

**PENGUNAAN DUA JENIS EKSPAN DAN BEBERAPA MEDIA
INDUKSI PADA EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS VAMAS-1**

Skripsi

Oleh

**Dini Nur Safitri
2114121009**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

PENGUNAAN DUA JENIS EKSPLAN DAN BEBERAPA MEDIA INDUKSI PADA EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS VAMAS-1

Oleh

DINI NUR SAFITRI

Embriogenesis somatik merupakan salah satu teknik regenerasi *in vitro* untuk memperbanyak tanaman. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh jenis eksplan, media induksi kalus, serta interaksi keduanya terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik pada Ubi Kayu Varietas Vamas-1. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 2 x 5 dengan 10 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak 4 kali, sehingga jumlah satuan percobaan adalah 40. Faktor pertama adalah jenis eksplan, yaitu daun pucuk (E1) dan *internode* (E2). Faktor kedua adalah jenis media induksi, meliputi MS + NAA 6 mg/L (M0), MS + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L (M1), MS + picloram 8 mg/L + NAA 0 mg/L (M2), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L (M3), dan MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L (M4). Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu muncul kalus tercepat diperoleh pada eksplan *internode* dengan media M0 yaitu $8,17 \pm 0,14$ hari setelah induksi. Penggunaan eksplan daun pucuk dengan media M2 menghasilkan bobot kalus tertinggi yaitu $0,17 \pm 0,02$ g. Persentase kalus tertinggi (50%) dan rata-rata jumlah embrio $16,61 \pm 7,76$ diperoleh dari eksplan daun pucuk dengan media M1. Seluruh perlakuan menghasilkan persentase eksplan berkalus sebesar 100%. Secara keseluruhan, interaksi eksplan daun pucuk dan media M1 menghasilkan embrio somatik yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya.

Kata Kunci: Eksplan, Embrio Somatik, Media Induksi, Ubi Kayu, dan Vamas-1.

ABSTRACT

THE USE OF TWO TYPE OF EXPLANTS AND SEVERAL INDUCTION MEDIA IN SOMATIC EMBRYOGENESIS OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) VARIETY VAMAS-1

By

DINI NUR SAFITRI

Somatic embryogenesis is one of the in vitro regeneration techniques used for plant propagation. This study aimed to analyze the effects of explant type, callus induction medium, and their interaction on primary callus formation and somatic embryo development in Cassava Variety Vamas-1. This study uses a Completely Randomized Design (CRD) factorial 2 x 5 with 10 treatment combinations, each repeated 4 times, resulting in a total of 40 experimental units. The first factor was the type of explant, consisting of shoot leaves (E1) and internodes (E2). The second factor was the type of induction medium, including MS + 6 mg/L NAA (M0), MS + 8 mg/L picloram + 6 mg/L NAA (M1), MS + 8 mg/L picloram + 0 mg/L NAA (M2), MS + 8 mg/L 2,4-D + 6 mg/L NAA (M3), and MS + 8 mg/L 2,4-D + 0 mg/L NAA (M4). The results showed that the fastest callus emergence occurred on internode explants with medium M0 at 8.17 ± 0.14 days after induction. The use of shoot leaf explants with medium M2 produced the highest callus weight of 0.17 ± 0.02 g. The highest callus percentage (50%) and the average number of embryos (16.61 ± 7.76) were obtained from shoot leaf explants cultured on medium M1. All treatments resulted in 100% callus formation in explants. Overall, the interaction between shoot leaf explants and medium M1 produced better somatic embryos compared to other treatments.

Keywords: Explant, Somatic Embryo, Induction Media, Cassava, and Vamas-1.

**PENGUNAAN DUA JENIS EKSPLAN DAN BEBERAPA MEDIA
INDUKSI PADA EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS VAMAS-1**

Oleh

DINI NUR SAFITRI

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : **PENGUNAAN DUA JENIS EKSPLAN DAN
BEBERAPA MEDIA INDUKSI PADA
EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS
VAMAS-1**

Nama Mahasiswa : **Dini Nur Safitri**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2114121009

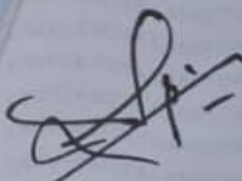
Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

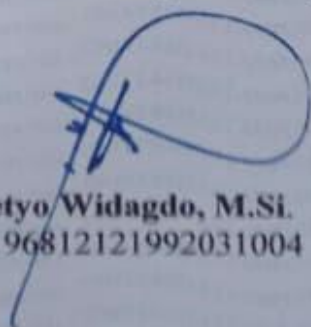


1. Komisi Pembimbing,


Fitri Yelli, S.P., M.S., Ph.D.
NIP 197905151008122005


Dr. Ir. Sudi Pramono, M.S.
NIP 196012121986031009

2. Ketua Jurusan Agroteknologi,


Ir. Setyo Widagdo, M.Si.
NIP 196812121992031004

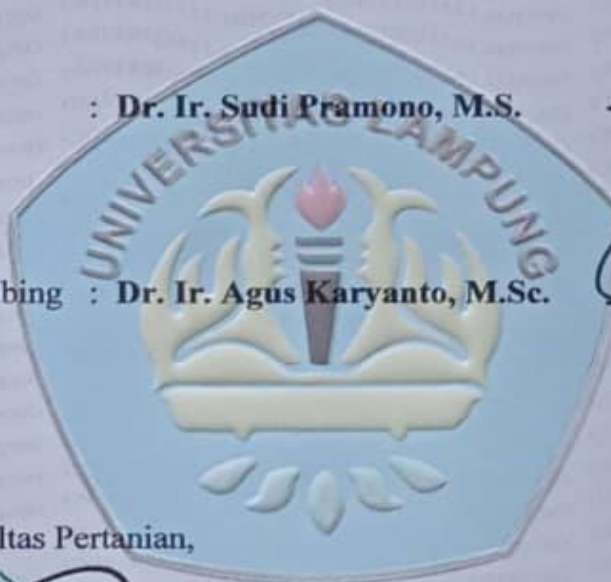
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji,

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

Sekretaris : Dr. Ir. Sudi Pramono, M.S.

Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Pertanian,



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

NPE 196411181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 17 Juni 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi saya berjudul "Penggunaan Dua Jenis Eksplan dan Beberapa Media Induksi pada Embriogenesis Somatik Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Varietas Vamas-1" merupakan hasil karya 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 terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 17 Juni 2025
Penulis,



Dini Nur Safitri
NPM 2114121009

RIWAYAT HIDUP

Penulis memiliki nama lengkap Dini Nur Safitri yang dilahirkan di Desa Sukadana Baru, Kecamatan Margatiga, Kabupaten Lampung Timur pada 19 November 2002. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Bandiono dan Ibu Siti Solikiyah. Penulis merupakan seorang kakak dari adik laki-laki bernama Fandi Nur Habibi. Penulis menyelesaikan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 3 Sukadana Baru pada 2015; Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Marga Tiga pada 2018; Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Sekampung pada 2021. Kemudian, penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang strata 1 di Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada 2021 melalui jalur SNMPTN.

Penulis ikut aktif dalam salah satu unit kegiatan mahasiswa Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma-AGT). Penulis menjadi Sekretaris Bidang Pengabdian Masyarakat pada masa periode 2023. Penulis melaksanakan kegiatan Praktik Pengenalan Pertanian di Desa Sukadana Baru, Kecamatan Margatiga, Kabupaten Lampung Timur, dan melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada Januari – Februari 2024 di Desa Bandar Agung, Kecamatan Banjit, Kabupaten Way Kanan. Penulis juga melaksanakan kegiatan Praktik Umum (PU) di Balai Perakitan dan Pengujian Tanaman Rempah, Obat, dan Aromatik di Menteng, Kecamatan Bogor Barat, Kota Bogor, Jawa Barat.

PERSEMBAHAN

**Karya sederhana ini kupersembahkan untuk kedua orang tercinta Bapak
Bandiono dan Ibu Siti Solikiyah serta Adik tersayang Fandi Nur Habibi
sebagai tanda hormat dan baktiku dalam menuntut ilmu
Terima kasih atas segala dukungan dan do'anya**

Alamamater Tercinta Universitas Lampung

“Jangan engkau bersedih, sesungguhnya Allah bersama kita”
(At -Taubah : 40)

“Dan aku tidak pernah kecewa dalam berdoa kepada-Mu wahai Tuhanku”
(Maryam : 4)

“Bahkan jika kamu tidak percaya diri, kamu tetap orang yang berharga”
(Haechan Lee)

*“But i don't blame it on anyone or any environment it's just i think it was
just in me. But now i'm just accepting how imperfect life and
how imperfect i'm and trying to just find think that can help me.
Because as closest to that perfection as i think of”*
(Mark Lee)

“Sabar seperti Ibu, kuat seperti Ayah”
(Dini Nur Safitri)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala nikmat, rahmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Penggunaan Dua Jenis Eksplan dan Beberapa Media Induksi pada Embriogenesis Somatik Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Varietas Vamas-1.”** Pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari adanya bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- (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 Utama yang telah meluangkan waktu dalam membimbing, memberikan ide, saran, arahan, nasihat, dan motivasi kepada penulis selama penelitian hingga penulisan skripsi selesai;
- (4) Dr. Ir. Sudi Purnomo, M.S., selaku Pembimbing Kedua dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, saran, nasihat, arahan dan motivasi kepada penulis selama masa akademik, penelitian, dan penulisan skripsi selesai;
- (5) Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc., selaku Penguji yang telah memberikan saran, nasihat, dan arahan kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi selesai;
- (6) Keluarga tercinta: Bapak Bandiono, Ibu Siti Solikiyah, dan Adik penulis Fandi Nur Habibi yang selalu memberikan cinta, kasih sayang, dukungan, dan motivasi dalam bentuk verbal, nonverbal, dan materi kepada penulis.

Terimakasih untuk semua uang yang dikeluarkan untuk pendidikan penulis, baju yang nyaman, makanan yang sesuai selera, tempat tinggal yang nyaman, dan banyak kebahagiaan yang telah diusahakan yang tidak bisa disebutkan penulis;

- (7) Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan: Ibu Hayane Adeline Warganegara, S.P., M.Si., Galuh, April, Sela, Lia, Jia, Nisa, Seri, Lutfi, Bang Wahyu, Bang Sakti, Mba Annilen, Mba Indah, dan Mba Sabrina;
- (8) Sahabat Penelitian: Erina Nurhidayah dan Winda Apriyanti yang telah memberikan semangat, motivasi, dan dukungan selama penelitian dan penulisan skripsi;
- (9) Teman terdekat penulis: Marfuah Aria Wardani, Erina Nurhidayah, Wahyuni Setiyaningsih, Setya Ningrum, Shinta Puspita Sari, Depi Apriliani, Desi Safitri, dan Puji Rahayu yang telah memberikan semangat, motivasi, dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi;
- (10) Teman-teman Jurusan Agroteknologi 2021 yang telah memberikan dukungan dan motivasi dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi;
- (11) Grup musik NCT, terutama Haechan Lee yang selalu memberikan semangat dan motivasi melalui musik kepada penulis selama menyelesaikan skripsi;
- (12) Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan dan motivasi, semoga Allah SWT memberikan balasan terbaik atas bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca.

