

**TEKNOLOGI PERBANYAKAN TANAMAN
UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz.) KLON SN
MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK DENGAN
MENGUNAKAN EKSPLAN DAUN MUDA**

(Skripsi)

Oleh

**Sabrina Salsabila Sulaeman
NPM 2014121021**



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

TEKNOLOGI PERBANYAKAN TANAMAN UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz.) KLON SN MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK DENGAN MENGUNAKAN EKSPLAN DAUN MUDA

Oleh

SABRINA SALSABILA SULAEMAN

Ubi kayu merupakan tanaman pangan penting dengan beragam fungsi. Perbaikan genetik ubi kayu dibutuhkan untuk menghasilkan ubi kayu yang mempunyai kuantitas dan kualitas yang lebih baik. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan perbaikan genetik secara bioteknologi melalui transformasi genetik. Proses transformasi genetik memerlukan sel target yang dapat diperoleh melalui embriogenesis somatik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi auksin terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon SN. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktor tunggal berupa berbagai jenis dan konsentrasi ZPT, yaitu: kontrol (MS + NAA 6 mg/l), MS + Picloram (8 mg/l, 12 mg/l, dan 15 mg/l) + NAA 6 mg/l, dan MS + 2,4-D (8 mg/l, 12 mg/l, dan 15 mg/l) + NAA 6 mg/l. Hasil penelitian berdasarkan perhitungan rata-rata menunjukkan bahwa waktu muncul kalus tercepat adalah pada media dengan penambahan 2,4-D 8 mg/l + 6 mg/l NAA (9,17 hsi) dengan bobot kalus sebesar 0,091 g. Perlakuan picloram 12 mg/l, 2,4-D 8 mg/l, dan 2,4-D 12 mg/l menghasilkan persentase eksplan berkalus yang sama yaitu sebesar $92 \pm 1,1\%$. Persentase kalus berembrio perlakuan 2,4-D 8 mg/l adalah sebesar $44 \pm 1,8\%$ dengan jumlah embrio sebanyak 35 embrio. Perlakuan picloram 12 mg/l memiliki persentase kalus berembrio sebesar $17 \pm 1,8\%$ dan jumlah embrio sebanyak 8 embrio.

Kata Kunci: Embriogenesis somatik, Picloram, Singkong, 2,4-D

ABSTRACT

PROPAGATION TECHNOLOGY OF CASSAVA PLANT (*Manihot esculenta* Crantz.) CLONE SN THROUGH SOMATIC EMBRYOGENESIS USING YOUNG LEAF EXPLANTS

By

SABRINA SALSABILA SULAEMAN

Cassava is an important food crop with various functions. Genetic improvement of cassava is needed to produce cassava that has better quantity and quality. One of the ways that can be used is to conduct genetic improvement biotechnologically through genetic transformation. The process of genetic transformation requires target cells that can be obtained through somatic embryogenesis. This research aims to determine the effect of type and concentration of auxin on primary callus induction and somatic embryogenesis of cassava clone SN. This research used a single factor completely randomized design in the form of various types and concentrations of ZPT, namely: control (MS + NAA 6 mg/l), MS + Picloram (8 mg/l, 12 mg/l, and 15 mg/l) + NAA 6 mg/l, and MS + 2,4-D (8 mg/l, 12 mg/l, and 15 mg/l) + NAA 6 mg/l. The results of this research based on the calculation of the average showed that the fastest callus emergence time was in the media with the addition of 2,4-D 8 mg/l + 6 mg/l NAA (9,17 hsi) with callus weight of 0,091 g. The treatment of picloram 12 mg/l, 2,4-D 8 mg/l, and 2,4-D 12 mg/l produced the same percentage of callus explants at $92 \pm 1,1\%$. The percentage of embryonic callus in the treatment of 2,4-D 8 mg/l is $44 \pm 1,8\%$ with the number of embryos is 35 embryos. The 12 mg/l picloram treatment has a percentage of embryonic callus of $17 \pm 1,8\%$ and the number of embryos is 8 embryos.

Keywords: *Somatic embryogenesis, Picloram, Cassava, 2,4-D*

**TEKNOLOGI PERBANYAKAN TANAMAN
UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz.) KLON SN
MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK DENGAN
MENGUNAKAN EKSPLAN DAUN MUDA**

Oleh

Sabrina Salsabila Sulaeman

Skripsi

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

pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian, Universitas Lampung**



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **TEKNOLOGI PERBANYAKAN TANAMAN
UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz.)
KLON SN MELALUI EMBRIOGENESIS
SOMATIK DENGAN MENGGUNAKAN
EKSPLAN DAUN MUDA**

Nama

: **Sabrina Salsabila Sulaeman**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **2014121021**

Program Studi

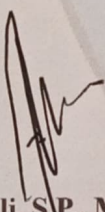
: **Agroteknologi**

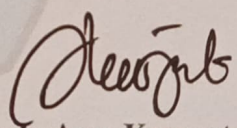
Fakultas

: **Pertanian**

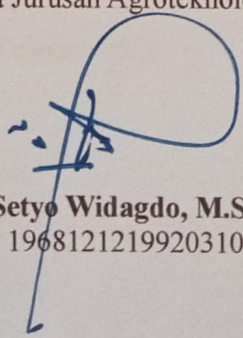
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing,


Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D.
NIP 197905192008122005


Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc.
NIP 196108201986031002

2. Ketua Jurusan Agroteknologi,


Ir. Setyo Widagdo, M.Si.
NIP 196812121992031004

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji,

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

Sekretaris : Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc.

Penguji

Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Sc.

2. Dekan Fakultas Pertanian,



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

NIP 196411181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Februari 2025

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Teknologi Perbanyakan Tanaman Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) Klon SN melalui Embriogenesis Somatik dengan Menggunakan Eksplan Daun Muda”** 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 di kemudian hari skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 26 Februari 2025
Penulis,



Sabrina Salsabila Sulaeman
NPM 2014121021

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Serang, 12 September 2002 dan merupakan anak pertama dari empat bersaudara pasangan Bapak Uus Sulaeman dan Ibu Mira Martia Sulistiawati. Penulis memulai pendidikan di SDN Baros 2 pada 2008-2014, kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Islam Pariskian pada 2014-2017, dan melanjutkan pendidikan di MAN 1 Kota Serang pada 2017-2020.

Penulis melanjutkan studi pendidikan tinggi di Universitas Lampung pada 2020 sebagai mahasiswi Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Selama masa perkuliahan, penulis mengikuti kegiatan Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT) sebagai anggota Bidang Eksternal periode 2022 selama 1 tahun. Penulis melaksanakan Praktik Umum di Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Rempah, Obat, dan Aromatik (BSIP-TROA) Bogor, Jawa Barat pada Juni-Agustus 2023.

PERSEMBAHAN

Karya sederhana ini saya persembahkan kepada kedua orang tua tercinta Bapak Uus Sulaeman dan Ibu Mira Martia Sulistiawati, adik-adik tersayang Syafina Salwa Sulaeman, Syahdan Syamil Sulaeman, dan Safaraz Syafiq Sulaeman sebagai tanda bakti dalam menuntut ilmu dan atas segala dukungan, doa, kasih sayang, dan pengorbanan yang telah diberikan, serta almamater tercinta Universitas Lampung.

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Dia mendapat (pahala) dari (kebajikan) yang dikerjakannya dan dia mendapat (siksa) dari (kejahatan) yang diperbuatnya”

- Q.S. al-Baqarah ayat 286

“Barangsiapa yang bertakwa kepada Allah, niscaya Dia akan mengadakan baginya jalan keluar”

- Q.S. Ath-Thalaq ayat 2

“Hai orang-orang yang beriman, jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar”

- Q.S. Al-Baqarah ayat 153

“Tidak terpaku pada perkataan dan pandangan orang lain adalah kunci hidup tenang. Dirimu dan kenyamananmu adalah prioritasmu dibandingkan orang lain. Percaya diri dan berpikirlah positif agar hidup bahagia. Bertemanlah dengan orang-orang yang pantas mendapat dukunganmu, dan berhati-hatilah dalam mempercayai orang lain”

- Sabrina Salsabila Sulaeman

SANWACANA

Alhamdulillah rabbil alamin, atas izin dan ridha Allah SWT. dan dengan Ilmu-nya Al-Qur'an menurut Sunnah Rasulullah SAW. sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Teknologi Perbanyakan Tanaman Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) Klon SN melalui Embriogenesis Somatik dengan Menggunakan Eksplan Daun Muda”**. Skripsi ini merupakan syarat bagi penulis untuk dapat mencapai gelar Sarjana Pertanian.

Skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis dengan segala kerendahan hati mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membimbing dan membantu kelancaran pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi, yaitu:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
2. Ir. Setyo Widagdo, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
3. Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D., selaku Pembimbing Pertama yang telah memberikan ide, saran, arahan, nasihat, ilmu, perhatian, kasih sayang, dukungan, motivasi, dan pelajaran berharga, serta meluangkan waktu dalam membimbing penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini;
4. Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc., selaku Pembimbing Kedua sekaligus Pembimbing Akademik yang telah memberikan waktu dalam membimbing penulis baik selama penelitian maupun selama perkuliahan. Terimakasih atas ilmu, perhatian, dukungan, saran, arahan, nasihat, motivasi, dan pelajaran

berharga yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan, penelitian, dan penulisan skripsi ini;

5. Prof. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Sc., selaku Penguji yang telah memberikan saran, nasihat, dan arahan kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi;
6. Kedua orang tua penulis, Bapak Uus Sulaeman dan Ibu Mira Martia Sulistiawati serta adik-adik penulis Syafina Salwa Sulaeman, Syahdan Syamil Sulaeman, dan Safaraz Syafiq Sulaeman. Terima kasih atas doa, dukungan, dan motivasi yang selalu mengiringi perjuangan penulis selama ini;
7. Serta seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, terima kasih atas dukungan untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan lancar.

Bandar Lampung, 26 Februari 2025

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Salsabila', with a long, sweeping horizontal stroke extending to the right.

Sabrina Salsabila Sulaeman

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Kerangka Pemikiran.....	4
1.6 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Ubi Kayu	7
2.2 Kultur Jaringan.....	9
2.2.1 Axillary branching	11
2.2.2 Organogenesis.....	11
2.2.3 Embriogenesis Somatik	11
2.3 Media Kultur dan Zat Pengatur Tumbuh	13
III. METODE PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.3 Sterilisasi Alat	17
3.4 Persiapan Eksplan	18
3.5 Pembuatan Media.....	18
3.6 Sterilisasi Media.....	19
3.7 Sterilisasi Sumber Eksplan	19
3.8 Rancangan Percobaan	20
3.9 Pelaksanaan Penelitian.....	22

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil	26
4.2 Pembahasan.....	35
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Simpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan kerangka pemikiran.....	5
2. Keragaan pembentukan kalus per eksplan berdasarkan nilai skor: (a) skor 0, (b) skor 1, (c) skor 2, (d) skor 3, (e) skor 4 (Agustin, 2022).....	24
3. Visualisasi kalus primer ubi kayu klon SN 2 minggu setelah induksi pada media induksi kalus primer.	27
4. Visualisasi kalus primer ubi kayu klon SN 3 minggu setelah induksi pada media induksi kalus primer.	28
5. Visualisasi kalus embriogenik dan non embriogenik ubi kayu klon SN 3 minggu setelah induksi: (a) kalus embriogenik, (b) kalus non embriogenik, (c) kalus akar.....	29
6. Visualisasi dan perkembangan kalus berembrio ubi kayu klon SN 8 minggu setelah induksi: (a) embrio perlakuan picloram 12 mg/l dan (b) embrio perlakuan 2,4-D 8 mg/l.....	29
7. Pengaruh jenis dan konsentrasi picloram dan 2,4-D terhadap waktu muncul kalus primer	31
8. Pengaruh jenis dan konsentrasi picloram dan 2,4-D terhadap skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 2 minggu setelah induksi	31
9. Pengaruh jenis dan konsentrasi picloram dan 2,4-D terhadap bobot kalus primer 3 minggu setelah induksi.....	33

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Media Murashige dan Skoog (1962)	21
2. Skoring Pembentukan Kalus Primer Per Eksplan.....	24
3. Rekapitulasi Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT pada Pembentukan Embrio Somatik Varietas SN	30
4. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Skoring Persentase Pembentukan Kalus per Eksplan 3 Minggu Setelah Induksi. Dua Nilai Tengah yang Tidak Diikuti Huruf yang Sama Dinyatakan Berbeda Nyata Berdasarkan Uji BNT 5% = 0,355.....	32
5. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Persentase Eksplan Berkalus 3 Minggu Setelah Induksi (%)	34
6. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Persentase Kalus Berembrio (%)	34
7. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Jumlah Embrio	35
8. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Waktu Muncul Kalus	46
9. Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Waktu Muncul Kalus.....	46
10. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Eksplan 2 Minggu Setelah Induksi.....	47
11. Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Eksplan 2 Minggu Setelah Induksi.....	47

12.	Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Eksplan 3 Minggu Setelah Induksi.....	48
13.	Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Skoring Persentase Pembentukan Eksplan 3 Minggu Setelah Induksi.....	48
14.	Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Bobot Kalus Primer 3 Minggu Setelah Induksi	49
15.	Analisis Ragam Pengaruh Jenis dan Konsentrasi ZPT terhadap Bobot Kalus Primer 3 Minggu Setelah Induksi	49

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai sumber bahan pangan alternatif setelah padi dan jagung di Indonesia (Silalahi *et al.*, 2019). Ubi kayu banyak dimanfaatkan sebagai bahan dasar berbagai olahan pada industri makanan, seperti sumber utama dalam pembuatan tepung tapioka karena kandungan pati yang tinggi. Ubi kayu memiliki banyak manfaat terhadap kesehatan. Kandungan yang dimiliki tanaman ubi kayu yaitu karbohidrat, air, serat, pati, protein, kalsium, mineral, dan fosfat (Ariani *et al.*, 2017). Sifat khusus tanaman ini adalah pati yang dihasilkan mempunyai kadar amilum yang rendah tetapi memiliki kadar amilopektin yang tinggi (Silalahi *et al.*, 2019). Disamping itu, ubi kayu mempunyai senyawa bioaktif skopoletin yang berkhasiat bagi kesehatan sebagai antioksidan, antihipertensi, antikanker, antidepresi, antialergi, dan antiinflamasi (Herlina dan Nuraeni, 2014).

Budidaya Ubi kayu sudah banyak dilakukan di Indonesia. Berdasarkan data pada Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian (Saida, 2023), produksi ubi kayu tahun 2022 sebesar 14.978.310 ton. Produksi ubi kayu di Indonesia mengalami penurunan sejak tahun 2018 dari 16.119.020 ton mengalami penurunan sebesar 1.140.710 ton di tahun 2022. Provinsi Lampung merupakan provinsi penghasil produksi ubi kayu terbesar di Indonesia, pada tahun 2022 produksinya sebesar 5.952.537 ton.

Ubi kayu di Indonesia mempunyai keragaman yang luas. Berdasarkan data paspor plasma nutfah tanaman pangan yang dirilis oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, ubi kayu mempunyai 600 aksesori yang dimiliki dalam Bank Gen Indonesia (Sutoro *et al.*, 2010). Berdasarkan prosiding seminar nasional yang dikeluarkan oleh Komisi Nasional Sumber Daya Genetik, ubi kayu klon Soponyono (SN) merupakan salah satu dari 50 aksesori ubi kayu yang sedang dikembangkan (Hidayatun *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil pengukuran kadar pati ubi kayu oleh Bank Gen Balitbangtan, ubi kayu klon SN mempunyai kandungan pati sebesar 31,4% (Afza dan Dwiatmini, 2021).

Beberapa permasalahan yang menyebabkan turunnya produksi ubi kayu di Indonesia meliputi ketahanan ubi kayu terhadap hama dan penyakit tanaman, kadar pati yang rendah (Nintania *et al.*, 2021), kadar protein yang rendah, dan senyawa sianogenik pada beberapa varietas ubi kayu (Ariani *et al.*, 2017). Upaya perbaikan kualitas dan kuantitas ubi kayu dapat dilakukan melalui transformasi genetik dengan melakukan perakitan varietas unggul baru tanaman ubi kayu. Keberhasilan penyisipan gen pada transformasi genetik tidak lepas dari upaya dalam teknik kultur jaringan yang menyediakan sel target yang digunakan untuk menyisipkan gen.

Kultur jaringan adalah salah satu teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro* melalui organ tanaman yang ditumbuhkan dalam suatu media pada keadaan steril. Kultur jaringan bertujuan untuk mendapatkan tanaman dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang singkat (Yuniardi, 2019). Pada kultur jaringan terdapat dua sistem regenerasi yaitu dengan embriogenesis somatik dan organogenesis.

Embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio dari sel atau jaringan somatik tanaman yang akan berkembang menjadi individu baru (Sualang *et al.*, 2023). Embriogenesis somatik akan menghasilkan kalus yang bersifat embriogenik. Kalus ini mengandung banyak sel yang bersifat

meristematik sehingga akan meningkatkan efisiensi dalam proses transformasi genetik (Budaya *et al.*, 2022). Kalus embriogenik memiliki daya regenerasi yang tinggi, sehingga kalus embriogenik berpotensi menjadi sel target pada transformasi genetik (Koetle *et al.*, 2015). Embrio yang dihasilkan kemudian akan mengalami pembelahan sel membentuk organ-organ tanaman seperti tunas, daun, dan akar.

Induksi kalus untuk membentuk embrio membutuhkan zat pengatur tumbuh (ZPT). Penambahan zat pengatur tumbuh yang tepat pada media akan sangat menentukan keberhasilan pada regenerasi tanaman (Yelli *et al.*, 2022). Auksin dan sitokinin merupakan dua golongan ZPT yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* untuk induksi kalus (Wardani, 2020). Penggunaan ZPT auksin dapat mempengaruhi pertumbuhan diferensiasi sel, pertambahan panjang batang, dan percabangan akar. Beberapa ZPT dari golongan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus yaitu picloram dan 2,4-D (2,4-*Dichlorophenoxyacetic acid*).

