

**TEKNOLOGI PERBANYAKAN UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz)
VARIETAS WAXY MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK
MENGUNAKAN DUA JENIS EKSPLAN
DAN BEBERAPA MEDIA INDUKSI**

Skripsi

Oleh

**Erina Nurhidayah
2114121003**



**JURUSAN AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

TEKNOLOGI PERBANYAKAN UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS WAXY MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK MENGUNAKAN DUA JENIS EKSPLAN DAN BEBERAPA MEDIA INDUKSI

Oleh

ERINA NURHIDAYAH

Ubi Kayu Varietas Waxy memiliki kadar amilosa 0% dan kadar pati tinggi, sehingga cocok dijadikan bahan dasar produk pangan seperti beras analog. Kultur jaringan menjadi solusi efektif untuk memperbanyak tanaman dalam jumlah banyak dan bebas penyakit dalam waktu yang lebih singkat. Embriogenesis somatik merupakan salah satu cara yang digunakan dalam kultur jaringan. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh jenis eksplan dan media induksi terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Waxy. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 2 x 5 dengan 4 ulangan sehingga diperoleh 40 satuan percobaan dan diuji lanjut menggunakan BNJ 5%. Faktor pertama adalah jenis eksplan yaitu daun pucuk (E1) dan *internode* (E2). Faktor kedua adalah media induksi yaitu MS + NAA 6 mg/L (M0), MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L (M1), MS + Picloram 12 mg/L + NAA 0 mg/L (M2), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L (M3), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L (M4). Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan *internode* membentuk kalus lebih cepat yaitu pada 9,21 hsi. Eksplan daun pucuk menghasilkan bobot kalus tertinggi pada media MS + NAA 6 mg/L (13,45 mg) serta persentase eksplan berkalus pada media MS + NAA 6 mg/L dan MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L mencapai 100%. Jenis eksplan dan media induksi terbaik yaitu eksplan daun pucuk pada media MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L yang mampu menghasilkan embrio somatik dengan persentase 51,61% dan rerata jumlah embrio sebanyak 7,50 embrio.

Kata kunci: Embrio Somatik, Kalus Primer, Picloram, Ubi Kayu, 2,4-D

ABSTRACT

PROPAGATION TECHNOLOGY OF CASSAVA (*Manihot esculenta* Crantz) WAXY VARIETY THROUGH SOMATIC EMBRYOGENESIS USING TWO TYPES OF EXPLANTS AND SEVERAL INDUCTION MEDIA

By

ERINA NURHIDAYAH

The Waxy Cassava Variety has an amylose content of 0% and a high starch content, making it suitable as a raw material for food products such as analog rice. Tissue culture is an effective solution for mass propagation of disease free plants in a shorter period. Somatic embryogenesis is one of the methods employed in tissue culture. This study aimed to determine the effect of explant type and induction media on primary callus and somatic embryo formation in the Waxy Cassava Variety. This study employed a 2 x 5 factorial Completely Randomized Design (CRD) with 4 replications, resulting in 40 experimental units and was further analyzed using 5% HSD test. The first factor was the explant type, consisting of shoot leaf explant (E1) and internode (E2). The second factor was the induction media: MS + NAA 6 mg/L (M0), MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L (M1), MS + Picloram 12 mg/L + NAA 0 mg/L (M2), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L (M3), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L (M4). The results showed that internode explants formed callus more rapidly, with an average of 9,21 dai. Shoot leaf explants produced the highest callus weight on medium MS + NAA 6 mg/L (13,45 mg) and the percentage of explants forming callus reached 100% on both MS + NAA 6 mg/L and MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L. The best explant type and induction medium combination was shoot leaf explants cultured on MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L which produced somatic embryos with a percentage of 51,61% and an average of 7,50 embryos.

Keywords: *Cassava, Picloram, Primary Callus, Somatic Embryo, 2,4-D*

**TEKNOLOGI PERBANYAKAN UBI KAYU (*Manihot esculenta* Crantz)
VARIETAS WAXY MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK
MENGUNAKAN DUA JENIS EKSPLAN
DAN BEBERAPA MEDIA INDUKSI**

Oleh

ERINA NURHIDAYAH

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

: **TEKNOLOGI PERBANYAKAN UBI KAYU
(*Manihot esculenta* Crantz) VARIETAS WAXY
MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK
MENGUNAKAN DUA JENIS EKSPLAN
DAN BEBERAPA MEDIA INDUKSI**