Bandar Lampung, 17 Juni 2025
Penulis,

Dini Nur Safitri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Kerangka Pemikiran.....	6
1.6 Hipotesis	8
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Tanaman Ubi Kayu	10
2.2 Perbanyak Ubi Kayu	11
2.3 Kultur Jaringan.....	12
2.4 Embriogenesis Somatik	13
2.5 Jenis Eksplan (Bahan Tanam).....	15
2.6 Media Kultur	16
2.7 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).....	17
III. BAHAN DAN METODE	20
3.1 Waktu dan Tempat	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.3 Metode Penelitian.....	21
3.4 Pelaksanaan Penelitian	21
3.4.1 Penyiapan Bahan Tanam.....	22
3.4.2 Sterilisasi Alat.....	22

3.4.3 Persiapan Media.....	23
3.4.4 Penanaman Eksplan	25
3.5 Variabel Pengamatan	27
3.5.1 Pengamatan Kualitatif.....	27
3.5.2 Pengamatan Kuantitatif.....	28
3.6 Analisis Data	29
IV. HASIL DAN PENELITIAN	31
4.1 Hasil Penelitian	31
4.1.1 Perkembangan Umum Kalus	31
4.1.2 Rekapitulasi Analisis Ragam	34
4.1.3 Waktu Muncul Kalus Primer	35
4.1.4 Bobot Kalus Primer.....	36
4.1.5 Persentase Eksplan Berkalus.....	37
4.1.6 Persentase Kalus Berembrio	38
4.1.7 Jumlah Embrio	38
4.2 Pembahasan.....	39
V. SIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Simpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komponen Media Murashige dan Skoog.....	24
2. Rekapitulasi Analisis Ragam Pengaruh Jenis Eksplan, Media, dan Interaksi	35
3. Pengaruh Jenis Eksplan dan Media terhadap Waktu Muncul Kalus Primer	36
4. Pengaruh Jenis Eksplan dan Media terhadap Bobot Kalus Primer 3 msi	37
5. Pengaruh Jenis Eksplan dan Media terhadap Persentase Eksplan Berkalus.....	38
6. Pengaruh Jenis Eksplan dan Media terhadap Persentase Kalus Berembrio	39
7. Pengaruh Jenis Eksplan dan Media terhadap Jumlah Embrio	39
8. Pengaruh Jenis Eksplan dan Jenis Media terhadap Waktu Muncul Kalus Primer	58
9. Analisis Ragam Pengaruh Jenis Eksplan dan Jenis Media terhadap Waktu Muncul Primer	58
10. Uji Homogenitas Pengaruh Jenis Eksplan dan Jenis Media terhadap Waktu Muncul Primer	59
11. Pengaruh Jenis Eksplan dan Jenis Media terhadap Bobot Kalus Primer	60
12. Analisis Ragam Pengaruh Jenis Eksplan dan Jenis Media terhadap Bobot Kalus Primer	60
13. Uji Homogenitas Pengaruh Jenis Eksplan dan Jenis Media terhadap Bobot Kalus Primer	61
14. Data Perhitungan Persentase Eksplan Berkalus.....	62
15. Data Perhitungan Persentase Kalus Berembrio	62
16. Data Perhitungan Jumlah Embrio	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan kerangka pemikiran.....	9
2. Perkembangan fase embrio (Purnamaningsih, 2002)	14
3. Fase embrio (Greer, 2008)	29
4. Perkembangan kalus primer 3 minggu setelah induksi (msi): (a) kalus primer yang membentuk akar, (b) kalus embriogenik, dan (c) kalus <i>non-embriogenik</i>	32
5. Perkembangan kalus eksplan <i>internode</i> pada media induksi kalus primer: (a) eksplan <i>internode</i> 0 msi, (b) kalus primer <i>internode</i> 3 msi, dan (c) kalus primer <i>internode</i> 6 msi	33
6. Perkembangan fase embrio somatik primer eksplan daun pucuk: (a) fase globular, (b) fase hati, (c) fase torpedo, dan (d) fase kotiledon.....	33
7. Visualisasi perkembangan embrio somatik ubi kayu eksplan daun pucuk: (a) eksplan daun pucuk 0 msi, (b) kalus daun pucuk 2 msi, (c) kalus daun pucuk 3 msi, (d) kalus embriogenik (e) <i>green cotyledon</i> , dan (f) tunas	34

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman pokok selain padi dan jagung. Tanaman ini dapat tumbuh hampir di seluruh Indonesia (Nurdjanah *et al.*, 2020). Manfaat ubi kayu selain sebagai salah satu tanaman pokok yaitu sebagai bahan pangan, pakan ternak, serat, bioetanol, obat-obatan, dan lain-lain (Hapijah *et al.*, 2020). Manfaat ubi kayu tersebut tidak terlepas dari beberapa kandungan gizi yang terdapat di dalamnya. Menurut Hasan dan Taufiq (2022), ubi kayu mengandung sekitar 161 kalori, 60% air, 25% hingga 35% pati, protein, kalsium, fosfat, mineral, dan serat. Kandungan yang melimpah tersebut dari ubi kayu digunakan sebagai bahan pangan, bahan baku industri, dan bahan ternak.

Indonesia menempati peringkat keempat sebagai produsen ubi kayu terbesar di dunia setelah Nigeria, Thailand, dan Brazil. Beberapa daerah utama penghasil ubi kayu di Indonesia meliputi Jawa Tengah, Jawa Timur, Bangka Belitung, Jawa Barat, dan Lampung. Berdasarkan data Kementerian Pertanian (2023), pada 2023 produksi ubi kayu di Indonesia mencapai 16,7 juta ton dengan luas lahan 618,27 ribu hektar. Produksi ini mengalami peningkatan dibandingkan dengan 2022 di mana produksi ubi kayu sebesar 14,95 juta ton dengan luas lahan 549,25 ribu hektar. Lampung menjadi produsen ubi kayu terbesar di Indonesia pada 2018. Pada 2022, produksi ubi kayu di Lampung mencapai 5,95 jt/th atau 39,74% dari total produksi ubi kayu Indonesia.

Permasalahan utama dalam budidaya ubi kayu di Indonesia adalah keterbatasan ketersediaan klon ubi kayu unggul secara merata, sehingga petani cenderung menanam berbagai jenis klon ubi kayu dalam satu area lahan. Meskipun telah dirilis klon unggul ubi kayu, penyediaan bibit masih sangat terbatas dan harus menunggu panen hingga 10 bulan untuk memenuhi kebutuhan petani. Sementara itu, petani membutuhkan lebih dari 10.000 bibit ubi kayu dalam 1 tahun. Bibit ubi kayu yang diperoleh melalui perbanyakan konvensional dinilai kurang efektif karena prosesnya memerlukan waktu yang relatif lama. Selain itu, bibit tersebut rentan terhadap serangan penyakit yang mungkin dibawa oleh tanaman induknya.

Salah satu solusi untuk mengatasi masalah ini adalah melalui penerapan bioteknologi (kultur jaringan). Metode ini dinilai lebih efektif dalam mempercepat ketersediaan bibit ubi kayu berkualitas unggul. Kultur jaringan merupakan perbanyakan dengan cara menumbuhkan bagian organ tanaman dalam wadah (botol) di lingkungan yang aseptik. Kultur jaringan juga dapat diartikan sebagai kultur *in vitro* bagian tanaman dalam keadaan lingkungan yang aseptik dan terkendali (Yuniardi, 2020). Penerapan bioteknologi seperti kultur jaringan telah digunakan dalam perbanyakan berbagai komoditas tanaman, seperti pisang, anggrek, nanas, dan ubi kayu. Melalui kultur jaringan diharapkan dapat diperoleh bibit ubi kayu dalam jumlah melimpah dan waktu yang singkat.

Teknik perbanyakan tanaman dengan metode kultur jaringan dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu organogenesis, embriogenesis somatik, dan *axillary branching*. Organogenesis merupakan proses pembentukan tanaman baru yang berasal dari organ atau jaringan tanaman tanpa melalui tahapan pembentukan embrio somatik. Proses ini dapat membentuk tunas adventif baik secara langsung maupun tidak langsung (Gunawan, 1992). Embriogenesis somatik yaitu proses pembelahan sel somatik yang membentuk embrio dan berkembang menjadi tanaman baru. Menurut Yusnita (2015), *axillary branching* adalah regenerasi melalui percabangan tunas aksilar yang dilakukan dengan mengkulturkan eksplan meristem pucuk atau batang berbuku pada media yang mengandung sitokinin.

Metode yang sering digunakan dalam kultur jaringan ubi kayu yaitu embriogenesis somatik. Menurut Hapsoro dan Yusnita (2020), embriogenesis somatik pada tanaman merupakan proses pembentukan embrio yang berasal dari sel-sel somatik, bukan dari sel gamet atau sel kelamin. Perkembangan kalus dari proses embriogenesis somatik terdiri dari empat tahap, yaitu fase globular, fase hati, fase torpedo, dan fase hardening atau aklimatisasi. Pada tahap fase globular, hati dan torpedo tanaman masih dalam bentuk kalus. Sementara itu, pada fase hardening kalus telah berkembang menjadi planlet yang siap untuk proses aklimatisasi. Mastuti (2017) menyatakan bahwa keunggulan dari teknologi embriogenesis somatik yaitu mampu menghasilkan bibit dalam jumlah banyak, singkat, dan memiliki sifat yang seragam atau sama dengan induknya.

Pengembangan varietas unggul terus dilakukan dalam usaha untuk meningkatkan produksi ubi kayu di Indonesia. Pada 2020 salah satu varietas ubi kayu unggul yaitu Vamas-1 telah diretas oleh Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Vamas-1 merupakan varietas yang diperoleh dari hasil penyerbukan terbuka pada 2008 dengan induk betina CMR44-29-12. Proses seleksi dilakukan secara bertahap mulai dari seleksi tanam tunggal, seleksi baris tunggal, uji awal, hingga uji multi lokasi. Hasil dari proses tersebut terpilih varietas dengan kode OMR 51-20-5 yang dikenal sebagai Vamas-1. Varietas Vamas-1 terpilih karena memiliki potensi hasil umbi mentah dan kandungan pati lebih tinggi dibandingkan dengan kultivar yang ada yaitu UJ-5 (salah satu kultivar unggul ubi kayu) (Sholihin, 2022). Vamas-1 memiliki kandungan hasil pati 10,06 t/ha, kadar pati 22,14% (bb), 83,65% (bk) dan hasil umbi segar berkisar antara 23,85-43,61 t/ha dengan rata-rata 32,42 t/ha (Balitkabi, 2022). Rasa umbi dari varietas Vamas-1 tidak pahit dan dapat dipanen mulai dari umur 7 bulan (genjah).

Eksplan dikenal sebagai bahan tanam yang diisolasi untuk memulai kegiatan kultur *in vitro*. Teknologi kultur jaringan seperti embriogenesis somatik menggunakan eksplan yang dapat dipilih seperti batang, daun pucuk, akar, *immature leaf lobes*, petiol, dan ruas batang (*internode*). Pemilihan eksplan dapat menentukan tingkat keberhasilan dalam kultur *in vitro*. Daun pucuk ubi kayu

merupakan salah satu eksplan sel somatik yang sering digunakan. Sel somatik pada daun muda atau daun pucuk lebih aktif membelah dibandingkan dengan daun tua. Nugroho (2017) dalam penelitiannya menggunakan eksplan tunas pucuk, daun muda, dan petiol ubi kayu genotipe UJ5. Selain pada tunas pucuk, menggunakan ruas batang (*internode*) sebagai eksplan juga sering dilakukan dalam kultur jaringan. Penelitian yang dilakukan oleh Syombua *et al.* (2019) menggunakan *internode* dan *leaf lobes* ubi kayu sebagai eksplan.

Kegiatan menanam pada media kultur tidak terlepas dari zat pengatur tumbuh atau ZPT. ZPT memiliki peran yang penting karena merupakan senyawa yang dapat memacu, mengubah, dan menghambat proses fisiologi tanaman (Utami *et al.*, 2018). Jenis zat pengatur tumbuhan yang diketahui seperti auksin, giberelin, sitokinin, dan asam absisat. Salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu auksin. Jenis auksin yang digunakan diantaranya adalah picloram, 2,4-D (2,4- *Dichloropenoxyacetic acid*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), IBA (*Indole Butryc Acid*), dan IAA (*Indole Acetic Acid*).