Picloram merupakan salah satu jenis auksin sintetik yang banyak digunakan dalam kultur jaringan tanaman untuk menginduksi perkembangan kalus embriogenik (Azizi *et al.*, 2023). Penggunaan picloram dalam media induksi kalus embriogenik terbukti paling efektif untuk menghasilkan kalus embriogenik (Syombua *et al.*, 2019). Auksin 2,4-D merupakan salah satu jenis auksin endogen dalam sel yang bila ditambahkan dalam media kultur akan memicu proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Auksin 2,4-D juga efektif untuk merangsang pembentukan kalus karena akan memacu proses diferensiasi sel, organogenesis, serta menjaga pertumbuhan kalus (Sitinjak *et al.*, 2015).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi picloram dan 2,4-D untuk induksi kalus dan embriogenesis somatik menggunakan daun muda ubi kayu klon SN sehingga dapat diperoleh protokol yang tepat untuk embriogenesis somatik klon SN.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Bagaimana pengaruh beberapa konsentrasi picloram terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon SN;
- (2) Bagaimana pengaruh beberapa konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon SN.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi picloram terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon SN;
- (2) Mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon SN.

1.4 Manfaat Penelitian

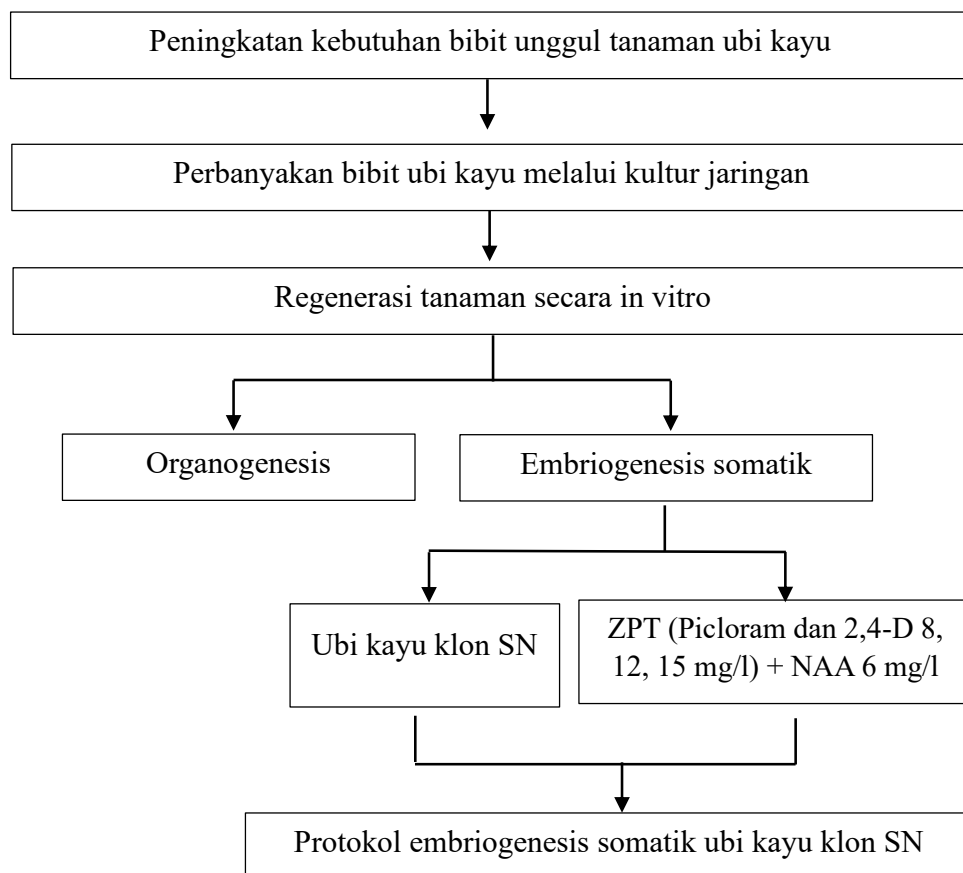
Penelitian ini bermanfaat untuk menghasilkan protokol embriogenesis somatik tanaman ubi kayu klon SN dengan menggunakan auksin picloram dan 2,4-D sebagai zat penginduksi. Protokol ini dapat digunakan dalam perakitan varietas unggul tanaman ubi kayu klon SN pada tahap transformasi genetik.

1.5 Kerangka Pemikiran

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) adalah salah satu bahan pangan alternatif setelah padi dan jagung di Indonesia. Produksi ubi kayu di Indonesia mengalami penurunan sejak tahun 2018. Salah satu penyebabnya adalah kualitas bibit yang kurang baik (bukan varietas unggul). Salah satu upaya untuk mendapatkan varietas unggul dan memperbanyak tanaman secara vegetatif adalah melalui pemanfaatan teknologi kultur jaringan. Terdapat dua jalur regenerasi *in vitro*

yang dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman yaitu embriogenesis somatik dan organogenesis. Klon SN merupakan salah satu aksesori ubi kayu yang sedang dikembangkan oleh pemerintah. Pada penelitian ini dilakukan upaya untuk mendapatkan protokol yang tepat untuk menghasilkan embrio somatik ubi kayu yang akan dimanfaatkan sebagai sel target untuk perakitan varietas unggul ubi kayu klon SN melalui embriogenesis somatik.

Pada tanaman ubi kayu, embrio somatik dapat diinduksi dengan menambahkan auksin tertentu pada media *in vitro*. Auksin picloram dan 2,4-D diketahui merupakan jenis auksin yang paling sering digunakan sebagai media penginduksi kalus. Proses induksi kalus akan menghasilkan kalus primer yang akan berkembang menjadi embrio somatik. Embrio somatik merupakan hasil embriogenesis somatik yang merupakan satu sel yang akan berkembang menjadi tanaman baru. Bagan kerangka pemikiran disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan kerangka pemikiran.

1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Konsentrasi picloram 12 mg/l dapat memberikan respon terbaik untuk menginduksi kalus primer serta pembentukan dan perkembangan embrio somatik ubi kayu klon SN;
- (2) Konsentrasi 2,4-D 8 mg/l dapat memberikan respon terbaik untuk menginduksi kalus primer serta pembentukan dan perkembangan embrio somatik ubi kayu klon SN.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Ubi Kayu

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) atau singkong adalah salah satu tanaman yang banyak dibudidayakan di Indonesia sebagai bahan pangan. Tanaman ini merupakan tanaman sumber karbohidrat dan sumber pati yang tinggi (Hasanah *et al.*, 2021). Ubi kayu dapat tumbuh hampir di seluruh daerah di Indonesia (Nurdjanah *et al.*, 2020). Klasifikasi tanaman ubi kayu berdasarkan Herbarium Medanense (2016) berasal dari Kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, Subdivisi Angiospermae, Kelas Dicotyledonae, Ordo Euphorbiales, Famili Euphorbiaceae, Genus Manihot, spesies *Manihot esculenta* Crantz.

Ubi kayu merupakan bahan dasar utama dalam industri makanan yaitu pembuatan tepung tapioka. Ubi kayu mempunyai kadar serat pangan yang tinggi, kadar glikemik dalam darah yang rendah, dan kadar gizi mikro yang tinggi yang mampu mencegah diabetes (Novaldi *et al.*, 2022). Kandungan yang terdapat pada ubi kayu yaitu karbohidrat, protein, vitamin, fosfor, kalsium, dan zat besi (Caniago *et al.*, 2014). Selain itu, pati, air, amilosa, dan amilopektin juga terkandung dalam ubi kayu (Nurdjanah *et al.*, 2020).

Karakteristik morfologi dari tanaman ubi kayu berbeda tergantung pada varietas dan genotipnya. Pada umumnya, ubi kayu memiliki ciri yaitu daun muda yang dapat berwarna hijau muda dan merah keunguan, daun dewasa berwarna hijau tua, umbinya berwarna putih atau kekuningan, batang berwarna hijau kekuningan, abu-abu, ataupun coklat gelap (Nurdjanah *et al.*, 2020). Jumlah daun ubi kayu 3-7 helai berbentuk lanset dengan ujung daun meruncing. Bentuk

umbi tanaman ubi kayu beragam yaitu, lonjong, pendek, dan membulat. Batang ubi kayu berbentuk bulat dengan diameter 2,5-4 cm, posisi duduk daun spiral dengan rumus $2/5$, bentuk tulang daun ubi kayu majemuk menjari (Restiani, 2014). Ruas batang pendek 4-6 cm, tangkai daun ubi kayu berwarna hijau, kuning, atau merah, bunga ubi kayu berwarna hijau dengan ujung kemerahan, mempunyai mahkota, kelopak bunga, putik, dan benang sari, serta dalam 1 karangan bunga yang dapat berjumlah 169 bunga (Caniago *et al.*, 2014).

