapa kendala yaitu membutuhkan waktu yang lama sampai menghasilkan bibit dan memerlukan lahan yang luas (Darajat dan Tistama, 2014). Kendala ini dapat diatasi jika

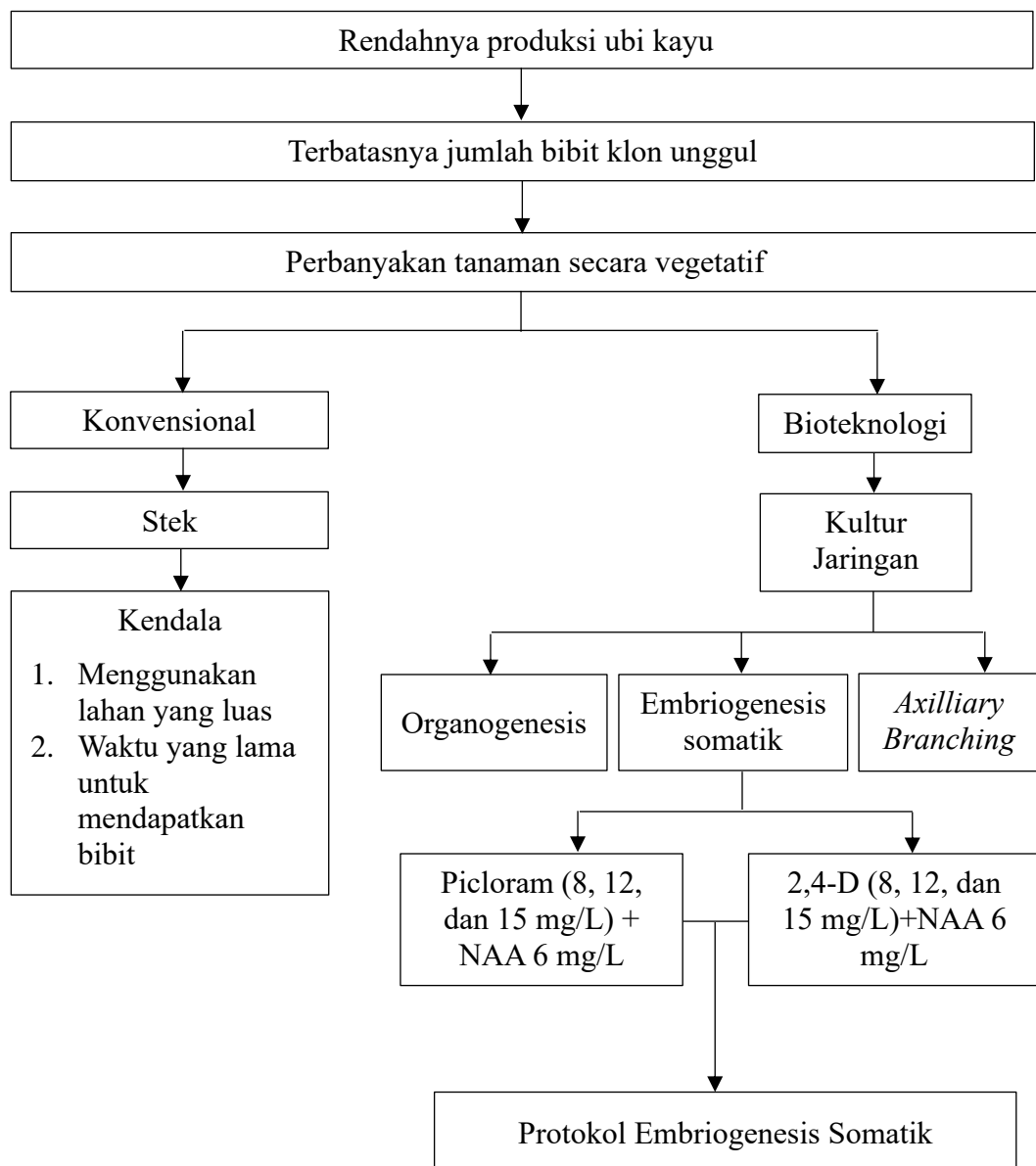
perbanyak secara vegetatif non konvensional dengan memperbanyak menggunakan teknik kultur jaringan melalui proses embriogenesis somatik. Perbanyak ubi kayu dapat menjadi mudah jika menggunakan proses embriogenesis somatik. Proses ini menggunakan sel target berupa embrio somatik karena sel tersebut hanya terdiri dari satu sel. Pada penelitian ini menggunakan embriogenesis somatik tidak langsung yang dimana eksplan membentuk kalus yang nanti akan tumbuh menjadi sel embriogenik. Dalam menginduksi embrio somatik pada tanaman ubi kayu memerlukan suatu ZPT untuk merespon pembentukan kalus seperti 2,4- D dan picloram.

Penelitian dari beberapa kultivar ubi kayu Afrika menemukan bahwa 12 mg L^{-1} picloram dapat memicu pembentukan embrio somatik (Honkua *et al.*, 2006). Beberapa varietas ubi kayu Afrika mencapai hasil embriogenik yang serupa pada dua konsentrasi picloram (8 dan 12 mg L^{-1}) (Atehnkeng *et al.*, 2006). Embrio somatik kultivar MT116 dihasilkan dengan membudidayakan tunas dan daun muda yang dikulturkan pada media yang ditambah picloram dan 2,4-D. Beberapa penelitian mendukung bahwa kemampuan pembentukan embrio somatik bergantung pada tipe eksplan, genotipe, dan konsentrasi ZPT dalam media. Namun, beberapa respon yang didapat pada beberapa klon saat menggunakan ZPT dalam embriogenesis somatik memiliki respon yang berbeda-beda. Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dirumuskan, dapat disusun dalam bentuk bagan (Gambar 1).

1.5 Hipotesis

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

- (1) Konsentrasi picloram 12 mg/L memiliki pengaruh dalam menginduksi kalus primer eksplan ubi kayu klon CN secara *in vitro*;
- (2) Konsentrasi picloram 12 mg/L memiliki pengaruh dalam perkembangan dan pembentukan embriogenesis somatik eksplan daun muda ubi kayu klon CN secara *in vitro*.



Gambar 1. Bagan kerangka pemikiran.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz)

Ubi kayu merupakan tanaman tropis asli benua Amerika Selatan, khususnya Brazil. Tanaman tersebut kemudian menyebar dari Afrika ke seluruh dunia hingga mencapai Indonesia pada abad ke-18. Ubi kayu pertama kali diperkenalkan di suatu kabupaten di Jawa Timur pada 1852. Namun, hingga 1876, ubi kayu kurang dikenal atau tidak ada di beberapa daerah di Jawa, meskipun masih banyak dibudidayakan di daerah lain. Sekitar 1875, konsumsi ubi kayu di Pulau Jawa masih rendah. Pada awal abad ke-20 konsumsi ubi kayu sebagai makanan pokok meningkat pesat menggantikan nasi. Budidaya juga tersebar luas sehingga masyarakat diminta memperluas tanaman ubi kayu. Peningkatan budidaya ubi kayu bertepatan dengan pesatnya pertumbuhan penduduk di Pulau Jawa (Utama dan Rukismono, 2018).

Ubi kayu merupakan tanaman herba kaya karbohidrat dari famili Euphorbiaceae yang dikenal luas kegunaannya, mulai dari daun hingga umbi-umbian. Ubi kayu dapat digunakan sebagai bahan baku pangan, pakan, pertanian, dan industri. Berdasarkan hasil identifikasi tanaman Wahyudi (2024), mengklasifikasikan tanaman ubi kayu yaitu tanaman ubi kayu termasuk dalam kerajaan tumbuhan (Plantae) dan termasuk dalam divisi tumbuhan berbiji (Spermatophyta). Sub divisi Angiospermae (berbiji tertutup), kelas Dicotyledoneae (biji berkeping dua), ordo Euphorbiales, famili Euphorbiaceae, genus *Manihot* adalah kategori taksonomi yang lebih spesifik dari keluarga Euphorbiaceae. Spesies *Manihot esculenta* adalah jenis tanaman ubi kayu yang paling umum ditemukan dan dibudidayakan.

Produksi ubi kayu yang optimal memerlukan curah hujan 150-200 mm pada umur 1-3 bulan, 250-300 mm pada umur 4-7 bulan, dan 100-150 mm pada tahap pra panen. Berdasarkan karakteristik iklim dan kebutuhan air di Indonesia, ubi kayu dapat ditanam hampir di semua wilayah baik iklim lembab maupun kering. Namun, ketersediaan air harus sesuai dengan kebutuhan setiap tahap pertumbuhan tanaman (Nugraha dan Suryanto, 2015). Syarat utama yang dibutuhkan untuk pertumbuhan ubi kayu adalah sinar matahari. Tanaman ini membutuhkan sinar matahari penuh sepanjang hari. Ubi kayu ditanam di daerah beriklim dengan curah hujan tahunan 1500-2500 mm, suhu di atas 10°C, dan kelembaban 60-65%. Tanah yang cocok untuk budidaya ubi kayu yaitu kaya bahan organik, subur, gembur, tidak terlalu liat, dan tidak terlalu rapuh. Namun, tanaman ini kurang cocok ditanam di tanah berpasir, karena ubi kayu tidak dapat tumbuh dan berproduksi secara optimal karena daya ikat air pasir yang sangat rendah. Nilai pH tanah yang cocok adalah netral, yaitu antara 6,5-7,5. Tanaman ubi kayu dapat ditanam pada ketinggian hingga 1500 mdpl, namun ketinggian yang ideal adalah antara 10 hingga 700 mdpl (Utama dan Rukismono, 2018).

Tinggi tanaman secara umum dapat mencapai hingga tiga meter dan memiliki cabang yang sedikit jarang. Akar dari tanaman ini merupakan akar adventif dengan rangkaian akar bercabang yang melebar menjadi umbi yang dapat dimakan. Ubi kayu berbentuk lonjong dengan daging buah yang menggelembung di tengah dan berbentuk kerucut di setiap sisinya. Rata-rata panjang fisik umbi ini adalah diameter 2-3 cm dan panjang 50-80 cm, tergantung jenis ubi kayu yang ditanam. Daging umbinya berwarna putih atau kekuningan dan memiliki struktur berdaging yang kokoh. Daging umbi ini ditutupi dengan kulit ubi kayu berwarna coklat tua atau hitam kecoklatan (Utama dan Rukismono, 2018).