Picloram dan 2,4-D (2,4- *Dichloropenoxyacetic acid*) merupakan auksin yang sering digunakan dalam sistem embriogenesis somatik ubi kayu. Menurut Lentz *et al.* (2018), konsentrasi 12 mg/L merupakan standar pemberian picloram pada media kultur ubi kayu. Pemberian picloram 12 mg/L ternyata mampu menginduksi terbentuknya kalus pada ubi kayu afrika (Hankoua *et al.*, 2006). Nugroho (2017) menyatakan bahwa pemberian 8 mg/L 2,4-D pada media dapat menginduksi terbentuknya kalus yang tinggi dari eksplan daun Ubi Kayu Varietas UJ-5, sementara pemberian 10 mg/L 2,4-D kurang efektif dalam menginduksi terbentuknya kalus dari eksplan daun Varietas UJ-5. Berdasarkan penelitian Saepudin *et al.* (2016), kedelai genotipe Tanggamus berhasil membentuk kecambah dan planlet pada media induksi MS + 10 mg/L 2,4-D + 10 mg/L NAA.

NAA merupakan salah satu auksin yang tidak hanya sering digunakan dalam embriogenesis somatik, tetapi juga dalam metode kultur jaringan lainnya. Menurut Panjaitan (2005) dalam penelitiannya mengenai anggrek, NAA termasuk dalam golongan auksin yang berfungsi untuk merangsang pembesaran dan diferensiasi akar. Peningkatan konsentrasi NAA dapat mendorong pertumbuhan akar pada planlet tanaman anggrek. Pemberian NAA 3 mg/L + BAP 3 mg/L memberikan pengaruh terhadap pertambahan tinggi planlet anggrek sebesar 4,41 cm. Sementara, pemberian NAA 3 mg/L memberikan pengaruh terhadap panjang akar anggrek 5,76 cm (Hartanti *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Sualang *et al.* (2023), konsentrasi NAA 2 mg/L menghasilkan jumlah akar paling banyak pada eksplan krisan.

Penambahan NAA dilakukan untuk membantu merangsang pembentukan tunas dan perakaran. Media MS yang ditambah dengan 10 mg/L picloram + 6 mg/L NAA + 4% sukrosa + 4 μ M CuSO₄ dapat membentuk kalus setelah 2 minggu di inkubasi untuk Ubi Kayu Varietas Iding (Priadi dan Sudarmonowati, 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yelli *et al.* (2023), konsentrasi 7,5 mg/L, 10 mg/L picloram, dan NAA 6 mg/L menghasilkan nilai kalus tertinggi yaitu $96,30 \pm 3,70\%$ dan $88,89 \pm 6,42\%$ untuk Ubi Kayu Varietas UJ-3 dan BW-1. Penelitian ini akan menggunakan Media MS yang ditambahkan beberapa jenis media induksi untuk mengetahui peran media dalam pembentukan kalus pada Ubi Kayu Varietas Vamas-1. Hasil dari penelitian ini diharapkan untuk dapat mengetahui media induksi yang tepat dalam mendukung pembentukan kalus pada Ubi Kayu Varietas Vamas-1.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Apakah jenis eksplan berpengaruh terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1?
- (2) Apakah jenis media induksi kalus berpengaruh terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1?

- (3) Apakah terdapat interaksi antara jenis eksplan dan media induksi terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Mengetahui pengaruh jenis eksplan terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1;
- (2) Mengetahui pengaruh jenis media induksi kalus terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1;
- (3) Mengetahui interaksi antara jenis eksplan dan media induksi kalus terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mendapatkan metode protokol embriogenesis somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1 dengan dua jenis eksplan yang berbeda secara *in vitro*. Protokol ini dapat diaplikasikan untuk mendapatkan bibit ubi kayu dalam waktu singkat dan memiliki sifat unggul.

1.5 Kerangka Pemikiran

Ketersediaan bibit unggul ubi kayu saat ini terbatas karena penyebarannya yang tidak merata. Oleh karena itu, petani menanam ubi kayu dengan berbagai jenis varietas dalam satu areal lahan untuk memenuhi kebutuhan bibitnya. Perbanyakan konvensional telah diterapkan, namun belum mampu memenuhi kebutuhan bibit unggul ubi kayu secara optimal sehingga cara ini dinilai kurang efisien karena membutuhkan waktu yang lama. Mengatasi hal tersebut, penerapan bioteknologi seperti kultur jaringan menjadi solusi alternatif yang efektif untuk memenuhi kebutuhan bibit unggul ubi kayu.

Kultur jaringan merupakan metode mengisolasi sel atau jaringan tanaman pada media yang aseptik. Keunggulan kultur jaringan salah satunya yaitu dapat menghasilkan bibit unggul ubi kayu dalam jumlah yang melimpah dengan waktu singkat dan seragam. Selain itu, perbanyak ubi kayu dengan kultur jaringan juga mampu menghasilkan bibit yang memiliki sifat sama dengan induknya dan bebas dari hama penyakit.

Organogenesis, embriogenesis, dan *axillary branching* merupakan tiga metode yang terdapat dalam kultur jaringan. Embriogenesis somatik merupakan salah satu cara perbanyak tanaman yang sering dilakukan. Proses dari embriogenesis somatik yaitu sel somatik tanaman yang membelah untuk membentuk embrio dan menjadi tanaman baru (Sasmita *et al.*, 2022). Menurut penelitian Purnamaningsih (2002), penggunaan metode embriogenesis somatik dapat mempercepat peluang keberhasilan lebih tinggi karena embrio somatik dapat berasal dari satu sel somatik. Keunggulan dari metode embriogenesis somatik yaitu mampu memperoleh bibit lebih banyak dan identik dengan tetuanya.

Eksplan merupakan sebutan bahan tanam dalam kultur *in vitro*. Jenis eksplan dapat menentukan keberhasilan pembentukan kalus. Jenis eksplan diantaranya seperti batang, daun, daun pucuk, akar, petiol, *internode*, dan *immature leaf lobes*. Jenis eksplan yang akan digunakan yaitu daun pucuk dan ruas batang (*internode*). Kedua jenis eksplan diharapkan akan menghasilkan respon yang sesuai terhadap pemberian beberapa jenis media induksi kalus.

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang digunakan akan mempengaruhi pembentukan kalus dari embrio somatik. Pemberian ZPT golongan auksin mampu membentuk kalus dengan baik dan cepat. Picloram dan 2,4-D merupakan jenis auksin yang banyak digunakan dalam embriogenesis somatik ubi kayu. Picloram dengan konsentrasi 1-15 mg/L mampu menginduksi kalus ubi kayu. Menurut penelitian Rahman *et al.* (2021), konsentrasi 8 mg/L 2,4-D mampu menginduksi kalus paling tinggi eksplan ubi kayu daun muda dan petiol genotipe Kuning dan Gajah. Konsentrasi picloram 8 mg/L mampu membentuk kalus lebih cepat (dalam satu

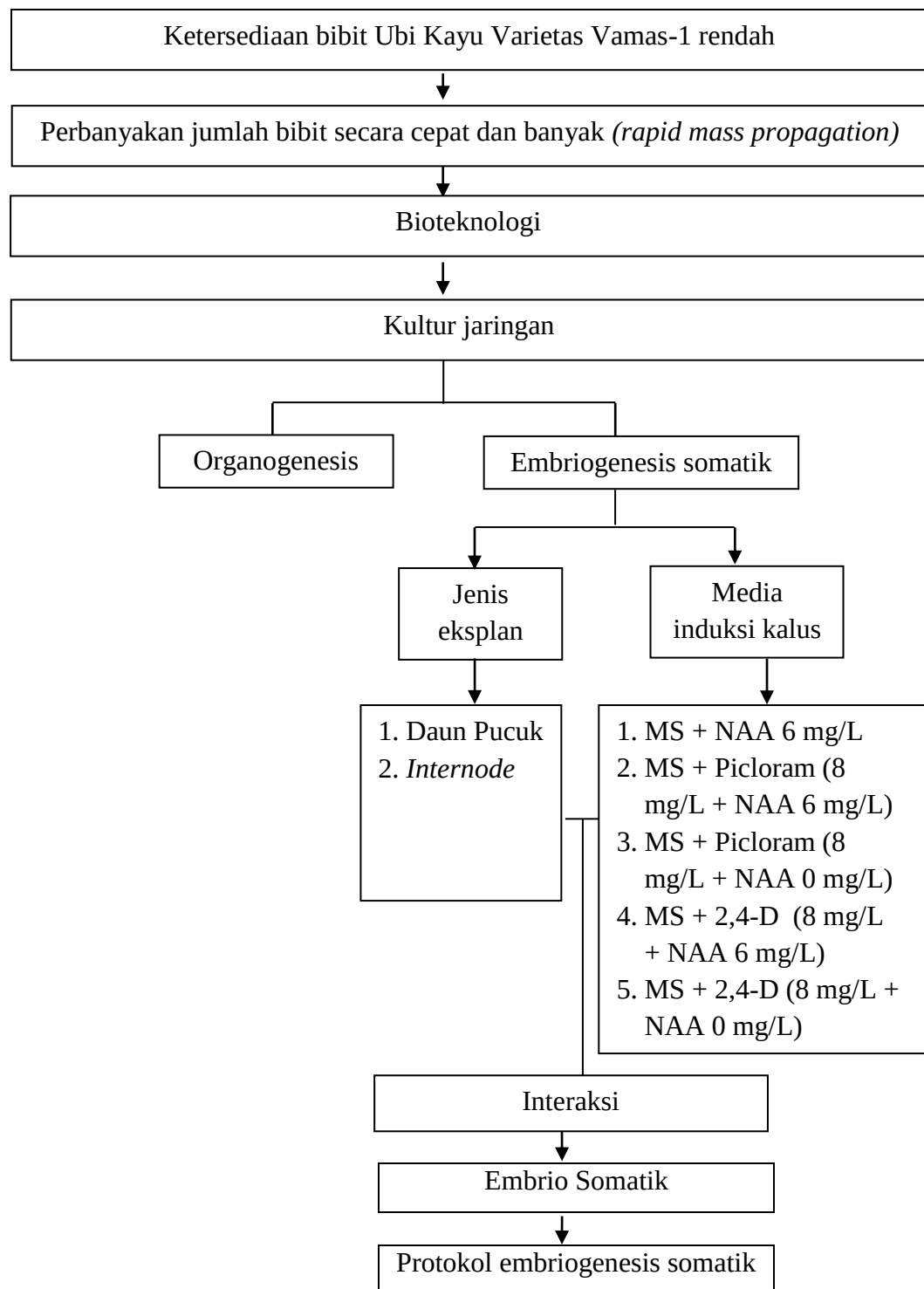
minggu) (Danso *et al.*, 2010). ZPT yang sering ditambahkan pula dalam embriogenesis ubi kayu adalah NAA. NAA ditambahkan untuk membantu merangsang pembentukan tunas dan perakaran. Fauzan *et al.* (2021) menyatakan bahwa penambahan NAA memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan akar Ubi Kayu Varietas Gajah.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yelli *et al.* (2023), pemberian NAA 6 mg/L pada beberapa konsentrasi picloram mampu menghasilkan nilai kalus tertinggi untuk Ubi Kayu Klon UJ-3 dan BW-1. Dua jenis eksplan (daun pucuk dan *internode*) yang diinduksi pada media picloram dan 2,4-D dengan atau tanpa NAA diharapkan mampu menghasilkan kalus dan embriogenesis ubi kayu yang baik dan cepat sehingga dapat memenuhi kebutuhan bibit ubi kayu. Penambahan ZPT jenis NAA dilakukan dengan harapan merangsang sel untuk dapat membentuk kalus, sehingga didapatkan *protocol embryogenesis* somatik ubi kayu yang tepat. Kerangka pemikiran disajikan pada Gambar 1.