Tanaman ubi kayu mengalami proses pertumbuhan dan perkembangan sama halnya dengan tanaman lain. Pertumbuhan pada tanaman berupa penambahan volume, massa, dan suhu yang tidak dapat berubah. Adapun perkembangan pada tanaman berupa diferensiasi dan spesialisasi sel menuju tahap kedewasaan (Nasution, 2024). Pertumbuhan tanaman dapat dibedakan menjadi pertumbuhan primer dan pertumbuhan sekunder. Pertumbuhan primer merupakan pertumbuhan yang terjadi akibat pengaruh dari aktivitas meristem primer atau disebut juga meristem apikal. Sedangkan, pertumbuhan sekunder terjadi akibat pengaruh dari aktivitas meristem sekunder (Nasution, 2024).

Jaringan meristem merupakan jaringan yang meristematik yaitu sel-selnya masih aktif membelah. Sel-sel pada jaringan meristem akan mengalami diferensiasi sel yaitu perubahan sel meristematik menjadi sel yang mempunyai struktur dan fungsi yang berbeda. Berdasarkan letaknya jaringan meristem terbagi menjadi 3 yaitu meristem apikal, meristem lateral, dan meristem interkalar. Meristem apikal terbentuk dari sel-sel initial pada ujung batang dan ujung akar sehingga meristem apikal terdapat pada bagian ujung akar dan ujung batang. Meristem apikal mengakibatkan terjadinya perpanjangan pada ujung akar dan ujung batang. Meristem lateral terbentuk dari sel-sel initial pada bagian tepi organ tanaman (Muttaqin, 2023). Meristem lateral mengakibatkan penebalan dan pelebaran pada diameter batang dan akar. Meristem interkalar (aksilar) terletak di antara jaringan dewasa yang telah terdiferensiasi dan ruas-ruas batang. Meristem interkalar mengakibatkan penambahan panjang ruas (Ramdhini, 2021).

Tunas apikal terdiri dari meristem apikal. Pemangkasan bagian tunas apikal akan menyebabkan hilangnya dominansi apikal serta menstimulasi pertumbuhan tunas-tunas baru pada bagian aksilar batang. Dominansi apikal merupakan suatu cara mengatur pertumbuhan dominansi ujung tanaman yang menekan percabangan tanaman (Yolanda, 2021). Dominansi apikal terjadi karena adanya aktivitas produksi auksin yang berlebihan pada bagian ujung tanaman mengakibatkan tunas samping menjadi dorman. Auksin yang diproduksi oleh tunas apikal berdifusi ke bagian bawah tanaman dan menghambat pertumbuhan tunas lateral. Tunas apikal sensitif terhadap auksin sehingga sedikit konsentrasi auksin sudah dapat memacu pertumbuhan tunas lateral. Sebaliknya, akibat konsentrasi auksin yang tinggi menghambat pertumbuhan tunas lateral. Pertumbuhan tunas-tunas yang berada pada bagian ketiak daun akan menghasilkan percabangan baru membentuk titik tumbuh yang baru (Makmur, 2019).

2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan suatu teknik menumbuhkan sel, jaringan, maupun organ tanaman secara *in vitro* pada suatu media yang mengandung nutrisi dalam kondisi aseptik hingga menjadi tanaman utuh (Dwiyani, 2015). Kultur jaringan merupakan suatu teknik perbanyakan tanaman yang didasari oleh teori totipotensi sel. Teori totipotensi sel menyatakan bahwa sel tanaman dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh jika ditempatkan pada kondisi yang sesuai (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Tanaman yang dihasilkan melalui kultur jaringan akan mempunyai sifat yang identik dengan induknya karena tanaman yang dihasilkan berasal dari satu sel yang membelah dan tidak melalui proses fertilisasi (Dwiyani, 2015).

Perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan mempunyai banyak keuntungan seperti tidak memerlukan tempat yang luas, pelaksanaan produksi bibit tidak tergantung musim, perbanyakan tanaman *true-to-type* dalam jumlah

besar dengan waktu yang singkat, menghasilkan bibit sehat, dan sebagainya. Teknik kultur jaringan sudah banyak digunakan dalam bidang pertanian seperti untuk memperbanyak vegetatif tanaman secara cepat dalam skala besar, produksi tanaman haploid, induksi pembungaan dan pembuahan, induksi mutasi maupun keragaman somaklonal, produksi tanaman bebas penyakit, penyimpanan dan konservasi plasma nutfah.

Teknik kultur jaringan memerlukan bahan tanam awal yang disebut eksplan. Eksplan merupakan jaringan yang berpotensi untuk beregenerasi menjadi tanaman dewasa. Eksplan yang akan dikulturkan dapat berupa kultur sel, kultur protoplas, kultur meristem, kultur organ, kultur tunas, ataupun kultur jaringan (Dwiyani, 2015). Selanjutnya, eksplan akan ditanam dalam media dan dikontrol pencahayaan dan suhunya agar diarahkan sesuai untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Eksplan yang ditanam akan membentuk propagul berupa kalus, organ, ataupun embrio somatik. Kalus yang terbentuk akan ditambahkan ZPT dari golongan auksin dan sitokinin untuk mengarahkan pertumbuhan tanaman.

Terdapat tahapan-tahapan yang harus dikerjakan dalam kultur jaringan. Tahap pertama yaitu isolasi bahan tanam dari tanaman induk. Tanaman yang pilih harus tanaman yang sehat dan bebas dari hama penyakit. Tahap kedua adalah Pembuatan kultur awal yang aseptik. Tahap ini dilakukan untuk mendapatkan kultur aseptik dan bahan tanam yang siap untuk diperbanyak pada tahap selanjutnya. Tahap ketiga yaitu memperbanyak propagul yang dilakukan dengan melakukan subkultur ke media baru sehingga diperoleh tunas-tunas mikro dalam jumlah banyak. Tahap keempat adalah pemanjangan dan pengakaran tunas yang dilakukan dengan memindahkan tunas-tunas yang tumbuh ke media induksi akar agar membentuk planlet. Tahap kelima yaitu aklimatisasi planlet dan pemindahan tanaman ke lapang. Tahap ini dilakukan agar tanaman dalam kultur *in vitro* dapat melakukan adaptasi ke lingkungan *ex vitro* (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Kultur jaringan memungkinkan regenerasi tanaman secara efisien dan dalam jumlah besar. Terdapat beberapa jalur regenerasi dalam kultur jaringan yaitu *axillary branching*, organogenesis, dan embriogenesis somatik.

2.2.1 Axillary branching

Axillary branching atau perbanyak tunas aksilar adalah metode regenerasi tanaman melalui percabangan tunas aksilar. Tunas aksilar yang berada pada ketiak daun tanaman diinduksi secara *in vitro* untuk tumbuh dan berkembang menghasilkan tunas-tunas baru yang menciptakan efek multiplikasi. Pada prosesnya eksplan dipacu untuk menghasilkan propagul klon dalam jumlah besar (Maulida, 2016).

2.2.2 Organogenesis

Organogenesis merupakan proses pembentukan tunas adventif secara *in vitro* dari eksplan yang tidak memiliki mata tunas seperti potongan daun, potongan akar, dan potongan batang antarbuku. Jaringan tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* akan membentuk berbagai macam primordia dan dalam proses perkembangannya akan berujung pada diferensiasi. Proses diferensiasi yang struktur terbentuknya adalah organ disebut organogenesis, sedangkan bila struktur yang terbentuk adalah embrio maka prosesnya disebut embriogenesis (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

2.2.3 Embriogenesis Somatik

Embriogenesis somatik adalah suatu proses pembentukan embrio secara *de novo* (terbentuk baru) dari jaringan eksplan yang tidak bermeristem (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio dari sel vegetatif atau sel somatik tanpa adanya fertilisasi. Embrio merupakan struktur awal tanaman yang memiliki banyak sel dan sudah mempunyai bakal akar dan bakal tajuk (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Embrio yang terbentuk akan membelah sehingga mempunyai struktur bipolar (akar dan

tunas). Embriogenesis somatik terbagi menjadi dua, yaitu embriogenesis somatik secara langsung dan tidak langsung (Habibah *et al.*, 2021). Perbedaan antara embriogenesis somatik secara langsung maupun tidak langsung terdapat pada proses pembentukan kalus sebelum membentuk embrio. Embriogenesis somatik secara langsung yaitu pembentukan embrio secara langsung dari permukaan jaringan eksplan tanpa didahului pembentukan kalus, sedangkan embriogenesis somatik secara tidak langsung yaitu pembentukan embrio yang didahului dengan terbentuknya kalus pada permukaan eksplan (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Sel pada proses embriogenesis somatik akan membelah lalu mengalami diferensiasi membentuk embrio. Diferensiasi sel yaitu proses berubahnya sel-sel menjadi sekumpulan sel yang memiliki karakteristik baru (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Perbanyakkan embriogenesis somatik melalui beberapa tahapan yaitu induksi kalus primer, induksi kalus embriogenik, regenerasi atau pembentukan embrio, dan regenerasi tanaman dari embrio (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Embriogenesis somatik terbentuk dari sel-sel yang berkembang memasuki fase globular, fase hati, fase torpedo, dan kotiledon. Sel-sel yang berkembang pada fase globular akan berbentuk bulat, pada fase hati akan berbentuk hati, pada fase torpedo akan berbentuk torpedo, dan pada fase kotiledon akan muncul struktur berbentuk kotiledon (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Pada fase torpedo akan terdeteksi meristem ujung batang dan meristem ujung akar yang akan berkembang menjadi tunas dan akar (Dwiyani, 2015).