Nama Mahasiswa

: **Erina Nurhidayah**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2114121003

Jurusan

: Agroteknologi

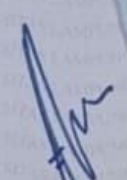
Fakultas

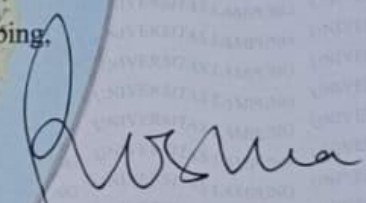
: Pertanian



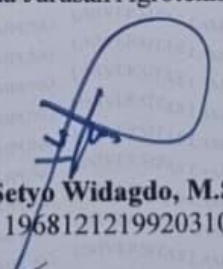
MENYETUJUI:

1. **Komisi Pembimbing.**


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


Prof. Dr. Ir. Rosma Hasibuan, M.Sc.
NIP 195808281983032003

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 : Prof. Dr. Ir. Rosma Hasibuan, M.Sc.

Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Sri Ramadiana, S.P., M.Si.

2. Dekan Fakultas Pertanian,



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 16 Juni 2025

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Teknologi Perbanyakan Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Varietas Waxy melalui Embriogenesis Somatik Menggunakan Dua Jenis Eksplan dan Beberapa Media Induksi” merupakan hasil karya saya sendiri bukan karya orang lain. Adapun bagian-bagian tertentu pada skripsi ini, saya kutip dari karya orang lain dan telah saya tuliskan sumbernya secara jelas sesuai kaidah, norma, dan etika penulisan karya tulis ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terdapat temuan bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan sanksi akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 16 Juni 2025
Penulis,



Erina Nurhidayah
NPM 2114121003

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Erina Nurhidayah lahir di Sumber Rejo pada 23 Januari 2003. Penulis merupakan anak tunggal dari pasangan Bapak Sidik Haryadi dan Ibu Sukamti. Penulis bertempat tinggal di Desa Sumber Rejo, Kecamatan Kota Gajah, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Penulis telah menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN 1 Purworejo (2009-2015), lalu melanjutkan pendidikan menengah di SMPN 2 Kota Gajah (2015-2018), dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Kota Gajah (2018-2021). Penulis melanjutkan pendidikan Strata 1 di Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN pada 2021.

Penulis aktif dalam organisasi Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (PERMA AGT), Fakultas Pertanian, Universitas Lampung sebagai Anggota Bidang Penelitian dan Pengembangan Keilmuan Perma AGT periode 2023 dan sebagai Sekretaris Bidang Dana dan Usaha PERMA AGT periode 2024. Selain itu, penulis juga aktif dalam organisasi UKM Penelitian Universitas Lampung sebagai Anggota Departemen Hubungan Luar dan Pengabdian Masyarakat (HLPM) periode 2022 dan sebagai Bendahara Departemen Dana dan Usaha periode 2023. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Rajabasa, Kecamatan Rajabasa, Kabupaten Lampung Selatan pada Januari-Februari 2024. Penulis melaksanakan program Praktik Umum (PU) di Balai Pengujian Standar Instrumen Tanaman Rempah, Obat, dan Aromatik (BPSI- TROA) Bogor pada Juli-Agustus 2024.

PERSEMBAHAN

Karya ini aku persembahkan untuk kedua orang tua tercinta Bapak Sidik Haryadi dan Ibu Sukamti yang senantiasa selalu mendoakanku, mendukung, memberikan nasihat, pendidikan, kasih sayang, dan motivasi untuk selalu berusaha

Almamater Tercinta Universitas Lampung

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum, sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri”
(QS. Ar-Rad: 11)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”
(QS. Al-Baqarah: 216)

“Ketekunan membawa hasil yang jauh lebih baik daripada bakat semata”
(Steve Jobs)

“Compete with yourself, not with others”
(Erina Nurhidayah)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul **“Teknologi Perbanyakan Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Varietas Waxy melalui Embriogenesis Somatik Menggunakan Dua Jenis Eksplan dan Beberapa Media Induksi”** yang merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pertanian di Universitas Lampung.

Pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari adanya bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
- (2) Bapak Ir. Setyo Widagdo, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
- (3) Ibu Fitri Yelli, S.P., M.Si., Ph.D., selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dalam membimbing, memberikan ide, saran, arahan, nasihat, dan semangat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik;
- (4) Ibu Prof. Dr. Ir. Rosma Hasibuan, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Kedua yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasihat, semangat, dan saran selama masa perkuliahan sampai skripsi ini mampu diselesaikan dengan baik;
- (5) Ibu Dr. Sri Ramadiana, S.P., M.Si., selaku Penguji yang telah memberikan saran dan masukan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;

- (6) Orang Tua Tercinta: Bapak Sidik Haryadi dan Ibu Sukamti yang selalu memberikan doa, kasih sayang, dukungan, dan motivasi kepada penulis;
- (7) Keluarga besar Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung: Ibu Hayane Adeline Warganegara, S.P., M.Si., Bang Sakti, Mba Nilen, Mba Indah, Galuh Putri Ning Dyas Tomi, Sela Rahmawati, Lia Rezawati, Tri Aprilia Rahmawati, Lutfiyana Lailatul Izah, Annisa Lathifah, Seri Wahyuni, Aqifah Mazziyah Ajrani, Najwa, Kayla, Dhania, Destari, dan Naufal yang telah memberikan dukungan, semangat, dan bantuan selama masa penelitian hingga selesai;
- (8) Sahabat penelitian: Dini Nur Safitri dan Winda Apriyanti yang telah memberikan bantuan, dukungan, semangat, dan selalu bersama penulis dalam berjuang untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi;
- (9) Teman-teman terdekat penulis: Dini Nur Safitri, Marfu'ah Aria Wardani, Wahyuni Setiyaningsih, Setya Ningrum, Shinta Puspita Sari, dan Puji Rahayu yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis;
- (10) Keluarga Besar Agroteknologi Angkatan 2021 tercinta yang kebersamaan penulis selama masa perkuliahan.

Semoga bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis menjadi pahala dan mendapatkan balasan dari Allah SWT. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat baik bagi penulis ataupun pembaca.

Bandar Lampung, 16 Juni 2025
Penulis,



Erina Nurhidayah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Kerangka Pemikiran.....	7
1.6 Hipotesis.....	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Tanaman Ubi Kayu	10
2.2 Perbanyak Ubi Kayu	12
2.2 Kultur Jaringan.....	12
2.3 Embriogenesis Somatik	14
2.4 Media Kultur	15
2.5 Eksplan.....	17
2.6 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).....	18
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	21
3.1 Waktu dan Tempat.....	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.3 Metode Penelitian	21
3.4 Pelaksanaan Penelitian	22
3.4.1 Penyiapan Bahan Tanam	22
3.4.2 Sterilisasi Alat	23
3.4.3 Pembuatan Media.....	24

3.4.4 Sterilisasi Media.....	27
3.4.5 Penanaman Eksplan	28
3.5 Variabel Penelitian	29
3.5.1 Variabel Kualitatif.....	30
3.5.2 Variabel Kuantitatif.....	32
3.6 Analisis Data	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil	34
4.1.1 Hasil Pengamatan Kualitatif	34
4.1.2 Hasil Pengamatan Kuantitatif	40
4.2 Pembahasan.....	48
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	56
5.1 Simpulan	56
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Media Murashige dan Skoog (1962).....	26
2. Jenis Media Induksi Kalus Primer dan Media Maturasi Embrio.....	27
3. Deskripsi dan Skoring Warna Kalus Ubi Kayu Varietas Waxy	30
4. Deskripsi dan Skoring Struktur Kalus Ubi Kayu Varietas Waxy	31
5. Pengaruh Eksplan dan Media Induksi terhadap Warna Kalus Ubi Kayu Varietas Waxy.....	35
6. Pengaruh Eksplan dan Media Induksi terhadap Struktur Kalus Ubi Kayu Varietas Waxy.....	36
7. Rekapitulasi Analisis Ragam Pengaruh Eksplan Ubi Kayu Varietas Waxy dan Media Induksi terhadap Induksi Kalus Primer dan Embrio Somatik.....	41
8. Pengaruh Eksplan Ubi Kayu Varietas Waxy dan Media Induksi terhadap Persentase Eksplan Berkalus.....	44
9. Pengaruh Media Induksi terhadap Bobot Kalus Primer Ubi Kayu Varietas Waxy.....	46
10. Pengaruh Eksplan Ubi Kayu Varietas Waxy dan Media Induksi terhadap Persentase Kalus Berembrio	47
11. Pengaruh Eksplan Ubi Kayu Varietas Waxy dan Media Induksi terhadap Jumlah Embrio Somatik.....	48
12. Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Waktu Muncul Kalus Primer.....	66
13. Uji Homogenitas Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Waktu Muncul Kalus Primer.....	67
14. Analisis Ragam Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Waktu Muncul Kalus Primer.....	68
15. Data Transformasi \sqrt{x} Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Bobot Kalus Primer.....	68