1.6 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Daun pucuk merupakan jenis eksplan terbaik dalam menginduksi kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1;
- (2) MS + Picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L merupakan jenis media terbaik dalam menginduksi kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1;
- (3) Terdapat interaksi antara jenis eksplan dan media induksi kalus dalam menginduksi kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1.



Gambar 1. Bagan kerangka pemikiran.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Ubi Kayu

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) adalah tanaman pangan yang dibudidayakan di berbagai daerah Indonesia. Ubi kayu memiliki bermacam-macam nama daerah seperti singkong, ketela pohon, huwi dangdeur, ubi inggris, telo puhung, dan sampeu. Taksonomi ubi kayu dapat diklasifikasikan sebagai berikut; Kingdom: plantae; Divisi : Spermatophyte; Subdivisi: Angiospermae; Kelas: Dicotyledonae; Ordo: Euphorbiales; Family: Euphorbiaceae; Genus: Manihot; Spesies : *Manihot esculenta*. Batang tanaman ubi kayu berkayu, beruas, panjang, dan ketinggiannya mencapai 3 m. Warna batangnya bervariasi tergantung kulit luar dan varietas, umumnya berwarna abu-abu, hijau, coklat, dan merah. Batang dalam seperti gabus yang berwarna putih dan lunak, daun ubi kayu tersusun secara menjari dengan 5-9 helai. Ubi kayu biasa hidup pada daerah beriklim tropis dengan ketinggian berkisar antara 10 – 1.500 meter (dpl) dan curah hujan antara 500 mm – 2.500 mm/tahun (Thamrin *et al.*, 2013).

Ubi kayu dikatakan tanaman pangan karena memiliki kadar karbohidrat yang tinggi. Kandungan ubi kayu yaitu karbohidrat dan kalori sebesar (161 kkal), pati (25-35%), air pada umbi (60%), kandungan lain seperti protein, kalsium, serat, dan mineral (Ariani *et al.*, 2017). Kandungan pati yang cukup tinggi tidak hanya menjadikan ubi kayu sebagai tanaman pangan namun juga sebagai bahan baku industri. Ekstraksi pati ubi kayu dikenal dengan sebutan tapioka dengan hasil rendemen yang cukup tinggi mencapai 35%. Proses pembuatan tapioka dimulai dari pengupasan, pematuran, penyaringan, pengendapan, dan pengeringan.

Kadar pati yang tinggi pada ubi kayu umumnya didapatkan dari ubi kayu klon unggul. Klon unggul tersebut merupakan hasil pengembangan dari pemulia tanaman yang dirilis oleh Kementerian Pertanian. Varietas ubi kayu yang telah dirilis terbagi menjadi dua yaitu ubi kayu varietas manis dan pahit. Varietas ubi kayu manis diantaranya Adira 1 (1978), Malang 1 (1992), Malang 2 (1992), Darul Hidayah (1998), dan UK Agritan (2016). Varietas ubi kayu pahit diantaranya Adira 2 (1978), Adira 4 (1987), UJ-3 (2000), UJ-5 (2000), Malang 4 (2001), Malang 6 (2001), dan Litbang UK-2 (2012) (Noerwijati, 2018).

Vamas-1 merupakan salah satu varietas unggul dan berumur genjah yang baru dirilis oleh pemerintah. Definisi ubi kayu genjah yaitu dapat dipanen saat berumur 7 bst (bulan setelah tanam) dengan produksi ubi sebesar 30 ton/h dan kadar pati sebesar 20%. Vamas-1 merupakan ubi kayu yang digunakan sebagai bahan baku industri namun juga dapat dikonsumsi. Berdasarkan pernyataan dari Balitkabi (2019), selain cukup tinggi kadar patinya, Ubi Kayu Varietas Vamas-1 juga memiliki keunggulan lainnya yaitu dapat panen umur 7 bulan, rasa tidak pahit, kualitas kukus umbi baik, ukuran umbi sedang, tekstur umbi yang sedikit serat, cukup tahan terhadap serangan hama tungau, tahan terhadap serangan penyakit busuk umbi (*Fusarium* spp.), serta toleran terhadap kemasaman tanah.

2.2 Perbanyakan Ubi Kayu

Perbanyakan ubi kayu yang paling umum digunakan oleh petani adalah secara konvensional melalui metode setek batang. Setek merupakan cara perbanyakan vegetatif di mana potongan batang tanaman induk digunakan sebagai bahan tanam baru. Satu tanaman ubi kayu, petani biasanya dapat memperoleh sekitar 10 -16 setek setelah tanaman berumur 10 bulan atau lebih (Yusnita, 2003). Selain metode setek, perbanyakan ubi kayu juga dapat dilakukan menggunakan benih. Namun, penggunaan benih ini jarang dilakukan oleh petani dan lebih banyak dipakai dalam pemuliaan tanaman.

Batang ubi kayu yang telah dipanen biasanya berukuran antara 1 hingga 2 meter. Batang ini kemudian dikumpulkan dan disusun secara vertikal di tempat yang teduh untuk menjaga kualitas bahan tanam. Ukuran stek yang digunakan petani umumnya berkisar antara 25-30 cm. Meskipun ukuran batang dapat dipendekkan hingga batas tertentu, bahan tanam harus tetap memungkinkan tanaman tumbuh dan berkembang secara normal (Ojore *et al.*, 2012). Selain memperbanyak secara setek, ubi kayu juga dapat diperbanyak secara vegetatif melalui metode kultur jaringan seperti organogenesis dan embriogenesis (Yelli *et al.*, 2023).

2.3 Kultur Jaringan

Kultur jaringan atau *tissue culture* merupakan salah satu metode yang bertujuan untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif. Proses ini dilakukan dengan mengisolasi bagian tanaman dalam media yang mengandung nutrisi dan zat pengatur tumbuh. Bagian tanaman yang diisolasi bisa berasal dari daun, batang, biji, tunas, sel, dan protoplasma yang disebut dengan eksplan (bahan tanam) (Kristianti *et al.*, 2017). Berdasarkan hal tersebut kultur jaringan memiliki prinsip totipotensi sel (*Total Genetic Potencial*) yaitu setiap satu sel, jaringan, atau organ berpotensi membentuk individu baru jika tersedia nutrisi yang lengkap.

Teknologi kultur jaringan memiliki tujuan yaitu untuk memperbanyak tanaman dalam waktu yang relatif singkat dan memiliki karakter yang sama dengan induknya (Yachya *et al.*, 2022). Keuntungan dari adanya teknologi ini yaitu dapat menyediakan bibit tanaman tanpa bergantung dengan musim, sehingga dapat diproduksi pada setiap waktu. Tanaman yang dihasilkan dengan teknologi kultur jaringan lebih bebas dari hama dan penyakit karena berada pada lingkungan yang aseptik. Tanaman yang diperbanyak dengan kultur jaringan umumnya bebas dari virus, sehingga mempunyai potensi untuk melestarikan tanaman agar tidak kehilangan plasma nutfah (Barus dan Restuati, 2018).

Metode kultur jaringan dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu organogenesis, embriogenesis somatik, dan *axillary branching*. Organogenesis merupakan proses

pembentukan tanaman baru yang berasal dari organ atau jaringan tanaman tanpa melalui tahapan pembentukan embrio somatik. Pada organogenesis, organ seperti tunas dan akar dapat terbentuk dari jaringan eksplan yang tidak memiliki meristem atau kultur kalus dan kultur sel yang diinduksi dari eksplan tersebut. Organogenesis dibagi menjadi dua jenis yaitu organogenesis langsung dan tidak langsung. Organogenesis langsung merupakan proses tunas atau akar terbentuk tanpa melalui kalus, sedangkan organogenesis tidak langsung proses tunas dan akar terbentuk melalui pertumbuhan kalus (Mastuti, 2017).

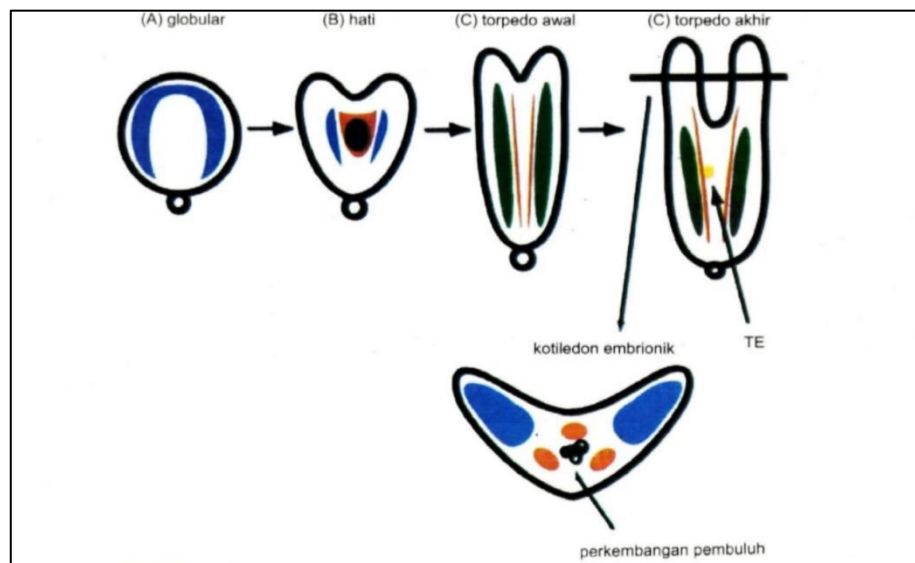
Axillary branching adalah regenerasi melalui percabangan tunas aksilar yang dilakukan dengan mengkulturkan eksplan meristem pucuk atau batang berbuku pada media yang mengandung sitokinin (Yusnita, 2015). Sementara itu, embriogenesis somatik yaitu proses pembelahan sel somatik yang membentuk embrio dan berkembang menjadi tanaman baru. Embriogenesis somatik merupakan proses bagian tanaman mengalami pembelahan sel, sehingga terbentuk embrio yang berkembang menjadi tanaman baru melalui teknik perbanyakan kultur jaringan (Sasmita *et al.*, 2022).

2.4 Embriogenesis Somatik

Embriogenesis somatik merupakan salah satu teknik regenerasi dalam kultur jaringan yang menggunakan sel somatik tanaman. Sel-sel somatik yang telah mengalami proses dediferensiasi akan membentuk embrio. Pembentukan embrio terjadi setelah sel-sel somatik yang telah mengalami dediferensiasi diletakkan pada media yang sesuai. Proses pembentukan embrio ini akan berhasil jika proses induksi benar, sehingga sel yang bertanggungjawab terhadap totipotensi akan berfungsi dan pembelahan sel terkendali untuk membentuk embrio. Embrio yang terbentuk akan tumbuh membentuk individu atau tanaman baru yang utuh (Rusdianto, 2015).

Proses embriogenesis pada teknologi kultur jaringan memiliki fase bertahap yaitu fase globular, fase hati, fase torpedo, dan planlet. Menurut Pardede *et al.* (2021),

fase globular merupakan fase di mana embrio membentuk simetri bilateral karena mengalami pertumbuhan isodiametrik. Embrio somatik kemudian akan memasuki fase hati yaitu embrio berbentuk seperti hati yang akan berkembang menjadi meristem tunas dan akar. Fase selanjutnya embrio somatik akan membentuk layaknya bentuk torpedo. Terakhir, merupakan fase embrio menjadi planlet dan mulai terbentuk akar serta tanaman utuh. Perkembangan fase embrio disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Perkembangan fase embrio (Purnamaningsih, 2002).