Embrio yang telah terbentuk selanjutnya akan mengalami maturasi. Kalus embriogenik mempunyai ciri-ciri yaitu mempunyai tekstur yang remah, noduler, dan warnanya putih atau kekuningan (Budaya *et al.*, 2022). Kelebihan kalus yang bersifat embriogenik adalah mengandung banyak sel yang bersifat meristematik sehingga akan meningkatkan efisiensi dalam proses transformasi. Selain itu, kalus yang embriogenik juga mempunyai kondisi genetik yang seragam sehingga akan mudah berproliferasi. Kalus yang embriogenik banyak dimanfaatkan untuk menghasilkan embrio sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai target transformasi (Budaya *et al.*, 2022).

2.3 Media Kultur dan Zat Pengatur Tumbuh

Perbanyak tanaman melalui teknik kultur jaringan pada umumnya menggunakan media dasar Murashige dan Skoog (MS). Secara umum, media kultur jaringan mengandung komponen seperti air, hara mineral makro (N, P, K, Ca, Mg, dan S), hara mineral mikro (Cu, Co, Mo, Fe, Mn, Zn, dan B), gula, vitamin, ZPT, dan pematat media (agar-agar). Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan senyawa non hara yang dalam konsentrasi rendah akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kegunaan ZPT yang ditambahkan dalam media kultur adalah untuk mendorong atau menghambat pertumbuhan serta menentukan arah perkembangan tanaman (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Terdapat dua golongan ZPT yang sering digunakan dalam media kultur yaitu sitokinin dan auksin. Sitokinin merupakan ZPT yang berfungsi merangsang pembelahan sel, pembentukan tunas, pembentukan klorofil, menghambat pembentukan akar, serta meningkatkan aktivitas *sink*. Beberapa jenis sitokinin yaitu benziladenin, thidiazuron, kinetin, dan sebagainya. Auksin merupakan ZPT yang berpengaruh terhadap fisiologis tanaman seperti menyebabkan pembesaran sel, pertumbuhan akar, absisi, penghambatan mata tunas lateral, dan aktivitas pada kambium (Khairuna, 2019). Picloram merupakan salah satu jenis auksin yang banyak digunakan karena dapat menginduksi kalus dengan lebih cepat dibandingkan jenis auksin lain (Rahman *et al*, 2025). Auksin 2,4-*Dichloropenoxyacetic Acid* (2,4-D) juga merupakan salah satu jenis auksin yang banyak digunakan untuk menginduksi kalus. Auksin ini efektif dalam merangsang pertumbuhan kalus akibat aktivitasnya yang kuat dalam memacu proses diferensiasi sel, organogenesis, serta dapat menjaga pertumbuhan kalus (Sitinjak *et al.*, 2015).

Picloram adalah peniru auksin atau auksin sintetis, memiliki cara kerja mengasamkan dan melonggarkan dinding sel dan memungkinkan pemanjangan

sel. Konsentrasi rendah picloram dapat merangsang sintesis DNA, RNA, dan protein yang menyebabkan pembelahan dan pertumbuhan. Picloram dapat berperan sebagai herbisida dalam konsentrasi tinggi menyebabkan kerusakan jaringan akibat pertumbuhan tanaman yang tidak terkendali kemudian menghambat pembelahan serta pertumbuhan sel (Tu *et al.*, 2001). Membran sel tumbuhan memiliki selektivitas yang baik dan memainkan peran penting dalam menjaga lingkungan mikro seluler dan metabolisme normal tumbuhan. Picloram dapat menyebabkan tekanan dan stress pada tumbuhan dalam dosis tinggi (Liu *et al.*, 2014). Tumbuhan yang mengalami stress, membran selnya akan rusak yang menyebabkan metabolisme sel terganggu, permeabilitas membran sel meningkat, kebocoran elektrolit, dan konduktivitasnya meningkat (Tang *et al.*, 2008).

Hormon auksin bekerja dengan cara mempengaruhi pemanjangan sel-sel tanaman dengan menginisiasi pemanjangan sel melalui pelenturan dinding sel. Auksin memacu protein tertentu yang berada dalam membran plasma sel untuk memompa ion H^+ ke dinding sel. Ion H^+ selanjutnya mengaktifkan enzim tertentu sehingga sel tumbuhan memanjang akibat air yang masuk secara osmosis (Putra, 2015). Jenis auksin 1-*Naphtaleneacetic acid* (NAA) dapat menginisiasi pembentukan akar karena dapat meningkatkan plastisitas dinding sel dalam dosis rendah (Putra, 2015). NAA dalam konsentrasi tinggi dapat bersifat toksik dan proses pembelahan sel akan terganggu. Auksin dapat merangsang produksi etilen dan bila berlebihan akan membuat daun gugur, menghambat pertumbuhan, dan tanaman akan mati (Witham, 2002). Selain itu, jumlah nitrogen yang melimpah dalam media kurang baik karena asam amino yang terbentuk dapat menghambat pertumbuhan akar (Putra, 2015).

Auksin 2,4-D memiliki mekanisme kerja yang sama dengan jenis auksin lainnya yaitu melepaskan ikatan hidrogen yang terdapat dalam dinding sel menyebabkan pelonggaran dinding sel (Damanik *et al.*, 2015). Mekanisme pelonggaran ini dipengaruhi oleh proses pengaktifan gen yang terlibat dalam sintesis protein yang diatur oleh gen operator, gen struktural, dan gen pengatur. Kombinasi

antara gen struktural dengan gen operator disebut operon. Gen pengatur memiliki peran membentuk protein pengatur yang disebut reseptor. Reseptor bekerja dalam menjaga operon dalam keadaan tertutup, dan keadaan ini menandakan operon tidak aktif. Saat auksin 2,4-D bergabung dengan operon yang tidak aktif, reseptor akan dinonaktifkan sehingga operon akan aktif. Operon yang aktif menandakan transkripsi mRNA dapat terjadi lalu akan mengarahkan transisi protein enzim ATP-ase. Pemberian auksin akan meningkatkan sintesis enzim ini menghasilkan H^+ yang akan dipompa keluar dan menyebabkan lingkungan menjadi asam. Pada kondisi asam, enzim-enzim yang dapat memotong ikatan dinding sel akan aktif dan menyebabkan pelonggaran dinding sel sehingga air dapat masuk dan tekanan turgor naik. Tekanan turgor yang naik menyebabkan sel mengembang sehingga jumlah sel akan bertambah (Taiz dan Zeiger, 1998).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus 2023 sampai Maret 2024. Lokasi penelitian yaitu di Laboratorium Lapangan Terpadu (LTPD) dan Laboratorium Ilmu Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *scalpel*, *blade*, gelas *beaker*, *magnetic stirrer*, *box container*, *show case*, *sprayer*, *petridish*, autoklaf *buddenberg*, autoklaf *tomy*, destilator, rak kultur, botol kultur steril, mikroskop binokuler, botol *schott*, komputer, timbangan digital, timbangan analitik, karet, plastik, pinset, gelas ukur, erlenmeyer, kereta dorong, keranjang, pH meter, ubin, *hot plate*, lap kain, mangkok mini, pipet tetes, plastik *wrapping*, tabung gas, kompor, panci, korek api, bak air, mikro pipet, lampu, *air conditioner*, spatula, kamera, bunsen, alat tulis (pena, pensil, buku, penggaris), dan derigen.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ZPT (Picloram, *Napthalene acetic acid* (NAA), dan *2,4-Dichloropenoxyacetic acid* (2,4-D), gelrite, CuSO₄, tisu, kapas, *aquades*, spirtus, detergen, agar-agar, air, *bayclin* (NaOCl), alkohol 70%, sabun cuci piring (*sunlight*), larutan *tweens*-20, sukrosa, KOH 1 N, HCl 1 N, dan air steril. Eksplan berupa daun muda yang berada pada 3 buku teratas dari ubi kayu klon SN. Media yang digunakan yaitu media dasar Murashige dan Skoog (MS).

3.3 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat terbagi menjadi sterilisasi botol dan sterilisasi alat diseksi. Sterilisasi botol dilakukan dengan dua tahap. Tahapan pertama adalah sterilisasi dengan memasukkan botol kotor ke dalam autoklaf selama 30 menit di suhu 121°C pada tekanan 1 atm. Botol yang masih terdapat media yang terkontaminasi, sisa media dikeluarkan dari botol lalu dicuci dengan larutan deterjen 200 g/l. Botol yang telah dicuci bersih dari sisa media kemudian direndam dalam larutan deterjen 200 g/l dengan ditambahkan cairan pemutih sebanyak 250 ml.