Ubi kayu juga sangat kaya akan nutrisi yang memberikan dampak sangat positif bagi kesehatan kita. Ubi kayu menyediakan energi 160 Kkal, karbohidrat 38,06 g, protein 1,36 g, lemak total 0,28 g, kolesterol 0 mg, dan serat 1,8 g. Berikut kandungan gizi per 100 g ubi kayu mentah; Vitamin B9 memiliki kandungan tertinggi sebesar 27 mg, Vitamin K 1,9 mg, Vitamin C 20,6 mg, Vitamin E 0,19

mg, Pyridoxine 0,088 mg, Thiamin 0,087 mg, Riboflavin 0,048 mg, Niacin 0,854 mg. Mineral yang terkandung yaitu Magnesium 21 mg, Sodium 14 mg, Kalsium 16 mg, Kalium 271 mg, Zat Besi 0,27 mg, Zinc 0,34 mg, Mangan 0,383 mg, Fosfor 27 mg (Utama dan Rukismono, 2018).

Klon CN merupakan klon yang sering ditanam di Provinsi Lampung. Klon CN ini memiliki keunggulan seperti umbi yang dihasilkan jumlahnya lebih banyak dan bobot umbi segar per tanaman tinggi sehingga hasil produksinya mencapai 60 ton per hektar. Karakteristik dari klon CN yaitu kulit umbi berwarna sedikit putih kecoklatan, umbi yang berukuran besar, jari-jari daun panjang, daun berwarna hijau gelap mengkilap, batang berukuran kecil yang berwarna hijau gelap, tangkai daun berwarna kemerahan, dan klon CN dapat di panen pada umur tujuh bulan (Tani Bertopeng, 2023). Visualisasi klon CN umur 4 bulan Menurut D'Limma Jaya (2024) disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Visualisasi ubi kayu klon CN umur 4 bulan: (a) daun, (b) batang, dan (c) ubi.

2.2 Perbanyak Ubi Kayu

Ubi kayu merupakan salah satu komoditas pangan lokal yang potensial dikembangkan di Indonesia, yang umumnya diperbanyak dengan stek batang. Cara perbanyak ini menghasilkan ubi kayu yang tidak seragam serta membutuhkan waktu yang lama yaitu 8-10 bulan. Teknik kultur jaringan dapat menjadi alternatif untuk perbanyak tanaman ubi kayu. Teknik ini memungkinkan perbanyak tanaman dengan hanya mengambil bagian daun atau bagian lainnya yang khusus, sehingga perkembangbiakannya lebih terkontrol dan

cepat. Selain itu, teknik kultur jaringan dapat menghasilkan tumbuhan baru yang seragam dan bebas penyakit. Teknik kultur jaringan dapat dilakukan dengan cara micrografting yang digunakan untuk menggabungkan dua sifat unggul tanaman yang berbeda. Teknik sambung micrografting secara *in vitro* adalah teknik penyambungan potongan batang atas dan bawah pada tanaman ubi kayu yang berukuran kecil dengan membentuk huruf V yang dilapisi dengan aluminium foil (Rahman *et al.*, 2017). Perbanyakan ubi kayu secara vegetatif juga dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan melalui embriogenesis somatik (Yelli *et al.*, 2023) dan organogenesis (Yelli *et al.*, 2022).

2.3 Kultur Jaringan

Kultur jaringan tanaman merupakan suatu metode untuk menanam eksplan, yang terdiri dari bagian tanaman, jaringan, sel, subsele, secara *in vitro* untuk tujuan tertentu. Teknik kultur jaringan mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan, dan organ secara aseptik. Bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi kembali menjadi tanaman yang utuh. Prinsip utama teknik kultur jaringan adalah perbanyakan tanaman menggunakan bagian vegetatif tanaman pada media buatan yang dilakukan pada tempat steril. Metode kultur jaringan memiliki kemampuan untuk menghasilkan banyak bibit tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak dengan waktu yang lebih singkat (Basri, 2016).

Perbanyakan tanaman secara kultur jaringan memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan perbanyakan tanaman secara konvensional. Hal ini karena kultur jaringan memungkinkan untuk menghasilkan banyak bibit dalam waktu yang relatif singkat, tidak membutuhkan banyak tempat, tidak tergantung pada musim, bibit yang dihasilkan lebih sehat, dan dapat dimanipulasi secara genetik. Faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman selama kultur *in vitro* antara lain cahaya. Kualitas, intensitas, dan durasi radiasi yang mempengaruhi tanaman mempunyai dampak yang signifikan terhadap berbagai proses fisiologis pada tanaman (Yuniardi, 2020).

Perbanyak tanaman dengan metode kultur jaringan sebagian besar bergantung pada sumber eksplan dan jenis media yang digunakan. Sumber eksplan pada kultur jaringan terdiri dari bagian dari tanaman yang masih aktif membelah atau jaringan meristem. Macam-macam eksplan yang dapat digunakan diantaranya kotiledon, hipokotil, tunas, buah, bakal buah, daun, akar, biji, dan pucuk. Dalam kultur jaringan, media tumbuh memiliki pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan serta bibit yang dihasilkannya. Jenis tanaman yang akan diperbanyak menentukan komposisi media yang digunakan. Media yang biasanya digunakan adalah sukrosa, agar-agar, garam mineral, vitamin, dan zat pengatur pertumbuhan. Auksin dan sitokinin adalah dua ZPT yang paling umum digunakan dalam media kultur jaringan. Auksin adalah ZPT yang menginduksi perakaran pada perbanyak secara *in vitro*, sedangkan sitokinin adalah ZPT yang menginduksi tunas eksplan (Nurhanis *et al.*, 2019).

2.4 Embriogenesis Somatik

Melalui metode kultur *in vitro* eksplan dari bagian tanaman dapat diinduksi untuk menghasilkan embrio somatik. Kumpulan sel embrionik yang berasal dari sel somatik dan memiliki kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman baru disebut embrio somatik (Taryono, 2016). Tahap perkembangan sel somatik tumbuhan yang dikenal sebagai embriogenesis somatik melibatkan pembentukan sel menjadi struktur bipolar yang memiliki meristem tunas dan meristem akar untuk melakukan dediferensiasi menjadi sel embrionik yang memiliki kemampuan untuk berkembang menjadi tanaman utuh dalam kondisi yang tepat (Guan *et al.*, 2016 dalam Mastuti, 2017).

Embriogenesis somatik dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung dari bagian eksplan selama fase pembentukan kalus. Embriogenesis somatik langsung menggunakan eksplan yang terdiri dari embrio zigotik yang belum matang, yang membutuhkan sedikit perlakuan ZPT untuk menghasilkan embrio somatik. Proses embriogenesis somatik tidak langsung adalah dimulai dengan tahap induksi kalus, lalu mengkulturkan jaringan somatik (batang dan daun muda) pada media dengan

ZPT auksin (Adhinugraha, 2024). Embriogenesis tidak langsung melewati tahapan pembentukan kalus sedangkan embriogenesis secara langsung tidak melewati tahapan pembentukan kalus. Pada embriogenesis somatik terdapat empat tahap pembentukan yang terdiri dari globular, hati, torpedo, dan kotiledon (Saepudin *et al.*, 2017). Embrio somatik pada tahap globular akan berbentuk bulat, pada tahap hati akan berbentuk hati, tahap torpedo yang merupakan fase hati yang membesar, dan pada tahap kotiledon akan muncul struktur berbentuk kotiledon (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Munculnya kalus pada eksplan merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro*. Kalus merupakan kumpulan materi atau zat-zat amorf terbentuk pada eksplan yang sel-selnya membelah secara tidak terstruktur. Induksi kalus diawali dengan penebalan eksplan pada bagian potongan dan di daerah yang mengalami pelukaan. Penebalan tersebut merupakan respons dari eksplan terhadap zat pengatur tumbuh yang diuji. Kalus umumnya muncul pada bagian sayatan helai daun (tepi daun), lalu disusul pada bagian tengah daun. Kalus terbentuk ditandai dengan membengkaknya permukaan eksplan dan terbentuknya tonjolan-tonjolan putih pada permukaan eksplan sehingga dapat membelah terus-menerus. Kecepatan pembentukan kalus ditentukan oleh daya kerja dari zat pengatur tumbuh yang diberikan dan fitohormon yang terdapat pada eksplan (Yulianti, 2020).

Kalus embriogenik dan non-embriogenik adalah dua jenis kalus yang dihasilkan selama induksi. Kalus embriogenik berwarna putih kekuningan, memiliki tekstur remah, terdapat nodul di permukaan, mengkilap, dan tidak berlendir. Kalus non embriogenik berwarna coklat kehitaman, memiliki tekstur lunak, kompak, dan berlendir. Aktivitas fenolik menyebabkan kalus sulit tumbuh dengan baik (Oktafiana *et al.*, 2022). Tekstur kalus adalah penanda kualitas yang digunakan untuk mengetahui apakah sel masih membelah atau telah berhenti membelah. Tiga jenis tekstur kalus yang dihasilkan dari eksplan yang dikultur: remah (*friable*), intermediet (*intermediate*), dan kompak (*compact* atau *non friable*). Secara visual, kalus remah yang terbentuk pada eksplan mudah dipisahkan, dan

jika diambil dengan pinset, kalus mudah pecah dan sebagian selnya menempel pada pinset, di sisi lain kalus yang kompak terlihat padat dan memiliki tekstur yang sulit dipisahkan. Selanjutnya, kalus yang terdiri dari kelompok sel-sel yang sebagian kompak dan lainnya remah disebut kalus intermediet. Tekstur kalus yang baik adalah remah (*friable*). Kalus dengan tekstur remah dapat digunakan untuk meningkatkan aerasi oksigen antar sel dan mudah dipecah dalam kultur suspensi. Dengan demikian, kalus yang bertekstur remah memudahkan kultur suspensi untuk meningkatkan jumlah (massa) kalus (Yulianti, 2020).

Auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus adalah 2,4-D dan picloram (Wardani, 2020). Serangkaian penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dua zat pengatur tumbuh yang paling sering digunakan untuk memicu embriogenesis pada tanaman ubi kayu adalah picloram dan 2,4-D (Atehnkeng *et al.*, 2006). Picloram efektif dalam merangsang pembentukan kalus, terutama pada konsentrasi rendah. ZPT ini meningkatkan sintesis RNA, DNA, dan protein yang penting untuk pertumbuhan dan pembelahan sel (Tu *et al.*, 2001). 2,4-D berfungsi untuk menginisiasi pembentukan kalus dari eksplan tanaman. ZPT ini memicu pembelahan sel dengan cara mempengaruhi dinding sel dan mengaktivasi pompa proton, yang berkontribusi pada proses pembelahan sel yang lebih efisien (Kumianjani *et al.*, 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari hingga Mei 2024. Penelitian dilakukan di Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Lampung untuk penanaman stek sumber eksplan dan penelitian *in vitro* yang dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan (Ilmu Tanaman) Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan untuk menunjang penelitian ini adalah destilator, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), autoklaf budenberg, autoklaf tomy, botol kultur steril, pH meter, mikropipet, pipet tetes, botol *schott*, *magnetic stirrer*, bak/ember, panci, gas, kompor gas, sendok pengaduk, gelas beaker, gelas ukur, erlenmeyer, alat-alat diseksi (pinset, *scalpel*, dan *blade*), ubin, pembakar bunsen, *hand sprayer*, *petridish*, timbangan analitik $> 0,0001 \text{ g}$ (x) $< 0,01 \text{ g}$, *hot plate*, *showcase*, mikroskop binokuler, kereta dorong, rak kultur, plastik *wrapping*, label, pensil, lampu, kamera, dan *air conditioner*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan daun tanaman ubi kayu klon CN yang steril. Media dasar yang digunakan yaitu media Murashige dan Skoog (MS) dan media $\frac{1}{2}$ MS. ZPT yang digunakan adalah beberapa jenis auksin, yaitu Picloram, 2,4 *Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D), *Naphthalene acetic acid* (NAA), *benzyladenine* (BA). Selain itu, bahan yang digunakan adalah arang aktif, agar-agar, alkohol 70%, CuSO_4 , *tweens* 20, air steril, spiritus, aquades, tisu, kapas, larutan pemutih komersial (NaClO), detergen, sukrosa, sabun cuci piring (*sunlight*), KOH 1 N, dan HCl 1 N.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tujuh perlakuan yaitu kontrol (MS + NAA 6 mg/L), Picloram (8 mg/L, 12 mg/L, dan 15 mg/L), 2,4-D (8 mg/L, 12 mg/L, dan 15 mg/L). Terdapat tujuh jenis perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali dimana setiap ulangan terdiri dari tiga botol dan setiap botol diisi tiga eksplan, sehingga diperoleh 28 satuan percobaan dengan 84 botol kultur dan 252 eksplan. Rincian faktor 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 Sterilisasi Alat

Teknik kultur jaringan memerlukan kondisi yang aseptik untuk mengurangi kegagalan yang disebabkan oleh kontaminasi. Ada dua tahap mencuci dalam mensterilkan botol kultur yaitu mencuci botol yang masih terdapat media yang terkontaminasi dan botol yang sudah bersih tanpa terkontaminasi. Tahap yang pertama, botol kultur yang terkontaminasi disterilkan menggunakan autoklaf budenberg selama 30 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1,2 Kg/cm³. Setelah botol kultur diautoklaf, media kontaminasi dalam botol kultur dikeluarkan dan dicuci dengan larutan detergen 5 g/L. Setelah botol dibersihkan dari sisa media dan dicuci, botol kultur direndam ± 12 jam dengan larutan detergen 5 g/L ditambah 100 mL larutan desinfektan komersial. Jika botol sudah bersih, botol direndam langsung dengan larutan detergen 5 g/L ditambah 100 mL.

Botol kultur digosok bagian dalam dan luar dengan serabut jaring dan serabut kawat sampai bersih. Setelah dibersihkan, bilas dengan air mengalir hingga tidak ada sisa detergen. Rendam botol kultur dalam air hangat selama 10-15 menit. Tiriskan botol yang sudah direndam menggunakan alas kertas. Tutup mulut botol dengan penutup plastik berukuran 12x12 cm. Lalu, botol kembali disterilkan menggunakan autoklaf tomy selama 30 menit pada suhu 121°C atau pada tekanan 1,2 Kg/cm³.

Alat-alat lain yang digunakan dalam teknik kultur jaringan yaitu alat diseksi (pinset dan *scalpel*), *petridish*, ubin, tersebut disterilkan dengan membungkusnya dengan kertas kemudian dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diikat dengan karet. Gelas ukur ditutup menggunakan plastik dan diikat dengan karet. Kapas dimasukkan ke dalam botol kultur ditutup dengan plastik dan diikat menggunakan karet, sedangkan untuk botol *schott* langsung dimasukkan ke dalam autoklaf. Lalu, alat-alat tersebut disterilkan menggunakan autoklaf tomy selama 30 menit pada suhu 121°C atau pada tekanan 1,2 Kg/cm³.

3.5 Persiapan Eksplan

Eksplan daun didapatkan dari sumber tanaman yang berasal dari klon CN yang sudah disiapkan dan ditanam dalam polybag. Tanaman tersebut dipelihara di Laboratorium Lapangan Terpadu, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Perawatan tanaman dilakukan pemupukan satu minggu sekali dan penyemprotan insektisida dua minggu sekali. Penanaman dilakukan di rumah kaca untuk menjaga tanaman sehat dan bebas dari penyakit dan mikroorganisme. Setelah tunas tumbuh, eksplan diambil dari tunas aksilar yang berusia dua minggu. Tunas kemudian disterilisasi dan ditanam pada media ½ MS.

3.6 Pembuatan Media

Media Murashige dan Skoog (1962) yang mengandung garam mineral tercantum dalam Tabel 1 digunakan sebagai media dasar.

Tabel 1. Komposisi Media Murashige dan Skoog (1962)

Komponen media	Konsentrasi media MS (mg/L)	Konsentrasi larutan stok (mg/L)	Volume larutan stok perliter 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	1
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	25	
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	25	
Stok Fe (100x)			
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,80	2780	10
Na ₂ EDTA	37,30	3730	
Stok Vitamin (100x)			
Tiamin-HCl	0,10	10	
Piridixin-HCl	0,50	50	10
Asam nikotinat	0,50	50	
Glisin	2,00	200	
Stok Mio-inositol (100x)			
Mio-inositol	100	1000	100

Komponen media dan sukrosa yang sudah disiapkan dimasukkan ke dalam gelas beaker yang sudah ditambah sedikit aquades ± 200 mL, lalu dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, ditera dengan menambahkan aquades sampai batas 1000 mL menggunakan gelas ukur 1 L. Larutan tersebut dituang kembali ke dalam gelas beaker dan dihomogenkan dengan mengatur pH hingga 5,8 menggunakan KOH atau HCl 1 N, ketika pH awal diatas 5,8 maka diatur menggunakan HCl 1 N sedangkan pH awal dibawah 5,8 maka diatur menggunakan KOH 1 N. Kemudian, larutan dimasak dengan menambahkan agar-agar dan diaduk sampai larutan mendidih. Larutan media dituang ke dalam botol kultur steril yang setiap botol berisi ± 30 mL dan tutup kembali menggunakan plastik. Botol yang sudah berisi media diberi label berupa kode untuk menandai komposisi media yang dibuat, setelah diberi label botol yang berisi media di autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C atau pada tekanan $1,2 \text{ Kg/cm}^3$.

Pertumbuhan tanaman dapat ditentukan arah pertumbuhannya dengan menambahkan zat pengatur tumbuh pada media tanam. Dalam menyederhanakan penyiapan media, larutan stok harus disiapkan terlebih dahulu, karena sangat sedikit komponen yang digunakan per liter media. Larutan stok auksin picloram dan 2,4-D dibuat dengan cara menimbang sesuai dengan yang dibutuhkan (8, 12, 15 mg/L) dan melarutkannya dalam 2–3 mL larutan KOH 1 N dalam gelas kimia, hal ini dilakukan karena auksin yang dipakai tidak larut dalam air sehingga membutuhkan pelarut yang sifatnya berlawanan. Kemudian, tambahkan aquades sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga warnanya berubah menjadi bening serta tidak terlihat adanya endapan. Setelah itu, larutan ditera hingga mencapai volume akhir 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm.

Penelitian ini menggunakan media yang berbeda pada setiap tahapannya, terdapat lima macam media yang digunakan pada penelitian ini yaitu media prakondisi, media induksi kalus primer, media pematangan embrio, media induksi tunas, dan media pengakaran sebagai berikut:

3.6.1 Media Prakondisi

Media prakondisi merupakan suatu media yang digunakan untuk menanam tunas yang telah disterilkan untuk mendapatkan eksplan daun muda ubi kayu klon CN. Dalam membuat media prakondisi (media $\frac{1}{2}$ MS) hampir sama dengan komposisi media MS (Tabel 1), tetapi untuk media $\frac{1}{2}$ MS dibuat dengan mengambil setengah kebutuhan stok makro (10x) pada komposisi media MS yaitu dari kebutuhan 100 mL maka yang diambil hanya 50 mL.

3.6.2 Media Induksi Kalus Primer

Media induksi kalus primer merupakan media perlakuan yang digunakan untuk menanam eksplan daun muda yang steril untuk mendapatkan kalus primer, selain menginduksi kalus primer media ini juga dapat menginduksi embrio somatik. Dalam membuat media ini, media dasar yang digunakan berupa media MS yang ditambahkan CuSO_4 , NAA 6 mg/L, sukrosa 40 g/L, dan oxoid (agar-agar) 8 g/L. Media dasar tersebut digunakan sebagai media perlakuan kontrol, untuk perlakuan lainnya dikombinasikan sesuai perlakuan yaitu 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, MS + NAA 6 mg/L + 2,4-D 15 mg/L. Media ini digunakan sebanyak dua kali pemakaian yaitu saat menanam eksplan daun muda dan subkultur kalus primer yang berumur 3 msi. Subkultur kalus primer ke media yang sama ini dilakukan bertujuan untuk mempertahankan kandungan hara media dan untuk mencegah terjadinya pencoklatan pada kalus yang sudah mulai terbentuk, subkultur ini dilakukan sampai umur kalus 6 msi.

3.6.3 Media Pematangan Embrio

Media pematangan embrio merupakan suatu media yang digunakan untuk kalus primer yang sudah membentuk embrio somatik untuk berkembang dari fase globular sampai fase kotiledon. Media ini digunakan untuk memberhentikan

perkembangan kalus sehingga embrio somatik dapat terbentuk dan memicu perkembangan embrio somatik sampai fase kotiledon. Media pematangan embrio menggunakan media dasar MS yang ditambahkan CuSO_4 , NAA 0,5 mg/L, sukrosa 40 g/L, dan oxoid (agar-agar) 8 g/L. Pada media pematangan embrio ini penggunaan picloram dan 2,4-D menjadi 2 mg/L.