Embriogenesis somatik merupakan kumpulan sel embriogenik yang memiliki kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman baru. Embriogenesis somatik dapat dibedakan menjadi dua yaitu secara tidak langsung dan secara langsung. Embriogenesis somatik tidak langsung melibatkan proses dediferensiasi jaringan terorganisir menjadi kalus terlebih dahulu sebelum membentuk embrio somatik. Sebaliknya, proses embriogenesis somatik langsung yaitu somatik terbentuk secara langsung dari dediferensiasi jaringan terorganisir tanpa melalui tahap pembentukan kalus (Taryono, 2018).

Embriogenesis somatik selain dapat dibedakan secara tidak langsung dan secara langsung dapat pula dibedakan berdasarkan cara terbentuknya embrio. Cara ini dibedakan menjadi dua yaitu embriogenesis primer dan embriogenesis sekunder. Embrio somatik primer adalah embrio somatik yang dihasilkan dari eksplan awal, baik melalui embriogenesis langsung maupun tidak langsung. Sementara itu, embrio somatik sekunder adalah embrio somatik yang terbentuk dari proliferasi embrio somatik primer. Embrio somatik memiliki beberapa keuntungan yaitu dapat dimanfaatkan perbanyakan tanaman varietasal, digunakan untuk cadangan eksplan yang dapat langsung ditanam tanpa melewati proses sterilisasi, proses induksi embrio, dan digunakan sebagai target transformasi (Ibrahim *et al.*, 2015).

2.5 Jenis Eksplan (Bahan Tanam)

Eksplan merupakan bagian tanaman yang diisolasi untuk diinisi dalam media *in vitro*. Jenis eksplan merupakan salah satu faktor penting dalam kultur jaringan. Jenis eksplan dapat menentukan tingkat keberhasilan pertumbuhan kalus tanaman dalam sistem kultur jaringan. Terdapat beberapa jenis eksplan seperti batang, daun, akar, daun pucuk, biji, tunas atau *immature leaf lobes* dan *internode*. Saat ini, jenis eksplan yang paling banyak digunakan pada kultur jaringan yaitu eksplan daun, tunas pucuk, batang, dan *internode*. Eksplan yang dipilih biasanya memiliki jaringan meristem yang melimpah agar mampu berkembang dalam media kultur (Oratmangun *et al.*, 2017).

Eksplan pucuk batang tanaman manggis merupakan penggunaan eksplan terbaik (Oratmangun *et al.*, 2017). Eksplan yang berasal dari jaringan somatik seperti tunas dan daun dapat digunakan untuk memulai sistem regenerasi tanaman yang efisien. Pemilihan jenis eksplan yang berasal dari jaringan somatik memiliki keunggulan yaitu tanaman yang dihasilkan sama dengan induknya, tanaman bebas hama dan penyakit, serta potensi pertumbuhan tinggi. Embrio somatik merupakan sel yang memiliki kemampuan beregenerasi untuk menjadi tanaman baru yang utuh. Bagian tanaman yang memiliki jaringan somatik yaitu pucuk daun, tunas, daun muda, dan batang. Berdasarkan penelitian Priadi dan Sudarmonowati (2006),

sebagian besar kalus embriogenik dihasilkan dari eksplan daun pucuk tanaman yang berukuran lebih dari 5 mm. *Leaf lobes* yang digunakan untuk eksplan memiliki panjang 4-6 mm pada Ubi Kayu Kultivar TME 07 dan TME 204 (Chauhan dan Taylor, 2018).

Penggunaan berbagai macam jenis eksplan dapat menghasilkan respon yang berbeda-beda. Eksplan *internode* memerlukan waktu 15 hari untuk membentuk kalus. Sementara itu, eksplan dari *leaf lobes* memerlukan waktu 10 hari untuk membentuk kalus. Kalus dari ruas batang (*internode*) umumnya rapuh, *non-embriogenik*, dan berwarna putih. Frekuensi embriogenesis untuk eksplan batang berkisar antara 38-44, 30-39 dan 28-29%. Klon Ubi Kayu 08/274 memberikan respon terbaik untuk pembentukan embrio somatik menggunakan baik lobulus daun maupun *internode* batang (Syombua *et al.*, 2019).

2.6 Media Kultur

Media kultur merupakan campuran dari berbagai nutrisi untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam kultur *in vitro*. Media kultur yang umum digunakan yaitu Media MS (Murashige and Skoog, 1962). Media ini mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap dibanding media lainnya, sehingga sering digunakan dan cocok untuk semua jenis tanaman (Fatana *et al.*, 2024). Media kultur umumnya mengandung unsur hara makro, mikro, vitamin, sukrosa, asam amino, zat pengatur tumbuh (ZPT), dan bahan organik (Basri, 2016).

Secara umum media kultur memiliki komponen-komponen diantaranya garam-garam anorganik, vitamin, mio-inositol, gula, asam-asam amino, agar, dan bahan organik. Garam-garam anorganik adalah gabungan dari unsur hara makro (C, H, O, N, P, K, S, Ca, dan Mg) dan unsur hara mikro (Cl, B, Mo, Mn, Cu, Fe, Zn, dan Co). Vitamin yang digunakan yaitu vitamin B1 atau *thiamine* yang berfungsi mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel. Selain *thiamine*, vitamin lainnya yang digunakan yaitu *nicotinic acid*, *pyridoxine* (vitamin B6). Mio-Inositol

atau heksiol berfungsi untuk merangsang pertumbuhan tanaman yang dikulturkan. Gula atau sukrosa digunakan sebagai sumber energi. Asam-asam amino yang sering digunakan yaitu *glisin*, *lysin*, *threonine* berfungsi untuk menambah nitrogen. Namun, asam amino jarang digunakan karena sumber nitrogen utama sudah tersedia dari NO_3^- dan NH_4^+ yang berfungsi sebagai bahan pematat agar eksplan tidak pindah tempat atau tergeser. Bahan organik yang ditambahkan yaitu air kelapa yang berfungsi untuk mendorong pertumbuhan planlet (Harahap *et al.*, 2019).

2.7 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh merupakan sekumpulan senyawa organik bukan hara yang dapat mendorong, menghambat, atau mengubah pertumbuhan perkembangan dan pergerakan tumbuhan. ZPT tergolong dalam lima kelompok utama yaitu auksin, sitokinin, giberelin, etilen, dan asam absisat. Auksin, sitokinin, dan giberelin memiliki sifat positif bagi pertumbuhan tanaman pada konsentrasi fisiologis seperti mendukung pertumbuhan dan perkembangan dari tumbuhan. Etilen kurang memiliki sifat positif atau dapat mendukung maupun menghambat pertumbuhan, sementara asam absisat merupakan penghambat pertumbuhan (inhibitor) (Emilda, 2020).

Zat Pengatur Tumbuh terdiri atas auksin, sitokinin, giberelin, etilen, dan asam absisat yang memiliki fungsi yaitu: auksin berfungsi untuk mempengaruhi pertumbuhan diferensiasi dan percabangan akar, pemanjangan batang, perkembangan buah, dan dominansi apikal (Asra *et al.* 2020). Sitokinin berfungsi untuk mendorong pembelahan sel, pertumbuhan tanaman secara general, mendorong benih untuk berkecambah, mempengaruhi diferensiasi dan pertumbuhan akar, serta menunda terjadinya penuaan (*senesen*) pada tanaman. Giberelin berfungsi untuk mempengaruhi diferensiasi dan pertumbuhan akar, mendorong biji untuk berkecambah, mempengaruhi perkembangan kuncup, bunga, dan buah. Etilen berfungsi untuk memicu terjadinya pematangan buah, antagonis terhadap hormon auksin, dan sebagai promotor atau inhibitor dalam

perkembangan dan pertumbuhan dari organ-organ tanaman seperti akar, batang, daun, dan bunga. Asam absisat berfungsi untuk merangsang stomata untuk tertutup pada kondisi cekaman kekurangan air, menghambat pertumbuhan, dan mempertahankan benih dalam kondisi dormansi.

Zat Pengatur Tumbuh yang sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu auksin, giberelin, dan sitokinin. ZPT golongan auksin diantaranya IAA (*Indole Acetic Acid*), IBA (*Indole Butiric Acid*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxyacetic acid*), dan picloram (asam-4-amino-3,5,6-tricloropicolinic acid). ZPT golongan sitokinin diantaranya yaitu 6-Benzylaminopurine atau BAP, Thidiazuron, dan 2-iP (*dimethyl allyl amino purin*) (Asra *et al.*, 2020).

Konsentrasi kedua jenis ZPT ini sering digunakan dalam merangsang pembentukan kalus tanaman dalam *in vitro*. Jika jumlah sitokinin yang diberikan lebih tinggi dibandingkan jumlah auksin, maka daun dan pucuk akan dirangsang untuk tumbuh terlebih dahulu. Sebaliknya, jika jumlah auksin lebih tinggi dari jumlah sitokinin maka akar akan dirangsang untuk tumbuh terlebih dahulu (Hapsoro & Yusnita, 2018).

Pembentukan tunas umumnya menggunakan ZPT jenis sitokinin yaitu BA atau kinetin, untuk pembentukan kalus menggunakan ZPT jenis auksin yaitu 2,4-D, dan untuk pembentukan akar menggunakan ZPT jenis auksin yaitu IAA, IBA, atau NAA (Lestari, 2011). Pemberian konsentrasi dua jenis auksin yaitu picloram (2,0 mg/L) dan 2,4-D (1,0 mg/L) mampu memberikan pengaruh terhadap pembentukan kalus pada tanaman nilam (Wardani, 2020). Auksin berfungsi dalam mendorong terbentuknya sel, kalus, serta organ dari tanaman yang dikulturkan. Asra *et al.* (2020) menjelaskan bahwa auksin dapat merangsang pembelahan kalus secara *in vitro*. konsentrasi sebesar 8 mg/L 2,4-D mampu menginduksi kalus jenis eksplan daun muda dan petiol dari tanaman Ubi Kayu Genotipe Kuning dan Gajah (Rahman *et al.*, 2021).

Konsentrasi 8 mg/L 2,4-D memberikan hasil terbaik pada pembentukan kalus, waktu terbentuknya kalus, pertumbuhan kalus, dan diameter kalus (Nugroho,

(2017). Picloram merupakan salah satu jenis auksin yang sering digunakan dalam kultur *in vitro*. Picloram dapat meningkatkan inisiasi induksi kalus dalam kultur jaringan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Simamora dan Restanto (2024), konsentrasi picloram 12 mg/L dapat meningkatkan bobot segar kalus pada Ubi Kayu Varietas Ketan seberat 0,64 g. Menurut Lenz et al. (2018), konsentrasi picloram 20 mg/L dapat meningkatkan proliferasi pada kultivar ubi kayu asal Brazil. Picloram 8 atau 16 mg/L mampu membentuk kalus dalam satu minggu setelah perlakuan (Danso et al., 2010). Rata-rata waktu tumbuh kalus dengan penambahan picloram lebih optimal dibandingkan dengan penambahan 2,4-D. Pemberian picloram pada setiap perlakuan memberikan tekstur memerah dan warna kekuningan pada kalus yang terbentuk (Wijawati et al., 2019).