Botol yang telah direndam semalaman kemudian dicuci dengan cara menggosok bagian dalam dan luar botol dengan menggunakan deterjen. Setelah itu, dibilas dengan air mengalir hingga residu busanya hilang. Botol yang telah dibilas kemudian direndam dalam air panas selama 10-15 menit lalu ditiriskan dengan alas kertas dengan posisi mulut botol menghadap ke bawah. Selanjutnya botol ditutup dengan menggunakan plastik berukuran 12 x 12 cm, lalu leher botol diikat menggunakan karet. Sterilisasi tahap kedua yaitu dengan memasukkan botol yang sudah ditutup plastik ke dalam autoklaf selama 30 menit di suhu 121°C pada tekanan 1 atm. Setelah itu, botol dapat disimpan.

Sterilisasi alat diseksi dilakukan dengan cara membungkus alat-alat diseksi dengan menggunakan kertas lalu dilapisi plastik dan bagian ujung-ujungnya diikat dengan karet. Alat lainnya seperti gelas ukur dan Erlenmeyer dibungkus dengan plastik bagian lehernya dan diikat dengan karet, kapas dimasukkan ke dalam botol steril kemudian ditutup, dan botol *schott* ditutup tidak terlalu rapat. Alat-alat tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam autoklaf selama 30 menit di suhu 121°C pada tekanan 1 atm. Setelah itu, alat dikeluarkan dan diletakkan di ruang transfer.

3.4 Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan berupa eksplan daun muda ubi kayu yang sudah steril pada media *in vitro*. Tanaman sumber eksplan berasal dari stek ubi kayu klon SN yang ditanam dalam *polybag* di rumah kaca Laboratorium Lapangan Terpadu, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Pada saat umur tanaman 2-3 minggu setelah tanam, tunas yang tumbuh diambil pada bagian 3 buku teratas untuk sterilisasi. Tunas yang telah disterilisasi kemudian ditanam pada media pre-kondisi. Daun pucuk yang tumbuh dari tunas yang telah steril digunakan sebagai eksplan untuk ditanam pada media perlakuan.

3.5 Pembuatan Media

Media dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Murashige dan Skoog (MS) (1962) yang mempunyai kandungan garam-garam mineral. Media pre-kondisi yang digunakan yaitu media 1/2 MS untuk menumbuhkan tunas stek batang ubi kayu agar menghasilkan tunas steril. Media 1/2 MS dibuat dengan mengambil 1/2 kebutuhan stok makro pada komposisi media MS, yaitu dari kebutuhan 100 ml dari stok diambil 50 ml untuk 1/2 MS. Pembuatan larutan stok picloram dan 2,4-D 1000 ppm dilakukan dengan menimbang picloram dan 2,4-D sebanyak 0,1 gram lalu dilarutkan dengan larutan KOH 1 N sebanyak 2-3 ml dalam gelas beaker. Selanjutnya, tambahkan aquades sedikit demi sedikit lalu diaduk hingga warna menjadi jernih dan tidak ada endapan. Setelah itu, larutan ditara hingga mencapai volume akhir 100 ml.

Semua komponen media MS dan sukrosa 40 g/l selain agar-agar, dimasukkan ke dalam *beaker glass* berisi aquades $\pm$ 300 ml dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, ditara menggunakan gelas ukur dengan menambahkan aquades sampai batas 1000 ml. Larutan kemudian dihomogenkan kembali dan diatur pH hingga 5,8. Setelah itu, larutan media dimasak dengan menambahkan agar-agar dan diaduk agar tidak menggumpal sampai larutan

mendidih. Media dimasukan ke dalam botol kultur steril dengan setiap botol berisi ± 25 ml dan ditutup kembali menggunakan plastik.

Pembuatan media perlakuan untuk induksi kalus primer dilakukan dengan cara menambahkan NAA 6 mg/l, CuSO_4 4 μl , dan masing-masing konsentrasi picloram dan 2,4-D pada media MS untuk tiap perlakuan. Pembuatan media untuk induksi embrio somatik dan maturasi menggunakan konsentrasi yang lebih rendah dengan cara pada media MS ditambahkan NAA 0,5 mg/l, CuSO_4 4 μl , dan 2 mg/l picloram atau 2 mg/l 2,4-D untuk tiap perlakuan picloram atau 2,4-D. Komposisi media Murashige dan Skoog (MS) (1962) disajikan pada Tabel 1.

3.6 Sterilisasi Media

Media yang telah disiapkan sebelumnya, perlu sterilisasi untuk menghindari dari terjadinya kontaminasi. Sterilisasi media dilakukan dengan cara menuang media ke dalam masing-masing botol kultur. Setelah itu, diautoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Selanjutnya, media dikeluarkan dan didinginkan, selanjutnya disimpan dalam ruang kultur.

3.7 Sterilisasi Sumber Eksplan

Sterilisasi eksplan berupa tunas samping bertujuan untuk menghilangkan segala mikroorganisme jamur maupun bakteri yang dapat menyebabkan kontaminasi. Sterilisasi dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama adalah sterilisasi di luar *laminar air flow cabinet* (LAFC) yang dilakukan dengan pengambilan tunas samping ubi kayu yang diambil di rumah kaca, diambil tiga buku teratas, dipotong, dan dibuang daunnya. Tunas kemudian dibersihkan di bawah air mengalir sebanyak dua kali pencucian. Tunas lalu dipotong dengan panjang ± 5 cm dan dimasukan ke dalam *beaker glass* yang berisi larutan detergen sebanyak 5 g/l. Larutan yang berisi tunas dikocok sampai seluruh permukaan tunas terkena larutan detergen (15 menit). Selanjutnya, tunas dibilas dengan air sebanyak tiga kali dan dimasukan ke dalam botol steril.

Sterilisasi tahap kedua dilanjutkan dengan sterilisasi dalam LAFC. Tunas ubi kayu yang telah dimasukkan ke dalam botol kultur steril, dipindahkan ke dalam LAFC. Tunas ubi kayu diberi larutan *clorox* 20% (20 ml NaOCL + 80 ml air steril) + tween-20 sebanyak 0,1 ml /100 ml larutan lalu dikocok selama 15 menit. Selanjutnya, ekplan dibilas menggunakan air steril sebanyak tiga kali. Tunas yang telah dibilas, selanjutnya dikocok kembali selama satu menit dengan larutan alkohol 70% (70 ml alkohol + 30 ml air steril) lalu dibilas menggunakan air steril sebanyak 3 kali.

3.8 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan disusun secara tunggal (satu faktor) yaitu penambahan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin. Zat pengatur tumbuh auksin yang digunakan yaitu Picloram (8 mg/l, 12 mg/l, dan 15 mg/l), 2,4-*Dichlorophenoxyacetic acid* (8 mg/l, 12 mg/l, dan 15 mg/l). Terdapat 7 jenis perlakuan dengan setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali dan setiap ulangan terdiri dari 3 botol serta setiap botol diisi dengan 3 eksplan. Total eksplan yang digunakan adalah 252 dalam 28 satuan percobaan. Data yang diperoleh diuji homogenitasnya menggunakan uji Bartlett dan aditivitas diuji dengan uji tukey. Selanjutnya, data dianalisis dan diolah menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) pada taraf 5% dan dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

Tujuh kombinasi perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut:

- (1) MS + NAA 6 mg/l (kontrol)
- (2) MS + NAA 6 mg/l + Picloram 8 mg/l
- (3) MS + NAA 6 mg/l + Picloram 12 mg/l
- (4) MS + NAA 6 mg/l + Picloram 15 mg/l
- (5) MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 8 mg/l
- (6) MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 12 mg/l
- (7) MS + NAA 6 mg/l + 2,4-D 15 mg/l

Tabel 1. Komposisi Media Murashige dan 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	100
KNO ₃	1900	19000	
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	3700	
KH ₂ PO ₄	170	1700	
Stok CaCl ₂ (100x)			
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	44000	10
Stok Mikro a (100x)			
H ₃ BO ₃	6,2	620	10
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9	1690	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	860	
Stok Mikro b (1000x)			
KI	0,83	830	1
Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O	0,25	250	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	25	
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	25	
Stok Fe (100x)			
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	2780	10
Na ₂ EDTA	37,3	3730	
Stok Vitamin (100x)			
Tiamin-HCl	0,1	10	10
Piridixin-HCl	0,5	50	
Asam nikotinat	0,5	50	
Glisin	2	200	
Stok Mio-inositol (100x)			
Mio-inositol	100	1000	100

3.9 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu persiapan ekplan pada media pre-kondisi, induksi kalus primer, induksi embrio somatik dan maturasi, dan pengamatan.

3.9.1 Persiapan eksplan pada media pre-kondisi

Eksplan berupa tunas samping yang telah disterilisasi selanjutnya ditanam pada media pre-kondisi berupa media 1/2 MS. Eksplan dipotong sepanjang 1-2 cm lalu ditanam secara tegak lurus dengan bagian mata tunas menghadap ke atas. Satu botol media berisi 3 ekplan. Eksplan yang telah ditanam kemudian diinkubasi di dalam ruang kultur bersuhu $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan kondisi cahaya terang.