3.6.4 Media Induksi Tunas

Media induksi tunas merupakan suatu media yang digunakan untuk menumbuhkan embrio yang telah terbentuk hingga menjadi kotiledon hijau (*green cotyledon*). Media dasar yang digunakan adalah media MS, ditambah dengan sukrosa sebanyak 30 g/L dan agar-agar gelrite 2 g/L. Selanjutnya, media ini ditambah dengan *Benzyladenine* (BA) konsentrasi 0,2 mg/L untuk merangsang proses pembentukan tunas.

3.6.5 Media Pengakaran

Media pengakaran merupakan suatu media yang digunakan untuk memfasilitasi perkembangan akar pada tunas sehingga menjadi *planlet* atau tanaman yang utuh. Media pengakaran ini menggunakan dua media yaitu media MS dan MS + AC (*Active Charcoal*) 1 g/L. Penggunaan media dengan penambahan arang aktif digunakan untuk menyerap senyawa racun dan menyerap perlakuan ZPT yang sebelumnya berada dalam media perlakuan.

3.7 Sterilisasi Media

Sterilisasi media dilakukan dengan mengautoklaf botol yang berisi media selama 15 menit menggunakan autoklaf Tomy dengan suhu 121°C dengan tekanan $1,2 \text{ Kg/cm}^3$. Selanjutnya, media dikeluarkan dan disimpan dalam ruang kultur.

3.8 Sterilisasi Sumber Eksplan

Eksplan tunas yang telah diambil dari rumah kaca harus disterilisasi untuk menghilangkan mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi atau kerusakan. Proses sterilisasi tahap pertama berlangsung dalam beberapa tahapan, (1) mencuci tunas sebanyak dua kali dengan air mengalir selama ± 60 menit, (2) merendam tunas yang sudah dicuci dalam larutan detergen dengan konsentrasi 1 g/L selama 5 menit lalu bilas hingga bersih dengan air mengalir.

Sterilisasi tahap kedua dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Tunas yang telah disterilkan pada tahap pertama kemudian dikocok selama 15 menit dalam larutan *clorox* 20% yang ditambah dengan 2 tetes/100 mL larutan *tween* 20. Setelah proses ini selesai, eksplan dicuci tiga kali dengan air steril, masing-masing pencucian berlangsung selama 1 menit. Eksplan kemudian disterilkan dengan larutan alkohol 70% selama 1 menit kemudian dicuci sebanyak tiga kali dengan air steril masing-masing selama 1 menit.

3.9 Penanaman Sumber Eksplan

Penanaman sumber eksplan dilakukan pada media $\frac{1}{2}$ MS (media prakondisi) dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Tunas yang sudah disterilkan dipotong-potong berukuran 1-2 cm, terdiri dari minimal satu buku per eksplan. Tunas yang dipotong ditanam tegak pada media untuk memudahkan pengambilan pucuk ubi kayu yang steril. Setiap botol kultur diisi sebanyak tiga eksplan. Setelah penanaman pada media prakondisi, kultur diinkubasi selama 7-14 hari pada suhu 25-27 °C dalam kondisi cahaya terang.

3.10 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu induksi kalus primer, induksi embrio somatik dan maturasi, regenerasi tunas, variabel pengamatan, analisis data, sebagai berikut:

3.10.1 Induksi Kalus Primer

Eksplan yang telah ditanam pada media prakondisi diambil daun mudanya pada buku pertama atau pucuk ubi kayu yang telah steril yang berumur 12-14 hari, daun muda tersebut dipotong dengan ukuran 2×5 mm. Tiga eksplan daun ditanam pada masing-masing botol kultur dimana bagian bawah daun menyentuh media. Induksi kalus dilakukan dengan cara inkubasi dalam ruangan gelap pada suhu 25-27°C selama 3 minggu. Setelah di subkultur, kalus ditimbang, dipindahkan ke media yang sama seperti sebelumnya, dan diinkubasi kembali di ruangan gelap pada suhu 25-27°C selama 3 minggu. Selanjutnya dilakukan subkultur pada media pematangan embrio.

3.10.2 Induksi Embrio Somatik dan Maturasi

Kalus yang berumur enam minggu pada media induksi kalus, eksplan yang menunjukkan pertumbuhan kalus embriogenik di subkultur pada media pematangan embrio (media picloram 2 mg/L dan 2,4-D 2 mg/L) dimana pada setiap botolnya diisi tiga kalus. Kalus yang terbentuk dipindahkan ke media auksin masing-masing dengan konsentrasi yang lebih rendah, seperti berbagai konsentrasi picloram sebelumnya dipindahkan ke media picloram 2 mg/L begitu pula dengan berbagai konsentrasi 2,4-D dipindahkan ke media 2,4-D 2 mg/L. Hal ini dilakukan untuk mematangkan embrio dari fase globular sampai kotiledon dan memberhentikan pertumbuhan atau perkembangan kalus. Kalus diinduksi di ruang kultur dalam kondisi gelap pada suhu 25-27°C.

3.10.3 Regenerasi Tunas

Embrio yang sudah mencapai tahap kotiledon, embrio tersebut diinduksi untuk berkembang menjadi *green cotyledon*. Embrio yang matang dipindahkan ke media induksi tunas (MS + BA 0,2 mg/L) selama 4 minggu dan diinkubasi dalam kondisi cahaya terang. *Green cotyledon* kemudian dipindahkan ke media MS0, lalu setelah membentuk tunas hijau disubkultur kembali ke dalam media MS + 1

g/L arang aktif dan dibiarkan selama 2-3 minggu hingga berkembang menjadi tanaman yang utuh (mempunyai akar, batang, dan daun).

3.10.4 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini pengamatan visual, waktu muncul kalus, bobot segar kalus 3 msi, persentase eksplan berkalus 3 msi, rerata skoring pembentukan kalus per eksplan (2 dan 3 msi), persentase kalus berembrio, jumlah embrio, sebagai berikut:

3.10.4.1 Pengamatan visual

Pengamatan visual dilakukan saat berumur 1, 2, dan 3 msi dengan mengamati pertumbuhan dan perkembangan eksplan seperti struktur kalus dan warna kalus. Pengamatan struktur kalus dilakukan untuk mengetahui perkembangan eksplan pada tahap embrio somatik tanaman ubi kayu yaitu mulai dari globular, hati, torpedo, dan kotiledon. Embrio somatik yang muncul diamati menggunakan mikroskop binokuler Olympus (Olympus Tokyo, Japan).

3.10.4.2 Waktu muncul kalus

Waktu muncul kalus primer mulai diamati pada hari kedua dan seterusnya yaitu setelah eksplan ditanam pada media induksi kalus primer hingga seluruh eksplan membentuk kalus (maksimal 2 minggu). Pembentukan kalus primer dapat ditandai dengan bagian eksplan yang membesar tetapi berkerut dan berwarna putih kekuningan.

3.10.4.3 Bobot segar kalus primer 3 msi

Bobot kalus diukur pada 3 msi pada media induksi kalus primer. Setelah kalus diukur beratnya, kalus di subkultur pada media perlakuan yang sama. Kalus yang ditimbang diambil dari lima sampel pada setiap perlakuan yang ukurannya

berbeda-beda mulai dari ukuran yang besar, sedang, dan kecil. Pengambilan lima sampel ini bertujuan untuk mencegah kontaminasi kalus akibat penimbangan. Kemudian, untuk mengetahui bobot kalus yang lain dari setiap perlakuan yaitu dilihat dari visual dan hasil timbangan dari sampel kalus.

3.10.4.4 Persentase eksplan berkalus 3 msi

Persentase eksplan yang berkalus ditentukan dengan menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus dalam waktu 3 msi pada media induksi kalus primer.

Rumus untuk menghitung persentase eksplan berkalus sebagai berikut:

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

3.10.4.5 Rerata skoring pembentukan kalus per eksplan (2 dan 3 msi)

Skoring dilakukan dengan mengamati pembentukan kalus tiap eksplan yang dilakukan pada 2 dan 3 msi. Pembentukan kalus pada eksplan dikelompokkan berdasarkan skor yang terlihat pada Tabel 2. Menurut Anggi (2022) tampilan keragaan kalus terbagi menjadi beberapa skor yang disajikan pada Gambar 2.

Tabel 2. Skoring Pembentukan Kalus Primer per Eksplan

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



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

3.10.4.6 Persentase kalus berembrio

Persentase kalus berembrio dihitung dengan menghitung jumlah kalus yang membentuk embrio pada 3 msi pada media pematangan embrio (media picloram 2 mg/L dan 2,4-D 2 mg/L) dari masing-masing perlakuan berdasarkan jumlah kalus pada perlakuan tersebut. Rumus perhitungan persentase kalus berembrio adalah sebagai berikut:

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

3.10.4.7 Jumlah embrio

Jumlah embrio dihitung 3 minggu setelah kalus dipindahkan ke media pematangan embrio (media picloram 2 mg/L dan 2,4-D 2 mg/L). Jumlah embrio dihitung untuk mengetahui banyaknya embrio yang terbentuk dari kalus yang telah diinduksi media embrio somatik. Pengamatan jumlah embrio somatik per eksplan dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler Olympus.