Pemberian auksin pada kultur *in vitro* sangat membantu dalam inisiasi pembentukan kalus. Selain picloram dan 2,4-D jenis auksin NAA juga banyak digunakan untuk merangsang pembentukan kalus. Berdasarkan penelitian Purmaningsih dan Ashrina (2011), media MS dengan penambahan NAA 0,5 mg/L dan BAP 0,5 mg/L menghasilkan bobot basah kalus tertinggi yaitu 844,4 mg dan bobot kering kalus 216,6 mg pada tanaman *Artemesia annua* L. Pemberian NAA memberikan pengaruh pada diameter dan bobot kalus tanaman kentang (Wartina, 2014). Sualang et al. (2023) melaporkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh NAA 2,0 ppm memberikan hasil jumlah akar terbanyak untuk tanaman krisan. Penambahan NAA memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan akar Ubi Kayu Varietas Gajah (Fauzan et al., 2021).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini mulai dilaksanakan Desember 2024 hingga Maret 2025 di Laboratorium Ilmu Tanaman (Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman), Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

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

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain eksplan daun pucuk dan ruas batang (*internode*) Ubi Kayu Varietas Vamas-1, Media MS0, picloram, 2,4-D (*Dichlorophenoxyacetic acid*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), GA₃, BA (*Benziladenin*), CuSO₄, air, NaClO, akuades, agar-agar, sukrosa, KOH 1 N, HCl 1 N, sabun cuci piring, detergen, *bayclin*, tisu, kapas, karet, plastik ukuran 12 x 25 cm, plastik *wrapping*, dan label.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial (2×5). Faktor pertama terdiri atas dua jenis eksplan dari Varietas Vamas-1 (E) yaitu, daun pucuk (E1) dan ruas batang *internode* (E2). Faktor kedua terdiri atas 5 jenis media induksi kalus (M) yaitu Media MS + NAA 6 mg/L (M0), MS + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L (M1), MS + picloram 8 mg/L + NAA 0 mg/L (M2), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L (M3), dan MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L (M4).

Oleh karena itu diperoleh 10 kombinasi perlakuan dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 4 kali, setiap ulangan terdiri atas 3 botol dan setiap botol berisi 3 eksplan. Total eksplan yang digunakan adalah 360 dalam 40 satuan percobaan. Sepuluh kombinasi perlakuan yang diperoleh adalah sebagai berikut:

1. E1M0 = MS + Daun pucuk + NAA 6 mg/L;
2. E1M1 = MS + Daun pucuk + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L;
3. E1M2 = MS + Daun pucuk + picloram 8 mg/L + NAA 0 mg/L;
4. E1M3 = MS + Daun pucuk + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L;
5. E1M4 = MS + Daun pucuk + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L;
6. E2M0 = MS + *Internode* + NAA 6 mg/L;
7. E2M1 = MS + *Internode* + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L;
8. E2M2 = MS + *Internode* + picloram 8 mg/L + NAA 0 mg/L;
9. E2M3 = MS + *Internode* + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L;
10. E2M4 = MS + *Internode* + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan penyiapan bahan tanam, sterilisasi alat, persiapan media, sterilisasi eksplan, dan penanaman eksplan.

3.4.1 Penyiapan Bahan Tanam

Penyiapan bahan tanam dilakukan di ruang kultur Laboratorium Ilmu Tanaman. Perbanyak planlet Varietas Vamas-1 dilakukan melalui proses subkultur dengan mengambil eksplan sepanjang 1 cm atau satu buku dari *mother stock*. Subkultur dilakukan hingga planlet mencukupi untuk menjadi bahan tanam. Daun pucuk dan *internode* dapat digunakan sebagai bahan tanam (eksplan) pada media steril yang telah diberi perlakuan.

3.4.2 Sterilisasi Alat

Sterilisasi botol dilakukan dengan memasukkan botol ke dalam autoklaf *Budenberg* selama 30 menit dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Botol dibersihkan dari sisa media ataupun planlet yang telah terkontaminasi oleh jamur atau bakteri menggunakan pinset. Botol dicuci menggunakan sabun cuci piring, lalu direndam di dalam air berisi campuran 300 ml *bayclin* dan 40 g detergen selama $\pm$ 1 malam. Botol dicuci kembali dengan cara digosok hingga bersih untuk menghilangkan kontaminan. Kemudian, botol dibilas dengan air mengalir dan di rendam selama 15 menit dengan air panas. Selanjutnya, botol ditiriskan dan bagian atasnya ditutup dengan plastik yang diikat menggunakan karet plastik. Setelah itu, dimasukan botol yang telah ditutup plastik ke dalam autoklaf *Tomy* untuk disterilisasi kembali selama 30 menit dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm, setelahnya botol disimpan dalam box penyimpanan.

Sterilisasi alat diseksi seperti *pinset*, *scalpel*, dan ubin yaitu dengan mencuci alat tersebut hingga bersih. Alat yang telah dicuci ditiriskan dan dibungkus dengan kertas plastik bening, lalu diikat menggunakan karet plastik. Sterilisasi kapas dilakukan dengan cara memasukkan kapas ke dalam botol kultur yang telah dibersihkan. Sterilisasi *petridish* dan gelas ukur dilakukan dengan cara menutup mulut gelas dengan plastik bening kemudian diikat karet plastik. Alat yang telah siap disterilisasi dimasukkan ke dalam autoklaf selama 30 menit dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm.

3.4.3 Persiapan Media

Persiapan media meliputi media pre-kondisi, media induksi kalus primer dan media embrio somatik, media regenerasi tunas, dan sterilisasi media.

3.4.3.1 Media pre-kondisi (MS)

Pembuatan media pre-kondisi dimulai dengan mencampurkan komponen media MS (Tabel 1) hingga homogen setelah itu dicampur dengan gula sebanyak 30 g/L ke dalam gelas *beaker* yang sebelumnya telah diisi akuades $\pm$ 300 ml. Larutan di homogenkan dengan *magnetic stirrer* dan ditera menggunakan gelas ukur hingga mencapai volume 1000 ml. Selanjutnya, larutan dimasukkan kembali ke dalam gelas *beaker* dan di homogenkan dengan *magnetic stirrer* kembali. Larutan lalu diukur kadar pH larutan. Kadar pH larutan diukur menggunakan pH meter hingga mencapai pH 5,8. Jika pH larutan terlalu asam atau ($\text{pH} < 5,8$) maka ditambahkan dengan KOH 1N, kemudian jika pH larutan terlalu basa atau ($\text{pH} > 5,8$) maka ditambahkan dengan HCl 1N menggunakan pipet tetes.

Larutan media yang sudah ditera dan ditambahkan agar-agar 7 g dimasak pada api kecil hingga mendidih. Larutan media yang telah dimasak dimasukan kedalam botol kultur hingga volume media $\pm$ 30 ml. Kemudian botol kultur yang telah terisi larutan media ditutup dengan kertas bening dan diikat dengan karet plastik. Media yang sudah berada di botol kultur di autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah di autoklaf media didinginkan hingga padat dan diletakkan pada ruang penyimpanan media. Media pre-kondisi digunakan untuk menanam tanaman sumber eksplan. Komposisi Media Murashige dan Skoog disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Media Murashige dan Skoog

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

3.4.3.2 Media induksi kalus primer (MIKP)

Media induksi kalus primer dengan komposisi Media MS seperti (Tabel 1) yang ditambahkan 4 µM CuSO₄, agar oxoid 8 g/L, sukrosa 40 g/L, dan beberapa konsentrasi yang berbeda yaitu MS + NAA 6 mg/l, MS + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L, MS + picloram 8 mg/L + NAA 0 mg/L, MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L, dan MS + 2,4-D 2 mg/L + NAA 0 mg/L. Eksplan dikulturkan pada media induksi kalus primer selama 3 minggu dalam kondisi gelap dengan suhu

23 ± 2 °C untuk memicu pembentukan kalus. Setelah kalus terbentuk disubkultur ke media embriogenesis somatik dan diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 23 ± 2 °C kembali selama 3 minggu.

3.4.3.3 Media maturasi embrio (ME)

Media maturasi digunakan sebagai media pematangan embrio somatik yang terbentuk dari media induksi primer dan embriogenesis somatik agar berkembang membentuk daun lembaga atau kotiledon. Media pada maturasi embrio adalah Media MS yang ditambahkan sukrosa 40 g/L, NAA 0,5 mg/L, dan 4 μ M CuSO₄, dan agar oxoid 8 g/L. Pada media maturasi, konsentrasi ZPT (picloram dan 2,4-D) diturunkan menjadi 2 mg/L untuk memicu perkembangan embrio membentuk kotiledon dan menghentikan pembentukan kalus. Media maturasi terdiri atas MS + picloram 2 mg/L + NAA 0,5 mg/L, MS + picloram 2 mg/L + NAA 0 mg/L, MS + 2,4-D 2 mg/L + NAA 0,5 mg/L, dan MS + 2,4-D 2 mg/L + NAA 0 mg/L.

3.4.3.4 Media regenerasi tunas (MR)

Media regenerasi tunas digunakan saat embrio sudah memasuki fase kotiledon dengan mensubkultur ke dalam media yang mengandung MS (Tabel 1) + sukrosa 40 g/L, 4 μ M CuSO₄, agar gelrite 2 g/L + BA 0,2 mg/L + GA3 0,01 mg/L dan MS + BA 0,2 mg/L + GA3 0 mg/L. Hal ini dilakukan untuk merangsang pertumbuhan tunas pada embrio.

3.4.3.5 Sterilisasi media

Sterilisasi media dilakukan setelah pembuatan media selesai dan sudah dimasukkan ke dalam botol kultur dengan isi ± 30 ml/botol di autoklaf menggunakan autoklaf selama 15 menit, suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Setelah sterilisasi botol kultur yang berisi media diletakkan pada ruang kultur.

3.4.4 Penanaman Eksplan

Kegiatan penanaman eksplan meliputi penanaman pada media pre-kondisi, penanaman eksplan ke media induksi kalus, induksi embriogenesis somatik, dan media regenerasi tunas.

3.4.4.1 Media pre-kondisi

Penanaman tunas pada media pre-kondisi diambil dari planlet *mother stock* yang selanjutnya dipotong sepanjang 1-2 cm agar menjadi calon tunas baru. Tunas yang ditanam berjumlah tiga tunas dalam satu botol. Botol tersebut kemudian diberi label sesuai dengan nama, waktu tanam, dan jenis varietas. Selanjutnya botol disimpan dalam ruang kultur dengan suhu 23 ± 2 °C, pencahayaan 24 jam terang dengan lampu *Flourescent*. Tunas steril yang dihasilkan pada media pre-kondisi yang berumur sekitar 15 hari akan digunakan sebagai eksplan pada perlakuan media induksi kalus primer.

3.4.4.2 Media induksi kalus primer (MIKP)

Eksplan yang digunakan pada penelitian ini ada dua yaitu daun pucuk dan ruas batang (*internode*). Daun pucuk dipotong menggunakan *blade* membentuk persegi ($5 \times 2 \text{ mm}^2$) dengan bagian tepi daun yang dibuang. Eksplan dikultur pada media MIKP dengan posisi daun bagian bawah (*abaxial*) menyentuh media. Sementara itu, *internode* (0,2 cm) juga dipotong menggunakan *blade* kemudian dimasukkan ke dalam botol dengan posisi horizontal. Setiap botol terdiri atas 3 eksplan daun pucuk dan *internode*. Botol tersebut kemudian diberi label sesuai dengan perlakuan dan waktu penanaman. Eksplan yang sudah dikultur kemudian diinkubasi dalam ruang kultur pada kondisi gelap dengan suhu 23 ± 2 °C kurang lebih selama 3 minggu.

Setelah kalus berumur 3 minggu, dilakukan subkultur pada media yang sama. Pada saat bersamaan, dilakukan penimbangan bobot kalus. Penimbangan bobot kalus dilakukan di LAFC dengan menimbang beberapa sampel kalus dengan berbagai ukuran $\pm 0,2$ g. Media embrio somatik terdiri atas MS + NAA 6 mg/L, MS + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L, MS + picloram 8 mg/L + NAA 0 mg/L, MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L, dan MS + 2,4-D 2 mg/L + NAA 0 mg/L. Selain itu, dilakukan pengamatan embrio menggunakan mikroskop binokuler *Olympus* untuk melihat embrio pada kalus yang terbentuk. Kalus yang telah ditimbang dan diamati kembali diinkubasi dalam ruang kultur pada kondisi gelap dengan suhu 23 ± 2 °C kurang lebih selama 3 minggu.