3.9.2 Induksi Kalus Primer

Tunas steril yang telah tumbuh pada media pre-kondisi diambil daun mudanya sebagai eksplan untuk induksi kalus primer. Eksplan daun dipotong berukuran $\pm 2 \times 5 \text{ mm}^2$ lalu ditanam pada media induksi kalus primer. Setiap botol kultur ditanami tiga eksplan daun dan diletakkan dengan posisi bagian bawah daun menyentuh media. Induksi kalus dilakukan diruang kultur pada kondisi gelap dengan suhu $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 3 minggu. Setelah itu, eksplan disubkultur pada media dengan komposisi yang sama dan diinkubasi kembali selama 3 minggu.

3.9.3 Induksi Embrio Somatik dan Maturasi

Setelah 6 minggu pada media induksi kalus primer, kalus yang bersifat embriogenik dipindahkan pada media induksi embrio somatik dan maturasi yaitu terdiri atas media dasar MS yang ditambahkan masing-masing jenis auksin dengan konsentrasi yang lebih rendah. Konsentrasi jenis auksin pada media ini yaitu Picloram 2 mg/l atau 2,4-D 2 mg/l. Kalus ditimbang lalu disubkultur dengan satu botol berisi 3 kalus. Kalus kemudian diinduksi kembali dalam ruang

kultur dalam kondisi gelap dengan suhu 25 ± 2 °C. Embrio yang terbentuk selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap fase-fase pertumbuhan embrio mulai dari fase globular, hati, torpedo, dan kotiledon.

3.9.4 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan dalam penelitian ini dibedakan menjadi dua yaitu pengamatan visual dan pengamatan kuantitatif. Pengamatan visual berupa visualisasi perkembangan kalus primer dan embrio somatik. Pengamatan kuantitatif berupa waktu muncul kalus primer, scoring pembentukan kalus per eksplan 2 dan 3 minggu setelah induksi (msi), bobot kalus primer 3 msi, persentase eksplan berkalus 3 msi, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio.

3.9.4.1 Pengamatan Visual

Pengamatan visual dilakukan dengan mengamati perkembangan eksplan, struktur kalus, warna kalus, dan visualisasi embrio somatik. Pengamatan visual berupa perkembangan eksplan, struktur kalus, dan warna kalus dilakukan setiap dua hari sekali selama 3 msi. Visualisasi embrio somatik dilakukan pada 8 msi untuk mengetahui warna dan fase-fase perkembangan embrio somatik tanaman ubi kayu mulai dari globular, hati, torpedo, dan kotiledon. Pengamatan ini dilakukan dengan menggunakan mikroskop stereo.

3.9.4.2 Waktu Muncul Kalus Primer

Pengamatan waktu muncul kalus primer dilakukan sejak eksplan ditanam dan dilakukan setiap dua hari sekali. Inisiasi pembentukan kalus primer dapat ditandai dengan bagian eksplan yang mengkerut, membesar, dan berwarna putih kekuningan.

3.9.4.3 Skoring Pembentukan Kalus Per Eksplan 2 dan 3 Minggu Setelah Induksi

Skoring dilakukan dengan cara mengamati pertumbuhan kalus per eksplan yang dilakukan setiap minggu. Pembentukan kalus pada eksplan dikelompokkan berdasarkan skor yang dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Skoring Pembentukan Kalus Primer Per Eksplan

Skor	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 2. Keragaan pembentukan kalus per eksplan berdasarkan nilai skor: (a) skor 0, (b) skor 1, (c) skor 2, (d) skor 3, (e) skor 4 (Agustin, 2022).

3.9.4.4 Bobot Segar Kalus Primer 3 Minggu Setelah Induksi (msi)

Bobot segar kalus ditimbang setelah eksplan 3 minggu diinduksi pada media induksi kalus primer. Kalus ditimbang secara steril di LAFC lalu disubkultur pada media yang sama selama 3 minggu.

3.9.4.5 Persentase Eksplan Berkalus 3 Minggu Setelah Induksi (msi)

Persentase eksplan berkalus diamati dengan menghitung jumlah eksplan yang berkalus saat 3 msi. Rumus perhitungan persentase eksplan berkalus adalah sebagai berikut:

$$\text{Persentase eksplan berkalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan berkalus}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100 \dots\dots\dots (a)$$

3.9.4.6 Persentase Kalus Berembrio

Persentase kalus berembrio dilakukan dengan menghitung jumlah kalus yang membentuk embrio pada 3 msi dari setiap perlakuan. Persentase kalus berembrio dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase kalus berembrio} = \frac{\text{Jumlah kalus berembrio}}{\text{Jumlah kalus embriogenik}} \times 100\% \dots\dots\dots (b)$$

3.9.4.7 Jumlah Embrio

Jumlah embrio dihitung setelah 3 minggu kalus dipindah ke media induksi embrio somatik. Perhitungan dilakukan dengan menghitung embrio yang tumbuh menggunakan mikroskop stereo. Embrio dipindahkan ke dalam cawan petri untuk diamati jumlah embrio dan fase-fase terbentuknya embrio somatik. Perhitungan jumlah embrio dilakukan untuk mengetahui berapa banyak embrio yang terbentuk dari kalus yang telah diinduksi pada media embrio somatik.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Picloram berpengaruh dalam pertumbuhan kalus primer dan embrio somatik ubi kayu klon SN. Waktu muncul kalus yang diinduksi dengan picloram yaitu berkisar antara 10-11 hari setelah induksi. Skoring pembentukan kalus pereksplan 3 msi pada picloram 12 mg/l sebesar 2,94 (25-50% kalus menutupi eksplan) dengan persentase eksplan berkalus $92 \pm 1,1\%$ dan menghasilkan embrio sebanyak 8 embrio dengan persentase kalus berembrio 17%;
- (2) Auksin 2,4-D berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus primer dan embrio somatik ubi kayu klon SN. Eksplan yang diinduksi pada 2,4-D 8 mg/l menginduksi kalus lebih awal yaitu pada 9,79 hari setelah induksi. Skoring pembentukan kalus pereksplan 3 msi pada 2,4-D 8 mg/l sebesar 2,87 (25-50% kalus menutupi eksplan), persentase eksplan berkalus sebesar $92 \pm 1,1\%$, persentase eksplan berembrio sebesar 44% dengan jumlah embrio per eksplan sebesar 8,75 embrio.

5.2 Saran

Jumlah embrio yang dihasilkan pada penelitian ini masih cukup rendah, oleh karena itu disarankan untuk menggunakan konsentrasi auksin 2,4-D yang lebih rendah dari 8 mg/l untuk induksi embrio maupun dikombinasikan dengan sitokinin.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Afiyah, N.N., Surya, M.I., Ismaini, L., Azizah, E., Saputro, N.W. 2022. Inisiasi kalus secara *in vitro* dari daun *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. *Buletin Kebun Raya*. 23(5): 121-130.
- Afza, Higa, dan Dwiatmini, K. 2021. Analisa kandungan pati 50 aksesori plasma nutfah ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) koleksi bank gen Balitbangtan. *Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian*. Bogor.
- Ariani, L. N., Estiasih, T., dan Martati, E. 2017. Physicochemical characteristic of cassava (*Manihot utilisima*) with different cyanide level. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 18(2): 119–128.
- Azizi, A. A. A., Rahman, N., Hartati, N. S., Koerniati, S., Hastilestari, B. R., Sukmadjaja, D., dan Witjaksono. 2023. Embryogenic callus induction of Indonesian Cassava (Menti and Adira 4) on different picloram concentrations. *Journal Earth and Environmental Science*. 1–5.
- Budaya, M. S., Mursyanti, E., dan Yuda, P. 2022. Transformasi genetik pada kalus embriogenik tanaman suku rubiaceae. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 7(2): 94–107.
- Caniago, M., Roslim, D. I., dan Herman. 2014. Deskripsi karakter morfologi ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) juray dari Kabupaten Rokan Hulu. *JOM FMIPA*. 1(2): 613–619.
- Damanik, I.R., Kumianjani, E., dan Siregar, L.A.M. 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.
- 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.