3.11 Analisis Data

Variabel yang dianalisis ragam dalam pengamatan mencakup waktu munculnya kalus, persentase pembentukan kalus primer pada eksplan 2 dan 3 msi (%), serta bobot kalus primer pada 3 msi (g). Homogenitas diuji dengan uji Bartlett dan

aditivitas diuji dengan uji Tukey. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis dan diolah menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) pada taraf 5% dan dilanjutkan dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji BNT pada taraf 5%. Sementara itu, variabel yang tidak dianalisis ragam meliputi persentase eksplan berkalus pada 3 msi, persentase eksplan berembrio, dan rata-rata jumlah embrio per eksplan. Data yang tidak dianalisis ini akan diuji *standard error* dengan rumus yang relevan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{var} &= \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \\ \text{SD} &= \sqrt{\text{var}} \\ \text{SE} &= \frac{\text{SD}}{\sqrt{n}} \end{aligned}$$

Keterangan:

Var : Varian

SD : Standar Deviasi

SE : Standard Error

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Hasil penelitian terhadap perkembangan dan pertumbuhan eksplan ubi kayu klon CN dapat dilihat pada visualisasi eksplan maupun rekapitulasi analisis ragam sebagai berikut:

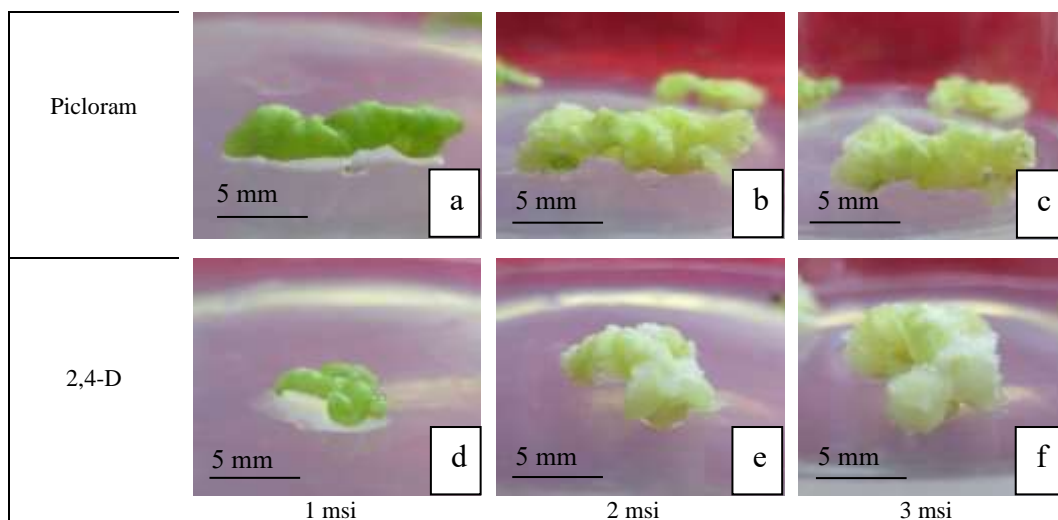
4.1.1 Perkembangan dan Visualisasi Umum Eksplan

Kalus primer yang diamati merupakan perkembangan dari eksplan daun muda ubi kayu klon CN yang diinkubasi pada media induksi kalus primer (media picloram atau 2,4-D 8, 12, dan 15 mg/L) dalam ruangan gelap selama 3 minggu.

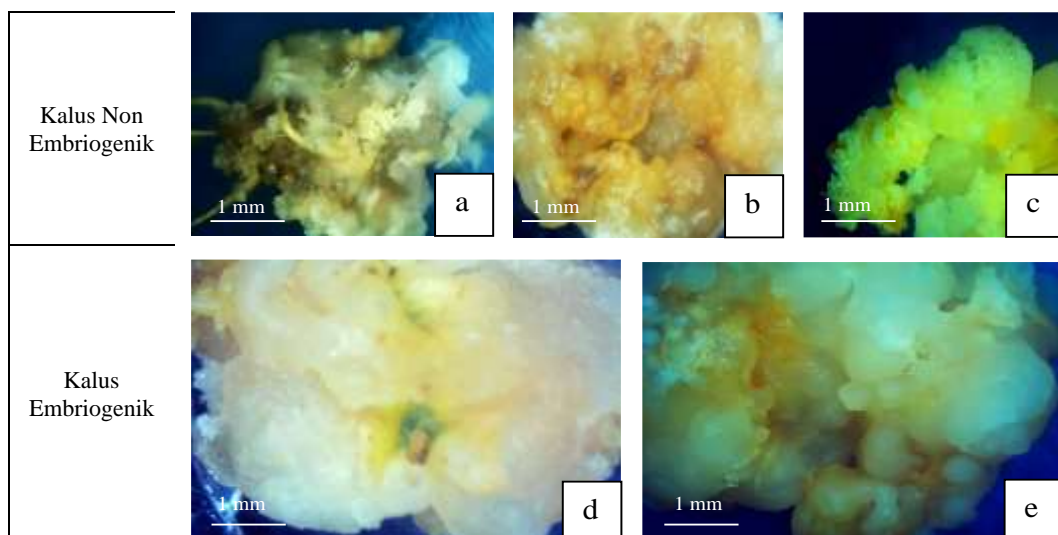
Pengamatan pada minggu pertama, terlihat eksplan menunjukkan respon seperti pembengkakan dan pertambahan ukuran yang terjadi karena eksplan menyerap nutrisi dalam media. Pada minggu kedua dan ketiga, sebagian atau seluruh eksplan sudah membentuk kalus primer. Kalus pada perlakuan picloram atau 2,4-D pada minggu kedua dan ketiga terlihat berwarna putih kekuningan dengan struktur yang kompak dan remah (Gambar 4).

Setelah kalus berumur 3 msi, dilakukan subkultur kalus pada media induksi kalus primer dengan komposisi yang sama picloram atau 2,4-D (8, 12, 15 mg/L). Hal ini bertujuan untuk mempertahankan kandungan hara media dan untuk mencegah terjadinya pencoklatan pada kalus yang sudah mulai terbentuk. Kalus yang berumur 3 msi pada media kontrol berkembang menjadi kalus non embriogenik yaitu perkembangan eksplan daun membentuk kalus yang menghasilkan akar (Gambar 5a). Kalus yang mengandung media picloram dan 2,4-D yang disajikan pada Gambar 5d dan 5e berkembang menjadi kalus embriogenik yang memiliki

potensi untuk berkembang menjadi embrio dan terdapat juga yang non embriogenik (Gambar 5b dan 5c).



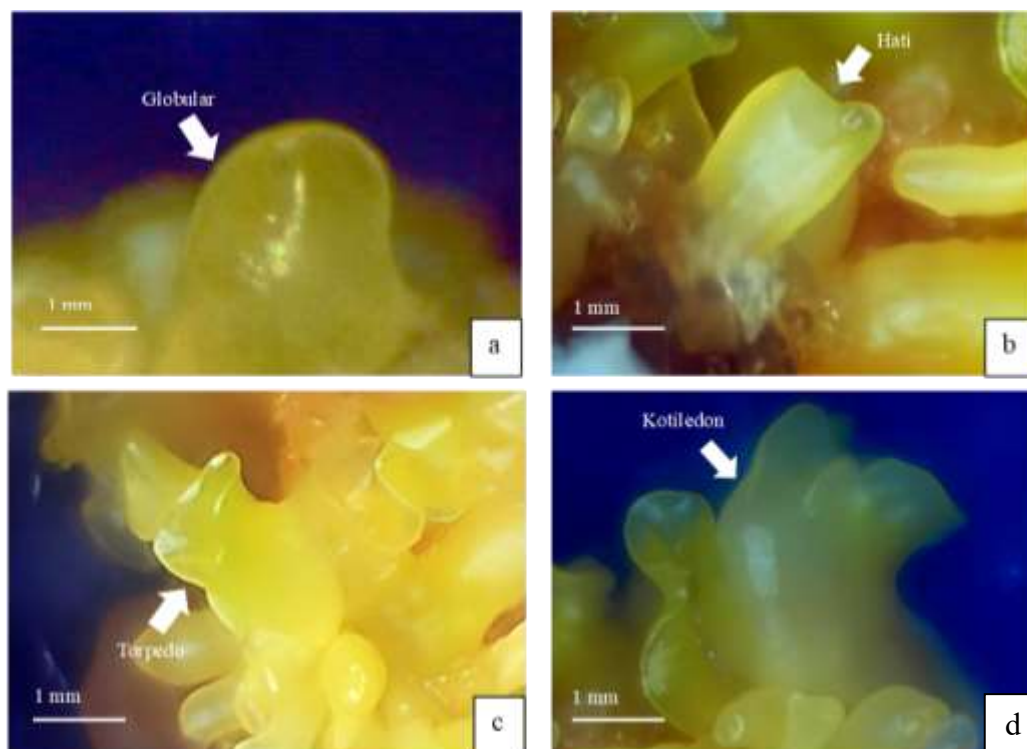
Gambar 4. Visualisasi perkembangan kalus primer ubi kayu klon CN yang berasal dari daun muda: penambahan picloram (a) 1 msi, (b) 2 msi, (c) 3 msi dan penambahan 2,4-D (d) 1 msi, (e) 2 msi, dan (f) 3 msi.



Gambar 5. Visualisasi kalus ubi kayu klon CN 3 msi: kalus non embriogenik: (a) kontrol, (b) picloram, (c) 2,4-D dan kalus embriogenik: (d) picloram, (e) 2,4-D.

Perkembangan kalus primer menjadi embrio somatik muncul saat kalus berumur 4-7 msi. Pada minggu keempat, beberapa kalus yang embriogenik sudah

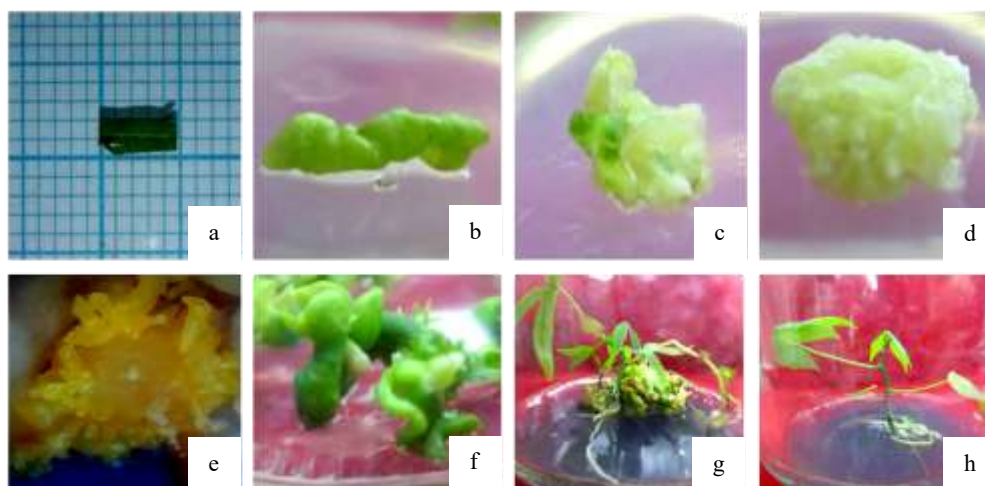
membentuk embrio dengan fase globular. Minggu kelima, kalus tersebut disubkultur ke media pematangan embrio yaitu media MS dengan penambahan ZPT picloram atau 2,4-D dengan konsentrasi 2 mg/L. Perkembangan embrio terlihat baik pada minggu keenam yaitu embrio sudah mulai berkembang dari fase globular membentuk fase berbentuk hati dan torpedo. Fase kotiledon terlihat terbentuk pada minggu ketujuh (Gambar 6).