3.4.4.3 Media maturasi embrio (ME)

Setelah eksplan diinduksi selama 6 minggu, kalus yang menunjukkan pertumbuhan kalus embriogenik disubkultur ke media maturasi dengan masing-masing botol berisi tiga buah kalus. Media maturasi embrio yaitu Media MS yang ditambah picloram 2 mg/L + NAA 0,5 mg/L, picloram 2 mg/L + NAA 0 mg/L, 2,4-D 2 mg/L + NAA 0,5 mg/L, dan 2,4-D 2 mg/L + NAA 0 mg/L. Media ini berfungsi sebagai media pematangan embrio. Sebelum pemindahan (*subkultur*) yang dilakukan di LAFC kalus diamati terlebih dahulu menggunakan mikroskop binokuler *Olympus* untuk melihat embrio pada kalus yang terbentuk

3.4.4.4 Media regenerasi tunas (MR)

Kalus yang telah melalui proses pematangan embrio dipindahkan pada media regenerasi tunas yang terdiri atas media MS + BA 0,2 mg/L + GA3 0,01 mg/L dan MS + BA 0,2 mg/L. Kalus diinkubasi selama 3 minggu hingga kalus yang bertunas tumbuh dan berkembang menjadi planlet. Planlet merupakan tanaman hasil kultur jaringan yang sudah memiliki organ lengkap seperti daun, batang, dan akar.

3.5 Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah pengamatan kualitatif dan pengamatan kuantitatif. Pengamatan kualitatif berupa visual meliputi warna kalus, struktur kalus, dan fase embrio somatik primer. Sementara itu, pengamatan kuantitatif seperti waktu muncul kalus, bobot kalus, persentase eksplan berkalus, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio somatik primer.

3.5.1 Pengamatan Kualitatif

Pengamatan kualitatif meliputi warna kalus dan struktur kalus yang diamati setiap 2 hari sekali. Pengamatan warna dan struktur kalus dilakukan menggunakan mata dan dibantu dengan *Scanning Electron Microscop* (SEM).

3.5.1.1 Warna kalus

Warna kalus yang berasal dari eksplan daun pucuk dan *internode* dilihat dan diamati sejak eksplan ditanam hingga membentuk kalus penuh. Warna kalus seperti putih, kuning, kuning kehijauan, putih kekuningan, atau kuning kecokelatan.

3.5.1.2 Struktur kalus

Struktur kalus terbagi menjadi dua jenis yaitu kalus remah (*friable*) dan kalus kompak (*non-friable*). Kalus dengan struktur remah merupakan kalus dengan ikatan sel longgar sehingga mudah hancur, sedangkan kalus dengan struktur kompak merupakan kalus dengan ikatan sel kuat, rapat tidak mudah hancur.

3.5.1.3 Fase embrio somatik primer

Fase embrio somatik primer yang diamati berupa beberapa fase yaitu fase globular, fase hati, fase torpedo, dan fase kotiledon. Fase globular merupakan fase

pertumbuhan isodiametrik dan dilanjutkan dengan fase hati yang merupakan perkembangan struktur awal akar dan meristem tunas. Selanjutnya, embrio somatik memasuki fase torpedo yaitu terjadi pemanjangan lebih lanjut. Fase akhir merupakan fase embrio berkembang menjadi bentuk kotiledon yang berwarna hijau yang menandakan kematangan embrio. Fase embrio somatik disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Fase embrio (Greer, 2008).

3.5.2 Pengamatan Kuantitatif

Pengamatan kuantitatif seperti waktu muncul kalus, bobot kalus primer, persentase eksplan berkalus, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio somatik primer.

3.5.2.1 Waktu muncul kalus

Waktu muncul kalus diamati setiap 2 hari sekali sejak eksplan diinduksi sampai 3 minggu setelah induksi (msi). Inisiasi pembentukan kalus primer dapat ditandai atau dilihat ketika bagian eksplan mengkerut, membesar, dan warnanya mulai menguning.

3.5.2.2 Bobot kalus primer

Bobot kalus primer ditimbang pada umur 3 minggu setelah induksi di media induksi kalus primer. Eksplan yang telah membentuk kalus ditimbang dalam LAFC (dalam keadaan steril), setelah itu dilakukan subkultur pada media yang sama dengan media sebelumnya.

3.5.2.3 Persentase eksplan berkalus

Persentase eksplan yang membentuk kalus diamati pada 3 minggu setelah induksi.

Perhitungan eksplan berkalus dapat dilakukan dengan rumus berikut:

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

3.5.2.4 Persentase kalus berembrio

Pengamatan persentase kalus berembrio dilakukan dengan menghitung jumlah eksplan yang telah berembrio pada media maturasi. Persentase kalus berembrio diamati berdasarkan masing-masing perlakuan yang telah diberikan.

Perhitungan kalus berembrio dapat dilakukan dengan rumus berikut:

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

3.5.2.5 Jumlah embrio somatik primer

Jumlah embrio somatik primer dilihat dan diamati pada saat kalus berumur 3 msi di media maturasi embrio menggunakan mikroskop binokuler *Olympus*.

3.6 Analisis Data

Data hasil pengamatan penelitian ini dianalisis menggunakan uji homogenitas dan uji *Analysis of Variance* (ANOVA). Hasil ANOVA yang signifikan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%. Variabel pengamatan yang diamati dengan ANOVA yaitu waktu muncul kalus dan bobot kalus primer 3 msi.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Eksplan daun pucuk Ubi Kayu Varietas Vamas-1 memerlukan waktu muncul kalus 11,75 hsi, bobot kalus dengan berat rata-rata 0,17 g, persentase eksplan berkalus 100%, persentase kalus berembrio 50%, dan jumlah embrio rata-rata $16,61 \pm 7,76$ embrio;
- (2) Jenis media induksi kalus terbaik yaitu MS + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L pada eksplan daun pucuk dengan menghasilkan pembentukan kalus (100% berkalus), kalus dengan struktur remah (*friabel*), dan nilai persentase kalus berembrio yaitu 50%;
- (3) Terdapat interaksi yang nyata antara jenis eksplan dan media induksi kalus terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Vamas-1. Interaksi antara jenis eksplan daun pucuk dan Media MS + picloram 8 mg/L + NAA 6 mg/L menunjukkan jumlah eksplan berkalus 100% dan embrio somatik mencapai 50%.

5.2 Saran

Saran yang diberikan berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh yaitu dilakukan peningkatan jumlah tunas menjadi planlet dengan memodifikasi media regenerasi tunas.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariani, L.N., Estiasih, T., dan Martati, E. 2017. Karakteristik sifat fisika kimia ubi kayu berbasis kadar sianida. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 18(2): 119–128.
- Asra, R., Samarlina, R.A. dan Silalahi, M. 2020. *Hormon Tumbuhan*. UKI Press. Jakarta..
- Azizi, A.A.A., Rahman, N., Hartati, N.S., Koerniati, S., Hastilestari, B.R., Sukmadjaja, D., and Witjaksono 2023. Embryogenic callus induction of Indonesian Cassava (Menti and Adira 4) on different picloram concentrations. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1255(1).
- Balai Penelitian Tanaman Kacang dan Umbi. 2019. *Laporan Kinerja*. Malang. 160 hlm.
- Balai Penelitian Tanaman Kacang dan Umbi. 2022. *Laporan kinerja*. Malang. 156 hlm.
- Barus, E.M. dan Restuati, M. 2018. Pengaruh Media Kultur pada Planlet Kentang *Solanum tuberosum* L terhadap Totipensi Pertumbuhan Tunas. *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda*. 1(2): 51–56.
- Basri, A.H.H. 2016. Kajian Pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. *Agrica Ekstensia*. 10(1): 64–73.
- Chauhan, R.D. and Taylor, N.J. 2018. Meta-topolin stimulates de novo shoot organogenesis and plant regeneration in cassava. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 132(1): 219–224.
- 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 .
- Diantina, S. 2014. Konservasi tunas in vitro dan populasi sel embriogenik ubi kayu secara pertumbuhan minimal dan kriopreservasi. *Bogor Agricultural University*. Available at. Bogor.

- Ekawati, Y., Anggraeni, A., Dyah Prawestri, A., dan Nurtjahya, E. 2022. Induksi kalus sisik umbi *Lilium longiflorum* Thunb. oleh auksin dan sitokinin, serta respon pertumbuhannya secara *in vitro*. *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*. 6(2): 28–37.
- Emilda, E. 2020. Potensi bahan-bahan hayati sebagai sumber zat pengatur tumbuh (ZPT) alami. *Jurnal Agroristek*. 3(2): 64–72.
- Fatana, D., Suharli, L., dan Sandra, E. 2024. Pembuatan Media MS (Murashigae and Skoog) dengan tambahan konsentrasi ZPT secara *in vitro*. *Jurnal Satwa Tumbuhan Indonesia*. 1(1): 9–14.
- Fauzan, M., Nirmala, R., Sunaryo, W., dan Pujowati, P. 2021. Induksi multiplikasi Ubi Kayu var. Gajah (*Manihot esculenta* crantz) melalui kultur jaringan dengan Zat Pengatur Tumbuh BAP dan NAA. *J Agroekoteknologi Tropika Lembab*. 3(2): 79–85.
- Fletcher, E.K.A., Amoako, T.N.E., and Twumasi, P. 2011. Effect of 2,4-D, explants type and cultivar on the callogenesis expression of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Ghana. *African Journal of Biotechnology*. 10(46): 9396–9401.
- Gea, N. 2022. Introduksi gen Hd3a dengan promotor 35s CaMV pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) kultivar IPB CP (*Chippotato*) 1 melalui *Agrobacterium tumefaciens* *Jurnal Sapta Agrica*. 1: 1–23.
- Greer, Mi.S. 2008. Effect of ammonium nitrate upon direc somatic embryogenesis and biolistic transformation of wheat. *Thesis*. 16(1): 1-23.
- Gunawan, L.N. 1992. *Teknik kultur jaringan*. Bandung: *Laboratorium Kultur Jaringan*. PAU Bioteknologi Insitut Pertanian. Bogor.
- Hankoua, B.B., Taylor, N.J., Ng, S.Y.C., Fawole, I., Puonti-Kaerlas, J., Padmanabhan, C., Yadav, J.S., Fauquet, C.M., Dixon, A.G.O., and Fondong, V.N. 2006. Production of the first transgenic cassava in Africa via direct shoot organogenesis from friable embryogenic calli and germination of maturing somatic embryos. *African Journal of Biotechnology*. 5(19): 1700–1712.
- Hapijah, N., Utomo, S.D., Yuliadi, E. & Setiawan, K. 2020. Peningkatan produksi tujuh Varietas Ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz) akibat penambahan unsur hara mikro di Tanjung Bintang Lampung Selatan. *Journal of Tropical Upland Resources ISSN*. 2(2): 230–238.
- Hapsoro, D. dan Yusnita 2018. *Kultur Jaringan: Teori dan Praktik*. Penerbit ANDI. Yogyakarta. 141 hlm.