- Debitama, A.M.N.H., Mawarni, I.A., dan Hasanah, U. 2022. Pengaruh hormon auksin sebagai zat pengatur tumbuh pada beberapa jenis tumbuhan *monocotyledoneae* dan *dicotyledoneae*. *Biodidaktika: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*. 17(1): 120-130.
- Dwiyani, Rindang. 2015. *Kultur jaringan tanaman*. Pelawa Sari Percetakan dan Penerbit. Bali. 75 hlm.
- Habibah, N.A., Rahayu, E.S. dan Anggraito, Y.U. 2021. *Buku Ajar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Penerbit Deepublish. Yogyakarta. 99 hlm.
- Hapsoro, D., dan Yusnita. 2018. *Kultur Jaringan-Teori dan Praktik*. CV Andi Offset. Yogyakarta. 176 hlm.
- Hasanah, L. M., Puspito, A. N., Arimurti, S., dan Su'udi, M. 2021. Identifikasi win1 (wax inducer1) pada tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Biology and Applied Biology Volume*. 4(1): 95–103.
- Herlina, E., dan Nuraeni, F. 2014. Pengembangan produk pangan fungsional berbasis ubi kayu (*Manihot esculenta*) dalam menunjang ketahanan pangan. *Jurnal Sains Dasar*. 3(2): 142–148.
- 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.
- Hidayatun, Nurul. 2021. *Prosiding seminar nasional komisi nasional sumber daya genetik: peran bioteknologi dan sumber daya genetik dalam mendukung pertanian maju, mandiri, dan modern*. Penerbit Deepublish. Bogor. 813 hlm.
- Julianti, R.F., Y. Nurchayati, dan N. Setiari. 2021. Pengaruh konsentrasi sukrosa dalam medium MA terhadap kandungan flavonoid kalus tomat (*Solanum lycopersicum* syn *Lycopersicum esculentum*). *Jurnal Metamorfosa*. 8(1): 141-149.
- Koetle, M. J., Finnie, J. F., Balázs, E., dan Van Staden, J. 2015. A review on factors affecting the Agrobacterium-mediated genetic transformation in ornamental monocotyledonous geophytes. *South African Journal of Botany*. 98: 37–44.
- Liu, X., Qi, C., Wang, Z., Li, Y., Wang, Q., Guo, M., dan Cao, A. 2014. Effect of picloram herbicide on physiological responses of *Eupatorium adenophorum* Spreng. *Chilean J. Agric. Res*. 74(4): 438-444.

- Makmur, M. 2019. Pengaruh pemotongan pucuk apikal dengan pemberian pupuk fermentasi kompos limbah kakao terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman terong ungu (*Solanum melongena* l.). *Journal TABARO*. 3 (2): 386-393.
- Mardiana, A. R. W., Dewanti, P., dan Alfian, F. N. 2023. Pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin pada Induksi dan Regenerasi Tebu Melalui Metode Thin Cell Layer. *Jurnal Vegetalika*. 12(3): 356–371.
- Maulida, Desi. 2016. Regenerasi krisan (*Chrysanthemum morifolium*) CV.Puspita Nusantara *in vitro* melalui perbanyakan tunas aksilar, organogenesis, dan aklimatisasi plantlet. Tesis program pascasarjana magister agronomi. Universitas Lampung.
- Muttaqin, Salwa Zainum. 2023. *Anatomi tumbuhan (sel, jaringan, dan organ vegetatif pada tumbuhan)*. UKI Press. Jakarta Timur.
- Nasution, Jumaria. *Dasar-dasar fisiologi tumbuhan*. CV Hei Publishing Indonesia. Padang. 270 hlm.
- Ningtiyas, W. N., Dewanti, P., and Sugiharto, B. 2016. Preservation effect of peg (*polyethylene glycol*) on synthetic seed of sugarcane (*Saccharum officinarum* l.) Var. Nxi 1,3. *Annales Bogorienses*. 20(2): 63-68.
- Ningsih, M.S. 2024. *Dasar-dasar fisiologi tumbuhan*. CV Hei Publishing Indonesia. Padang. 270 hlm.
- Nintania, R., Setiawan, K., Yuliadi, E., dan Hadi, M.S. 2021. Evaluasi pertumbuhan dan kadar pati beberapa klon ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Tropical Upland Resources*. 3(1): 36–44.
- Novaldi, A. A., Miranda, C., dan Nurhayati, A. D. 2022. Teknik budi daya dan karakteristik ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) di Desa Leuwisadeng , Kecamatan Leuwisadeng , Kabupaten Bogor , Jawa Barat. *Jurnal Pusat Inovasi Masyarakat*. 4(1): 8–16.
- Nurdjanah, S., Susilawati, S., Hasanudin, U., dan Anitasari, A. 2020. Karakteristik morfologi dan kimiawi beberapa varietas ubi kayu manis asal Kecamatan Palas, Kabupaten Lampung Selatan berdasarkan umur panen yang berbeda. *Jurnal Agroteknologi*. 14(2): 126–136.
- Oktafiana, N., S. Ummayah, W.N. Ningtiyas, dan B. Sugiharto. 2022. Regenerasi kalus embriogenik Sorgum (*Sorghum bicolor*) menggunakan kombinasi ZPT dan mikronutrien. *Agriprima*. 6(1): 54-61.
- Putra, R.R., dan Shofi, M. Pengaruh hormon naphthalen acetic acid terhadap inisiasi akar tanaman kangkung air (*Ipomoea aquatica* Forssk.). *Jurnal Wiyata*. 2(2): 108-113.

- Rahman, N., Azizi, A.A.A., Hartati, N.S., Saribanon, N. 2025. Induksi dan regenerasi embrio somatik empat jenis ubi kayu menggunakan beberapa konsentrasi pikloram. *Vegetalika*. 14(1): 46-59.
- Ramdhini, N.R. 2021. *Anatomi Tumbuhan*. Yayasan Kita Menulis. Medan. 190 hlm.
- Restiani, R., Roslim, D.I., dan Herman. 2014. Karakter morfologi ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) hijau dari Kabupaten Pelalawan. *JOM FMIPA*. 1(2): 619-623.
- Robles. M., Rosa, B., dan Gueroud, F. 2016. Establishment of callus and cell suspensions of wild and domesticated opuntia species: study on their potencial as a source of metabolite production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 124(1): 181 – 189.
- Rokhmah, Fatkhiyatul. 2020. Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh air kelapa muda terhadap pertumbuhan beberapa varietas jahe (*Zingiber officinale rosc.*). *Jurnal Ilmiah Pertanian*. 15(2): 65-70.
- Saida, Maidiah D. 2023. *Analisis kinerja perdagangan ubi kayu*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian. Jakarta. 65 hlm.
- Setiawati, T., Astuti, A.L., Nurzaman, M., dan Ratningsih, N. 2021. Analisis pertumbuhan dan kandungan total flavonoid kultur kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) dengan Pemberian Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Air Kelapa. *J. Pro-Life*. 8(1): 32-44.
- Silalahi, K. J. A., Utomo, S. D., Edy, A., dan Sa'diyah, N. 2019. Evaluasi karakter morfologi dan agronomi ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) 13 populasi F1 di Bandar Lampung. *Jurnal Agrotek Tropika*. 7(1): 281–289.
- 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.
- Sualang, H. K. C., Lengkong, E. F., dan Tumewu, P. 2023. Induction of direct somatic embriogenesis of chrysanthemum in MS and NAA media combined with some cytokinin concentrations. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*. 4(1): 182–190.
- Sutoro, Somantri, I.H., Silitonga, T.S. 2010. *Katalog data paspor plasma nutfah tanaman pangan*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. 282 hlm.
- Syombua, E., Wanyonyi, C., Adero, M., Mbinda, W. 2019. Explant type and hormone regime influences somatic embryogenesis and regeneration in cassava. *African Journal of Biotechnology*. 18(25): 532–539.

- Taiz, L., dan Zeiger, E., 1998. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Publishers. Massachusetts. 782 hlm.
- Tang, X.M., Gong, C.F., dan Zhou, Z.G. 2008. Effect of cadmium on root morphology and partial physiological indexes of *Solanum nigrum* L. *Ecology and Environment*. 17:1462-1465.
- Tarigan, S. D. S., Astarin, I. A., dan Astiti, N. P. A. 2023. Inisiasi kalus bangle (*Zingiber purpureum* Roscoe) pada beberapa kombinasi 2.4-D dan Kinetin. *Jurnal Hort. Indonesia*. 14(2): 93–99.
- Tu, Mandy, Hurd, Callie, and Randall, J.M. 2001. *Weed control methods handbook: tools and techniques for use in natural areas*. The Nature Conservancy. 219 hlm.
- Wardani, D. K. 2020. Induksi kalus tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) dengan pemberian konsentrasi auksin jenis 2,4-D (*dichlorophenoxyacetic acid*) dan picloram. *Jurnal Indonesia Sosial Sains*. 1(5): 397–401.
- Witham F. H. dan Devlin, R. M. 2002. *Plant physiology Fourth edition*. Publisher and Distributor. New Delhi. 577 hlm.
- Wulandari, M. A., Silva, S., Nuron Rizky, Z., Sarianti, J. 2022. Pengaruh 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) dan Benzyl Amino Purine (BAP) terhadap induksi kalus dari berbagai jenis eksplan tanaman duku (*Lansium domesticum* Corr.). *STIGMA: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*. 15(01): 38–45.
- Yelli, F., Titin, A., Utomo, S.D., dan Pathak, A. 2023. Somatic embryogenesis in two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 5(1): 1–13.
- Yelli, F., Utomo, S.D., dan Ardian. 2022. Pengaruh BA dan NAA terhadap multiplikasi tunas ubi kayu secara in vitro. *Jurnal AGRO*. 9(2): 193–207.
- Yolanda, A.A., Badal B., dan Meriati. 2021. Pengaruh pemangkasan pucuk terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman cabai merah (*Capsicum annum* L). *Unes journal mahasiswa pertanian*. 5(2): 33-41.
- Yuniardi, F. 2019. Aplikasi dimmer switch pada rak kultur sebagai pengatur kebutuhan intensitas cahaya optimum bagi tanaman in vitro. *Indonesian Journal of Laboratory*. 2(1): 8–13.