Gambar 6. Visualisasi perkembangan fase embrio somatik klon CN: (a) fase globular, (b) fase hati, (c) fase torpedo, dan (d) fase kotiledon (4-6 msi).

Kalus berembrio memiliki beberapa fase pembentukan, dimana pada setiap fase memiliki bentuk yang berbeda. Fase pertama yaitu fase globular yang berbentuk bulat (Gambar 6a). Fase kedua yaitu fase hati yang memiliki lekukan di tengahnya seperti bentuk hati (Gambar 6b). Fase ketiga yang disajikan pada Gambar 6c yaitu fase torpedo yang memiliki bentuk yang mirip dengan terompet. Fase terakhir yaitu fase kotiledon yang disajikan pada Gambar 6d berbentuk seperti bakal daun yang akan muncul.

Perkembangan embrio somatik pada ubi kayu klon CN yang menggunakan eksplan daun muda disajikan pada Gambar 7. Eksplan daun muda yang ditanam berukuran $\pm 2 \times 5$ mm (Gambar 7a). Pada Gambar 7b eksplan daun yang berumur satu minggu mengalami pertambahan ukuran daun. Eksplan pada Gambar 7c dan 7d mengalami pembesaran sel sehingga terbentuk kalus primer. Gambar 7e kalus primer di subkultur pada media pematangan embrio (MS + Picloram atau 2,4-D 2 mg/L), kalus yang embriogenik dapat menghasilkan embrio somatik. Embrio yang sudah membentuk fase kotiledon disubkultur ke media induksi tunas (MS + BA 0,2 mg/L) yang diinkubasi di pencahayaan selama 24 jam dengan suhu 25-27 °C, setelah satu minggu fase kotiledon tersebut membentuk *green cotyledon* yang disajikan pada Gambar 7f. *Green cotyledon* yang berumur 3 msi, disubkultur ke dalam media MS0 membentuk sebuah daun atau akar (tunas hijau) (Gambar 7g). Tunas hijau disubkultur ke dalam media yang mengandung arang aktif yaitu MS + AC (*Active Charcoal*) 1 g/L untuk menghasilkan *planlet* (Gambar 7h), arang aktif ini digunakan untuk menyerap ZPT tanaman yang sebelumnya berada di media perlakuan sehingga *planlet* yang dihasilkan lebih steril.



Gambar 7. Visualisasi induksi embriogenesis ubi kayu klon CN mulai dari eksplan hingga *planlet*: (a) 0 msi, (b) 1 msi, (c) 2 msi, (d) 3 msi, (e) embrio somatik 6 msi, (f) *green cotyledon*, (g) tunas hijau, dan (h) *planlet*.

4.1.2 Rekapitulasi Analisis Ragam

Hasil analisis ragam pada taraf 5% menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diberikan tidak menunjukkan hasil yang signifikan pada semua variabel pengamatan yaitu waktu muncul kalus, bobot kalus primer 3 msi, jumlah embrio somatik per eksplan 8 msi, skoring persentase pembentukan kalus per eksplan pada 2 msi dan 3 msi (Tabel 3). Selanjutnya, perlakuan yang tidak signifikan dilakukan analisis menggunakan *standard error*. Selain itu, terdapat variabel pengamatan lain yang dianalisis menggunakan *standard error* yaitu persentase eksplan berkalus, persentase eksplan berembrio, dan rata-rata jumlah embrio.

Tabel 3. Rekapitulasi Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Pembentukan Kalus Ubi Kayu Klon CN

No.	Variabel Pengamatan	Perlakuan
1.	Waktu muncul kalus (hsi)	tn
2.	Bobot kalus primer 3 msi (g)	tn
3.	Skoring pembentukan kalus per eksplan 2 msi	tn
4.	Skoring pembentukan kalus per eksplan 3 msi	tn

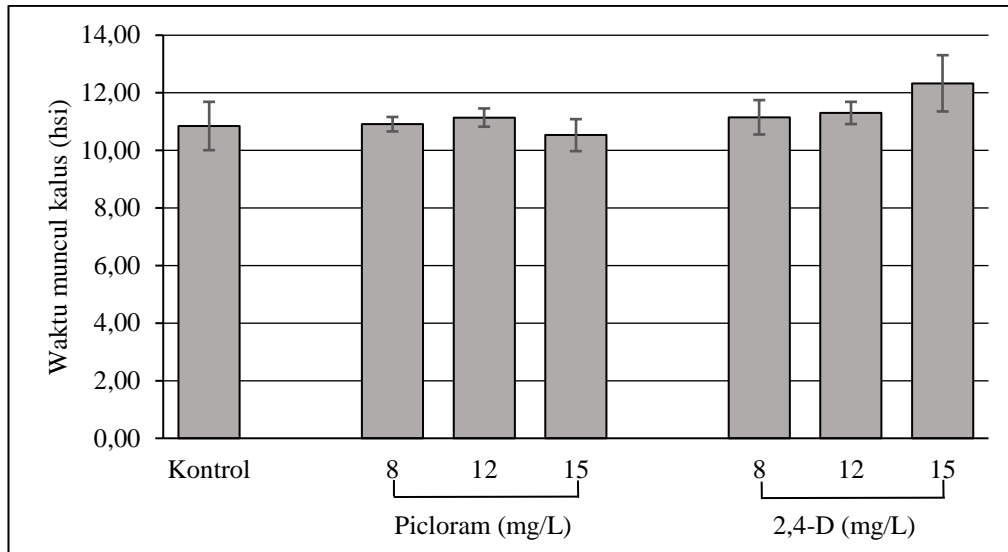
Keterangan:

(*): berbeda nyata pada taraf 5%

(tn): tidak berbeda nyata pada taraf 5%

4.1.2.1 Waktu muncul kalus

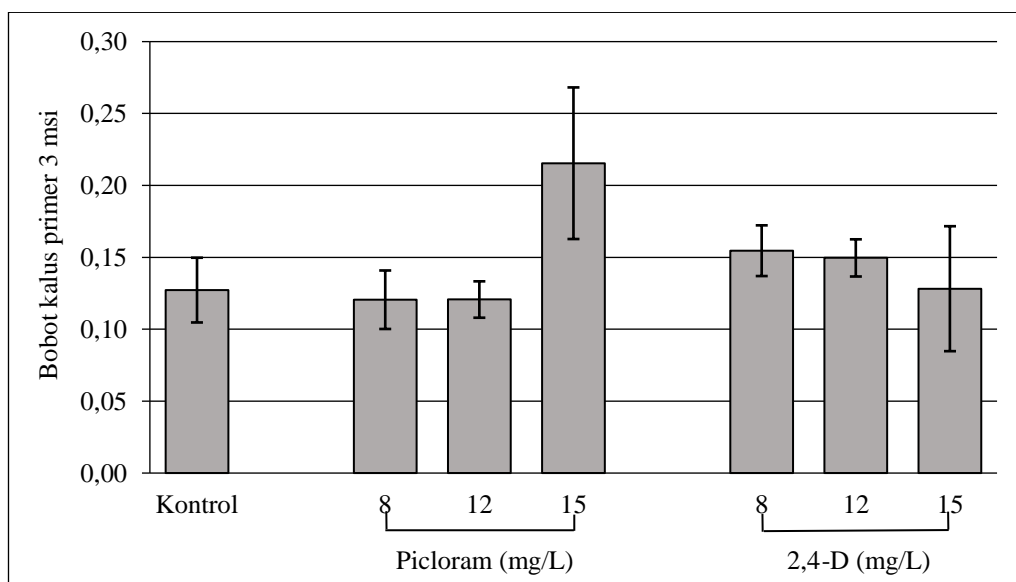
Waktu muncul kalus pada ubi kayu klon CN ditandai dengan daun yang mengalami pembengkakan pada ujung atau tulang daun yang terlihat berwarna putih bening. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan picloram dan 2,4-D yang diberikan mengindikasikan tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan kontrol sehingga nilai rata-rata yang diperoleh hampir sama. Waktu muncul kalus pada media kontrol dan media perlakuan memiliki rentang waktu muncul mulai dari hari ke 10 sampai 12 (Gambar 8).



Gambar 8. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap waktu muncul kalus.

4.1.2.2 Bobot kalus pada 3 msi

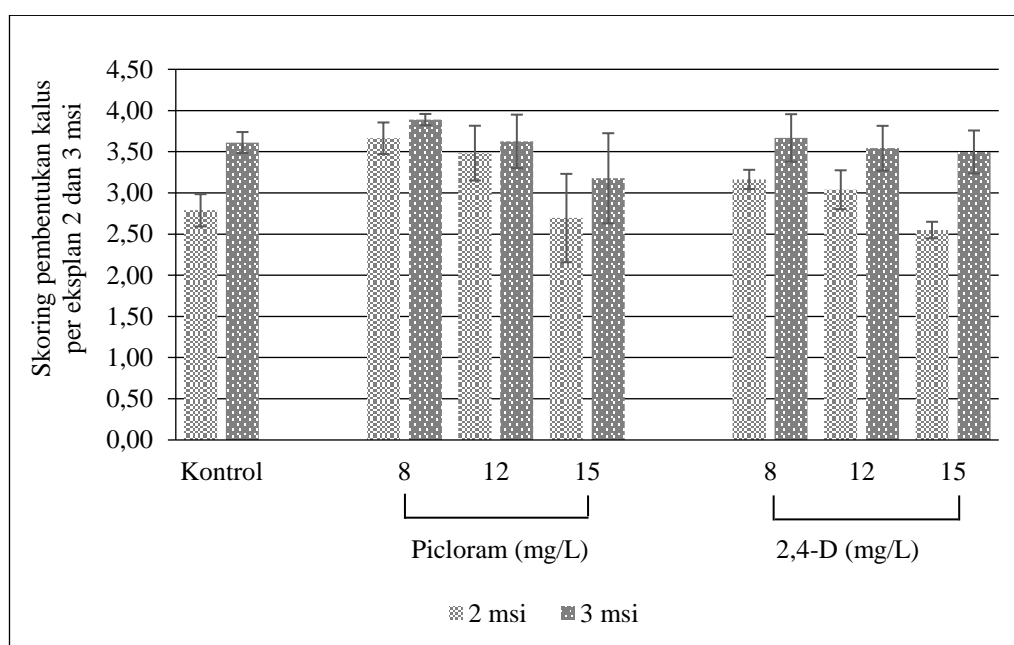
Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan picloram 15 mg/L dengan bobot kalus tertinggi 0,22 g mengindikasikan adanya perbedaan bobot kalus yang signifikan dengan tanpa perlakuan/kontrol (Gambar 9).