- Hasan, S.A. dan Taufiq, N. 2022. Pengaruh penambahan zat kapur dan lama perendaman terhadap kadar sianida pada singkong (*Manihot Esculanta* Crantz). *Jurnal Sehat Mandiri*. 17(2): 133–141.
- Hesami, M., Daneshvar, M.H., and Lotfi-Jalalabadi, A. 2017. Effect of sodium hypochlorite on control of in vitro contamination and seed germination of *ficus religiosa*. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 7(4): 2157–2162.
- Hidayah, V.N. dan Dewanti, P. 2023. Pengaruh BAP (6-Benzylaminopurine) dan 2,4-D (*Dichlorophenoxy acetic acid*) pada mikropropagasi tebu (*Saccharum officinarum* L.) melalui metode thin cell layer. *Jurnal Agrotek Tropika*. 10(2): 89.
- Ibrahim, D., Sari, M. dan Rostiana, O. 2010. Pengaruh umur eksplan terhadap keberhasilan pembentukan kalus embriogenik pada kultur meristem jahe (*Zingiber officinale* Rose). *Jurnal Littri*. 16(1): 37–42.
- Ibrahim, M.S.D., Hartati, R.R.S., Rubiyo, R., Purwito, A. and Sudarsono, S. 2015. the induction of primary and secondary somatic embryo to support arabica coffee propagation. *Journal of Tropical Crop Science*. 2(3): 6–13.
- Juliana, T., Isda, M.N., dan Iriani, D. 2019. Somatic embryogenesis of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) callus from Bengkalis Origin with of BAP and Honey in Vitro. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*. 12(1): 8–17.
- Kasi, P.D., dan Semiarti, E. 2016. Pengaruh Thidiazuron dan *Naphtalene Acetic Acid* untuk induksi embriogenesis somatik dari daun anggrek *Phalaenopsis* “Sogo Vivien.” *Jurnal Dinamika*. 1(4): 274–282.
- Kementerian Pertanian. 2023. *Analisis Kinerja Perdagangan Ubi Kayu*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Kementerian Pertanian. 12(11): 1-51.
- Kristianti, A., Kamsinah, K., dan Dwiati, M. 2017. Pertumbuhan stek krisan (*Chrysanthemum morifolium* (L.) Ramat) pada berbagai media kultur *in vitro*. *Biosfera*. 33(2): 50-60.
- Kusumawati, E., Sari, Y.P., and Purnaningsih, T. 2015. Pemgaruh NAA dan BAP terhadap inisiasi tunas mengkudu (*Morinda citrifolia*) secara in vitro. *Jurnal Agrisains*. 01(1): 18–26.
- Lentz, E.M., Eisner, S., McCallum, E.J., Schlegel, K., Campos, F. de A. de P., Gruissem, W., and Vanderschuren, H. 2018. Genetic transformation of recalcitrant cassava by embryo selection and increased hormone levels. *Methods and Protocols*. 1(4): 1–10.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 7(1): 56- 63.

- Lizawati. 2012. Proliferasi kalus embriogenesis somatik Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan berbagai kombinasi ZPT dan Asam Amino. *Bioplantae*. 1(4): 65-72.
- Magambo, S., Nabatanzi, A., Alicai, T., Wembabazi, E., Oketch, K., Nakalembe, I., and Wagaba, H. 2024. Somatic embryo production and GFP genetic transformation in elite Ugandan cassava genotypes. *Scientific African*. 23(12) : 20-39.
- Mahadi, I., Syafi'i, W., and Sari, Y. 2016. Callus induction of Calamansi (*Citrus microcarpa*) Using 2,4-D and BAP hormones by in vitro methods. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 21(2): 84–89.
- Molina, D.M., M.E. Aponte, H. C., and G. Moreno. 2002. The effect of genotype and explant age on somatic embryogenesis of Coffee. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 7(1): 117 – 125
- Mongomake, K., Doungous, O., Khatabi, B., and Fondong, V.N. 2015. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *SpringerPlus*. 4(1): 1–12.
- Muna, A., Suharyanto, S., dan Sasongko, A.B. 2022. Induksi kalus *Piper retrofractum* Vahl. dengan variasi eksplan dan Zat Pengatur Tumbuh. *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*. 14(1): 16–23.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 1(5): 473-497.
- Noerwijati, K. 2018. *Pengenalan Varietas Unggul Ubi Kayu*. Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Malang. 10 hlm.
- Nugroho, C.C. 2017. Induksi kalus embriogenik beberapa genotipe Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.). *The Mathematical Gazette*. 55(393): 298–305.
- 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(02): 120-126.
- Ojore, M., Richard, I., Bwala, I., dan Amaka, C. 2012. Productivity of cassava-sweet potato intercropping system as influenced by varying lengths of cassava at Makurdi. *Journal of Biology Agriculture and Healthcare*. 2(5) : 87-93.
- 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.

- Oratmangun, K.M., Pandiangana, D., dan Kandou, F.. 2017. Deskripsi jenis-jenis kontaminan dari kultur kalus (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 6(1): 47–52.
- Osorio, M., Gámez, E., Molina, S., and Infante, D. 2012. Evaluation of cassava plants generated by somatic embryogenesis in different stages of development using molecular markers. *Electronic Journal of Biotechnology*. 15(4): 2-11.
- Palei, S., Rout, G., Das, A., and Dash, D.. 2017. Callus induction and indirect regeneration of Strawberry (*Fragaria x Ananassa*) Duch. CV. Chandler. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(11): 1311–1318.
- Pardede, Y., Mursyanti, E., dan Sidharta, B.R. 2021. Pengaruh hormon terhadap induksi embrio somatik Kacapiring (*Gardenia jasminoides*) dan potensi aplikasinya dalam pembuatan benih sintetik. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 6(4): 162–177.
- Priadi, D., and Sudarmonowati, E. 2006. Effect of medium composition and explant size on embryogenic calli formation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) local genotypes. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 7(3): 269–272.
- Purba, R. V, Yuswanti, H., dan Astawa, I.N.G. 2017. Induksi kalus eksplan daun tanaman Anggur (*Vitis vinifera* L.) dengan aplikasi 2,4-D secara in vitro. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 6(2): 218–228.
- Purmaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Jurnal Agrobio*. 5(2): 89-95.
- Purmaningsih, R., dan Ashrina, M. 2011. Pengaruh BAP dan NAA terhadap induksi kalus dan kandungan Artemisinin dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi*. 10(4): 481–489.
- Rahman, N., Annur, A., Azizi, A., Hartati, N.S., and Saribanon, N. 2025. Induction and somatic embryo regeneration of four types of cassava using several concentrations of picloram. *Vegetalika*. 14(1): 46–59.
- Rahman, N., Fitriani, H., Rahman, N., and Hartati, N.S. 2021. The influence of various growth regulators on induction organogenic callus from Gajah and Kuning Cassava genotype (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Ilmu Dasar*. 22(2): 119-125.
- Rasud, Y., and Bustaman, B. 2020. In vitro callus induction from Clove (*Syzygium aromaticum* L.) leaves on medium containing various auxin concentrations. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25(1): 67–72.

- Rusdianto, I. 2015. Peningkatan pembentukan embrio somatik pada wortel (*Daucus carota* L) menggunakan N6-benzylaminopurine (BAP). *Jurnal Bionature*. 16 (2): 91–97.
- Sasmita, H.D., Dewanti, P., and Alfian, F.N. 2022. Somatic embryogenesis of *Dendrobium lasianthera* X *Dendrobium antennatum* with the addition of BA and NAA. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 50(2): 201–207.
- Setiawan, K., Dwi Utomo, S., Yeli, F., Syaifudin, A., Surtono, A., dan Purba S. 2023. Pengenalan Varietas ubikayu genjah sebagai alternatif panen muda pada petani dan industri tapioka di Lampung. *Jurnal Pengabdian Fakultas Pertanian Universitas Lampung*. 02(02): 40–48.
- Sholihin. 2022. Vamas 1, a new early root bulking, high-yielding, high-starch content cassava variety. *E3S Web of Conferences*. 3(1): 1–8.
- Simamora, and Restanto, D. 2024 Induction and suspension culture of cassava friable embryogenic callus using local cultivar and different types of auxins. *Agro Bali : Agricultural Journal*. 7(1): 167–178.
- Sualang, H., Lengkong, E.F., and Tumewu, P. 2023. Induction of direct somatic embryogenesis of chrysanthemum in MS and NAA media combined with some cytokinin concentrations. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*. 4(1): 182–190.
- Susanti, I., Suharsono, S., Widyastuti, U., Siregar, U.J., and Tjahjoleksono, A. 2017. Optimization of somatic embryogenesis induction of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Annales Bogorienses*. 21(2): 45.
- Syombua, E., Wanyonyi, C., Adero, M., Mbinda, W., Ngugi, M., Alakonya, A.E., and Oduor, R. 2019. Explant type and hormone regime influences somatic embryogenesis and regeneration in cassava. *African Journal of Biotechnology*. 18(25): 532–539.
- Taryono. 2018. *Pengantar Bioteknologi untuk Pemuliaan Tanaman*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 68 hlm.
- Teresia, N., Zakiah, Z., dan Turnip, M. 2024. Induksi kalus dari hipokotil Belimbing Merah (*Baccaurea angulata*) dengan penambahan 2,4-D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid*) dan BAP (6-Benzyl Amino Purin). *Jurnal Biologi Tropis*. 24(1): 194–203.
- Thamrin Muhammad, A.M. dan Marpaung, S.E. 2013. Analisis usahatani ubi kayu (*Manihot utilisima*). *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9): 1689–1699.

- Tu, M., Hurd, C., Randall, J.M., Tu, M., Hurd, C., and Randall, J.M.; 2001. *Weed Control Methods Handbook: Tools & Techniques*. The Nature Conservancy . Virginia.
- Ulfa, M.B. 2011. *Penggunaan 2,4-d Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah*. Media Litbang Sulawesi Tengah. 4(2): 137- 147.
- Utami, P. and Iskandar, S.S. 2018. Effect of plant growth hormone IAA and Biourine Cow on the growth of. *Agrium*. 21(2): 173-177.
- 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*. 21(1): 1–9.
- 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 (*Cucurma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 5(1): 140–149.
- Wijawati, N., Habibah, N.A., Musafa, F., Mukhtar, K., Anggraito, Y.U., dan Widiatningrum, T. 2019. Pertumbuhan kalus Rejasa (*Elaeocarpus grandiflorus*) dari eksplan tangkai daun pada kondisi gelap. *Life Science*. 8(1): 17–24.
- Yachya, A.P.S., dan Andriani, V. 2022. Tanaman pada guru Mgmp biologi SMA Se-Jawa Timur. *Jurnal Penamas Adi Buana*. 6(1): 31–36.
- Yang, X., Yang, X., Guo, T., Gao, K., Zhao, T., Chen, Z., and An, X. 2018. High-efficiency somatic embryogenesis from seedlings of *Koeleruteria paniculata* Laxm. *Forests*. 9(12): 2-17.
- Yelli, F., Titin, A., Utomo, S.D., and Pathak, A. 2023. Somatic embryogenesis in two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Notulae Botanicae Agrobotanici Cluj-Napoca*. 51(1): 1-13.
- Yelnititis. 2020. Embryogenic callus and somatic embryo induction from leaf explant of Kulim (*Scorodocarpus borneensis* Becc.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 14(2): 75–83.
- 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.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara in Vitro*. Agromedia. Jakarta. 103 hlm.

- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi untuk Menunjang Pembangunan Pertanian*. Penerbit Aura Publishing. Lampung. 86 hlm.
- Zhang, J., Gai, M.Z., Li, X.Y., Li, T.L. & Sun, H.M. 2016. Somatic embryogenesis and direct as well as indirect organogenesis in *Lilium pumilum* DC. Fisch., an endangered ornamental and medicinal plant. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 80(10): 1898–1906.
- Zuyasna, Hafsah, S., Fajri, R., Styahputra, M.O., and Ramadhan, G. 2012. The effect of picloram concentrations and explants types on the induction of somatic embryo on North Aceh Cocoa genotype. *Proceedings of the 2nd Annual Internatioal Conference Syiah Kuala Univercity*. 11(1): 1–14