Gambar 9. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap bobot kalus 3 msi.

4.1.2.3 Skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 2 msi dan 3 msi

Pembentukan kalus per eksplan pada minggu pertama belum tampak perbedaan dan sebagian besar eksplan belum membentuk kalus. Skoring pembentukan kalus yang telah berumur 2 msi terlihat hampir semua eksplan sudah membentuk kalus sedangkan pada umur 3 msi semua eksplan sudah membentuk kalus. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan picloram dan 2,4-D yang diberikan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan perlakuan kontrol sehingga nilai rata-rata yang diperoleh hampir sama. Skor yang diperoleh mulai dari 2-3 yang artinya kalus sudah terbentuk dengan luasan sebesar 51-75% (Gambar 10).

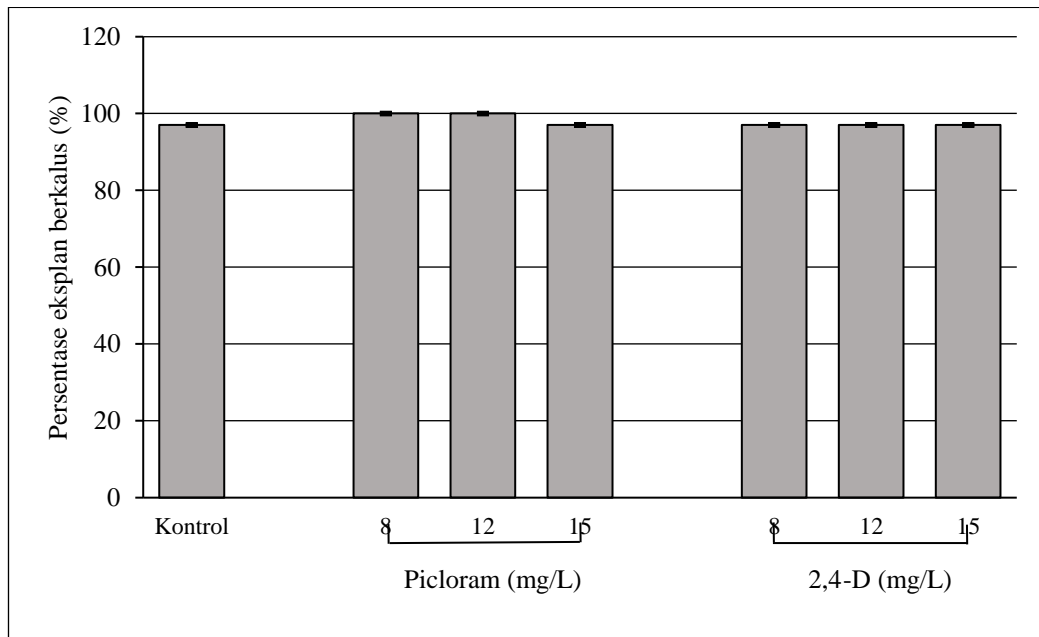


Gambar 10. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT pada skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 2 msi dan 3 msi terhadap ubi kayu klon CN.

4.1.2.4 Persentase eksplan berkalus

Nilai persentase eksplan berkalus pada penelitian ini diperoleh mulai dari 97-100%, sehingga jika dilihat dari persentase tersebut maka terlihat bahwa eksplan membentuk kalus pada semua perlakuan dengan persentase keberhasilan yang tinggi. Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan picloram 8 dan

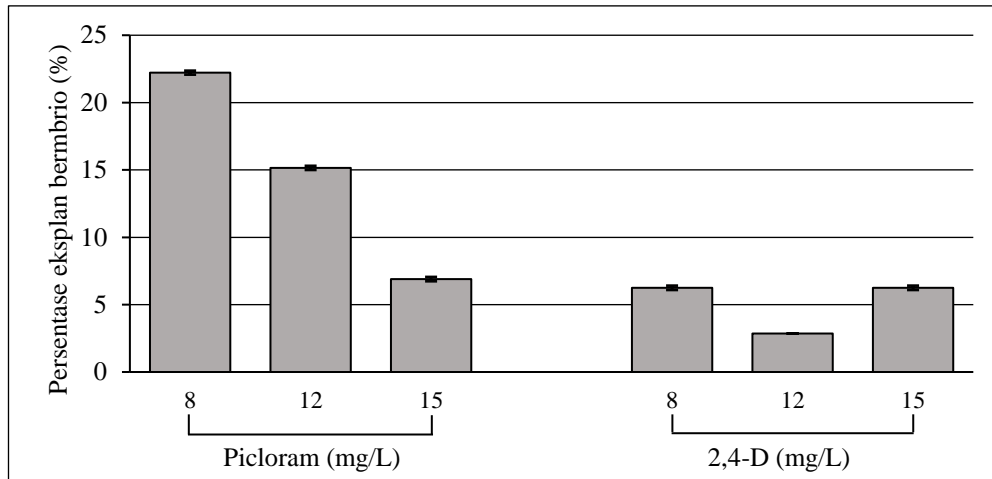
12 mg/L memiliki nilai tertinggi yaitu 100 %. Namun, nilai persentase perlakuan ZPT yang lainnya mengindikasikan tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan kontrol sehingga nilai rata-rata yang diperoleh sama (Gambar 11).



Gambar 11. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap persentase eksplan berkalus.

4.1.2.5 Persentase eksplan berembrio

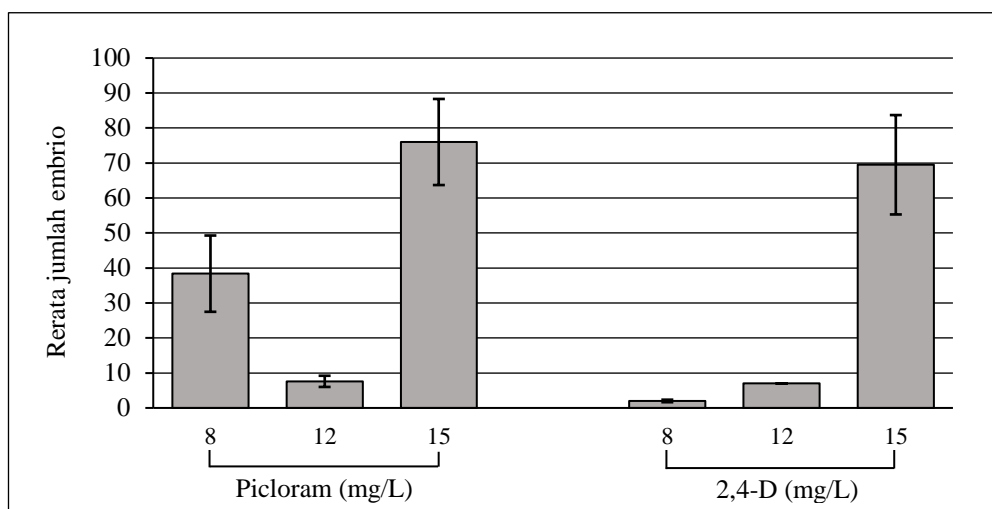
Pada setiap perlakuan terlihat semua membentuk embrio dengan nilai persentase yang bervariasi. Persentase ini dihitung dengan melihat kalus embriogenik yang sudah membentuk embrio. Namun, berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan picloram 8 mg/L dengan nilai persentase tertinggi 22,22 % mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik dengan perlakuan ZPT yang diberikan (Gambar 12).



Gambar 12. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap persentase eksplan berembrio.

4.1.2.6 Jumlah embrio somatik per eksplan 8 msi

Jumlah seluruh embrio pada setiap perlakuan dihitung setelah eksplan berumur 4 msi hingga 8 msi pada media induksi tunas (MS+ BA 0,2 mg/L). Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan picloram 15 mg/L sama dengan 2,4-D 15 mg/L memiliki jumlah embrio tertinggi, mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan dengan perlakuan lainnya. Hal ini jika dilihat dari Gambar 13 bahwa semua perlakuan yang diberikan dapat menghasilkan embrio somatik dengan jumlah yang berbeda.



Gambar 13. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT terhadap jumlah embrio 8 msi.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Semua perlakuan yang diberikan menunjukkan respon yang baik dalam menginduksi kalus primer dengan rentang waktu muncul kalus 10-12 hari sedangkan persentase eksplan berkalus sebesar 97-100%;
- (2) Semua konsentrasi yang diberikan menunjukkan respon yang baik dalam pembentukan embrio somatik dengan jumlah embrio yang berbeda-beda. Namun, berdasarkan nilai *standard error* picloram 15 mg/L memiliki nilai tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya dengan rerata jumlah embrio yaitu $76 \pm 12,3$ dan jumlah embrio 152 dari dua kalus embriogenik.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka pada penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan atau menambah GA3 untuk memacu perkembangan embrio menjadi tunas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhinugraha, Q. S. 2024. Embriogenesis somatik kopi: prinsip dan keunggulannya. *Agriculture and Biological Technology*. 1(2): 58-64.
- Anggi, P. R. 2022. Penggunaan Picloram dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) pada Embriogenesis Somatik Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) Klon Unila UK-1 menggunakan Eksplan Potongan Daun. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 57 hlm.
- Agustina, S. M., Novaliza, I. M., dan Fatonah, S. 2019. Induksi kalus dari eksplan daun *in vitro* keladi tikus (*Typhonium* sp.) dengan perlakuan 2,4-D dan kinetin. *Al-Kaunyah Jurnal Biologi*. 8 (1) : 32–39.
- Anniasari, T. D. 2016. Kajian penggunaan BA dan NAA untuk merangsang pembentukan tunas lengkung dataran rendah (*Dimocarpus longan* Lour) secara *in vitro*. *Jurnal Bioteknologi*. 13 (11) : 43–53.
- Anuradha, T., Kumar, K. K., dan Balasubramanian, P. 2015. Cyclic somatic embryogenesis of elite Indian cassava variety H-226. *Indian Journal of Biotechnology*. 14 (4) : 559–565.
- Ariningsih, E. 2016. Cluster-based cassava production improvement in West Java and South Sulawesi provinces ening. *Analisis Kebijakan Pertanian*. 14 (2) : 125–148.
- Asmara, S., Amien, E. R., Iskandar, Z., Sapto, K., Aditya, M. K. 2023. Pengaruh RPM terhadap kapasitas hasil potongan Pemetong Batang Singkong (Petokong) tipe TEP-1. *Jurnal Agricultural Biosystem Engineering*. 2 (1) : 122–129.
- Atehnkeng, 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.
- Basri, A. H. H. 2016. Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. *Agro Biogen*. 10 (6) : 64–73.

- Buana, A. S. 2020. Induksi kalus stevia (*Rebaudiana bertonii* M.) dengan pemberian kombinasi ZPT NAA (*Naphtalene Asetic Acid*), 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy Asetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purin*). *Jurnal Teknologi Terapan: G-Tech*. 1 (2) : 78–83.
- Budaya, M., Exsyupransia, M., dan Pramana, Y. 2022. Transformasi genetik pada kalus embriogenik tanaman suku Rubiaceae. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 7 (2) : 94–107.
- Darojat, M. R., dan Tistama, R. 2014. Upaya perbaikan genetik dan penyediaan bibit tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) melalui pendekatan bioteknologi. *Warta Perkaratan*. 33 (2) : 57.
- Dewanti, P., Widurp, L. I., Okviandari, P., Maulidiya, A. U. K., Alfian, F. N., and Sugiharto, B. 2021. Development of synthetic seeds derived from coleoptile of sugarcane (*Saccharum officinarum*) through somatic embryogenesis. *International Journal of Agriculture and Biology*. 26 (3) : 377–383.
- Dhanya, J., Leen, N. A., Deepthi, D. C., Moushmi, M., Beena, M. R., Sheela, M. N., and Makesh Kumar, T. 2017. Comparative potential of somatic embryogenesis and friable embryogenic callus production in farmer . *Preferred Indian Cassava Cultivars*. 43 (1) : 23–33.
- D'Limma Jaya. 2024. Singkong Cino umur 4 bulan || Umbinya Sudah Besar. <https://www.youtube.com/watch?v=Kw39Fc1rNDI> Diakses 9 Oktober 2024.
- Fitroh, A. I., Dwiyani, R., Wijaya, I. K. A., dan Yuswanti, H. 2018. Pengaruh 2,4-D terhadap induksi kalus daun stroberi (*Fragaria* sp.) dengan media alternatif nutrisi hidroponik AB Mix. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 7 (3) : 304–315.
- Guan, Y., Li, S. G., Fan, X. F. and Su, Z. H. 2016. Application of somatic embryogenesis in woody plants. *Frontiers in Plant Science*. 7 : 1–12.
- Hapsoro, D., dan Yusnita. 2018. *Kultur jaringan teori dan praktik*. In ANDI. Yogyakarta. 328 hlm.
- Hapsoro, D., dan Yusnita. 2022. *Embriogenesis somatik in vitro untuk perbanyakan klonal dan pemuliaan tanaman*. Aura. Bandar Lampung. 65 hlm.
- 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 thun. *Jurnal Agrotek Tropika*. 11 (1) : 89–95.

- Hong, N. T. M., Thuong, Ngoc, P. B., dan Ha, C.H. 2018. Nghiên cứu tái sinh một số giống sắn (*Manihot esculenta* crantz) thông qua mô sẹo phôi hóa. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*. 16 (1): 119-126.
- 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. 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 Biotech*. 5(19):1700-1712.
- Kumianjani, E. A. B., Revandy, I. D., dan Luthfi, A. M. S. 2015. Pengaruh pemberian N 2,4-D terhadap pertumbuhan dan metabolisme kalus kedelai pada kondisi hipoksida secara *in vitro*. *Jurnal Agroekoteknologi*. 4 (1) : 1673-1680.
- Ma, Q., Zhou, W., and Zhang, P. 2015. Transition from somatic embryo to friable embryogenic callus in cassava: dynamic changes in cellular structure, physiological status, and gene expression profiles. *Frontiers in Plant Science*. 6 (10) : 1–14.
- Marigi, E., Masanga, J., Munga, T., Karanja, L., Ngugi, M., Thagana, W., Kirubi, D., Mwangi, M., Githunguri, C., Muiru, W., Miano, D., 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 (1) : 35.
- Mastuti, R. 2017. *Dasar-dasar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Universitas Brawijaya Press. Malang. 126 hlm.
- Mertaningsih, N. P., Yuswanti, H. E. S. T. I. N., dan Astingsih, A. A. M. (2018). Induksi kalus pada kultur pollen Phalaenopsis dengan menggunakan asam 2, 4D-Diklorofenoksiasetat. *Agrotrop*. 8 (1) : 47-55.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3): 473–497.
- Nic-Can, G. I., Galaz-Ávalos, R. M., De-la-Peña, C., Alcazar-Magaña, A., Wrobel, K., & Loyola-Vargas, V. M. 2015. Somatic embryogenesis: Identified factors that lead to embryogenic repression. A case of species of the same genus. *Plos one*. 10 (6): e0126414.
- Ningtiyas, W., Parawita, D., and Bambang, S. 2016. Preservation effect of PEG (*Polyethylene glycol*) on synthetic seed of sugarcane (*Saccharum officinarum*) VAR. NXI 1,3. *Annales Bogorienses*. 20 (2) : 63–68.

- Nugraha, H. D., dan Suryanto, A. 2015. Kajian potensi produktivitas ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz.) di Kabupaten Pati. *Jurnal Produksi Tanaman*. 3(8) : 673–682.
- Nurhanis, S. E., Wulandari, R. S., dan Suryantini, R. 2019. Korelasi konsentrasi IAA dan BAP terhadap pertumbuhan kultur jaringan sengon (*Paraserianthes falcataria*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 394 (1) : 857–867.
- Oktafiana, N., Umayyah, S., Ningtyas, W. N., dan Sugiharto, B. 2022. Regenerasi kalus embriogenik sorgum (*Sorghum bicolor*) menggunakan kombinasi ZPT dan mikronutrien. *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences*. 6 (1) : 54–61.
- Pranowo, D. 2021. Deskripsi klon tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) yang ditanam petani di enam kabupaten di Provinsi Lampung. *Inovasi Pembangunan : Jurnal Kelitbangan*. 9 (3) :271.
- Purnadyanti, F. 2020. Respon pertumbuhan eksplan kawista (*limonia acidissima* L.) terhadap beberapa konsentrasi *Naphthalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzil Amino Purine* (BAP). *Jurnal Pertanian Indonesia*. 1 (1) : 1–7.
- Rahman, N., Fitriani, H., dan Hartati, N. S. 2017. Multiplikasi tunas kultur ubi kayu dengan teknik sambung pucuk (*Grafting*) *in vitro*. *Prosiding Seminar Nasional 2017 Fakultas Pertanian UMJ “Pertanian Dan Tanaman Herbal Berkelanjutan Di Indonesia,”* 229–236.
- Rasud, Y., dan Bustaman, B. 2020. Induksi kalus secara *in vitro* dari daun cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dalam media dengan berbagai konsentrasi auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25(1) : 67-72.
- 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.
- Rusdianto dan Indrianto, A. 2015. Peningkatan pembentukan embrio somatik pada wortel (*Daucus carota* L) menggunakan *N6-benzylaminopurine* (BAP). *Jurnal Bionature*. 16 (2) : 91–97.
- Saepudin, A., Khumaida, N., Sopandie, D., dan Ardie, D. S. W. 2017. Induksi dan proliferasi embriogenesis somatik *in vitro* pada lima genotipe kedelai. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 44 (3) : 261.
- Setiawati, T., Arofah, A., dan Nurzaman, M. 2020. Induksi kalus krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat var. Tomohon Kuning) dengan 2,4-*Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D) dan *6-Benzylaminopurine* (BAP) pada kondisi pencahayaan berbeda. *Jurnal Pro-Life Volume*. 7(1) : 13–26.

- Tani Bertopeng. 2023. Review Singkong Cino, Sekoci Garuda dan Tailan Umur 7 Bulan dalam Satu Lahan. https://youtu.be/65_TYBeX_dw?si=1Euc-cHuryp8lsxp Diakses 1 April 2024.
- Taryono. 2016. *Pengantar Bioteknologi Untuk Pemuliaan Tanaman Produksi Bibit Tanaman dengan Menggunakan Teknik Kultur Jaringan*. UGM Press. Yogyakarta. 125 hlm.
- Tu, M., Hurd, C., and Randall, J. M.. 2001. *Picloram. Weed Control Methods Handbook*. The Nature. Conservancy. 219 hlm.
- Utama, Y. A. K., dan Rukismono, M. 2018. *Singkong-man VS Gadung-man*. Aseni. Papua. 139 hlm.
- Vidal, Á. M., Costa, M. A. P. D. C., Souza, A. D. S., Almeida, W. A. B. D., and Souza, F. V. D. 2014. *In vitro* regeneration and morphogenesis of somatic embryos of cassava. *Revista Ciencia Agronomica*. 45 (3) : 558–565.
- Wahyudi, Chairil, E., Haitami, A. 2024. Pengaruh jumlah cabang terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Agro Industri*. 10 (1) : 17-24.
- Wardani, D. K. 2020. Induksi kalus tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) dengan pemberian konsentrasi auksin jenis 2,4-D (*dichlorophenoxyacetic acid*) dan picloram. *Global Health*. 167 (1) : 1–5.
- Waryastuti, D. E., Setyobudi, L., dan Wardiyati, T. 2017. Pengaruh tingkat konsentrasi 2,4-D dan BAP pada media MS terhadap induksi kalus embriogenik temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb). *Jurnal Produksi Tanaman*. 5 (1) : 140–149.
- Yelli, F., Ardian, A., 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. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 51 (1) : 1–13.
- Yelli, F., Ardian, Utomo, S. D., Kuku, S., dan Arif, S. 2022. Sosialisasi perbanyak bibit ubi kayu melalui teknologi kultur jaringan kepada Kelompok Tani Wira Bakti 1 Lampung Tengah, Lampung. *Jurnal Abdimas Galuh*. 5 (1) : 337-345.
- Yuniardi, F. 2020. Aplikasi dimmer switch pada rak kultur sebagai pengatur kebutuhan intensitas cahaya optimum bagi tanaman *in vitro*. *Indonesian Journal of Laboratory*. 1 (4) : 8.