16. Uji Homogenitas Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Bobot Kalus Primer.....	69
17. Analisis Ragam Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Bobot Kalus Primer.....	69
18. Data Transformasi $\sqrt{x} + 0,5$ Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Persentase Eksplan Berkalus.....	70
19. Uji Homogenitas Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Persentase Eksplan Berkalus.....	71
20. Analisis Ragam Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Persentase Eksplan Berkalus.....	72
21. Data Transformasi $\sqrt{x} + 0,5$ Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Persentase Kalus Berembrio	72
22. Uji Homogenitas Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Persentase Kalus Berembrio	73
23. Analisis Ragam Pengaruh Jenis Eksplan dan Media Induksi terhadap Persentase Kalus Berembrio	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur kerangka pemikiran embriogenesis somatik Ubi Kayu Varietas Waxy.....	9
2. Fase perkembangan embrio somatik (Purnamaningsih, 2002)	14
3. Fase embrio somatik (Hapsoro dan Yusnita, 2018).....	31
4. Visualisasi kalus: (a) kalus primer pada media kontrol yang membentuk akar, (b) kalus embriogenik, dan (c) kalus primer nonembriogenik.....	38
5. Fase perkembangan embrio somatik Ubi Kayu Varietas Waxy: (a) fase globular, (b) fase hati, (c) fase torpedo, dan (d) fase kotiledon.....	38
6. Perkembangan umum eksplan <i>internode</i> Ubi Kayu Varietas Waxy: (a) eksplan <i>internode</i> dan (b) kalus primer <i>internode</i> yang terbentuk pada 2 msi	39
7. Perkembangan umum eksplan daun pucuk Ubi Kayu Varietas Waxy: (a) eksplan daun pucuk, (b) kalus primer yang terbentuk pada daun pucuk, (c) embrio somatik pada kalus embriogenik, (d) <i>green cotyledon</i> , (e) tunas Ubi Kayu Varietas Waxy, dan (f) planlet Ubi Kayu Varietas Waxy	40
8. Pengaruh eksplan terhadap waktu muncul kalus primer Ubi Kayu Varietas Waxy.....	42
9. Pengaruh eksplan terhadap persentase eksplan berkalus Ubi Kayu Varietas Waxy.....	43
10. Pengaruh eksplan terhadap bobot kalus primer Ubi Kayu Varietas Waxy	45

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu tanaman pangan penting yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Indonesia menjadi produsen ubi kayu terbesar keempat di dunia setelah Brazil, Thailand, dan Nigeria (Ardyani *et al.*, 2022). Produksi ubi kayu di Indonesia dapat mencapai 16,76 juta ton dengan luas lahan yang mencapai 618,27 ribu hektar pada tahun 2023. Pada 2018-2022, Provinsi Lampung menjadi produsen ubi kayu terbesar di Indonesia. Produksi ubi kayu Provinsi Lampung mencapai 7,2 juta ton dengan luas panen 262.270 hektar (Kementerian Pertanian, 2023).

Ubi Kayu Varietas Waxy adalah salah satu varietas yang banyak dibudidayakan di Provinsi Lampung. Menurut Ceballos *et al.* (2007), Ubi Kayu Varietas Waxy memiliki kandungan amilosa sebesar 0,0%, yang berarti tidak mengandung amilosa sama sekali. Sebaliknya, ubi kayu biasa memiliki kadar amilosa cukup tinggi yaitu sekitar 19%. Rendahnya kandungan amilosa ini menjadi salah satu keunggulan utama Ubi Kayu Varietas Waxy sebagai bahan baku berbagai produk olahan. Salah satu pemanfaatannya adalah sebagai bahan dasar pembuatan beras analog. Beras analog yang menggunakan Ubi Kayu Varietas Waxy sebagai bahan dasarnya adalah beras siger. Menurut penelitian Rasyid *et al.* (2019), beras siger yang terbuat dari Ubi Kayu Varietas Waxy memiliki karakteristik berwarna putih, tekstur nasi yang pulen, aroma netral, dan disukai panelis. Beras dengan kadar amilosa rendah umumnya memiliki tekstur yang lebih pulen (Wang *et al.*, 2013).

Karakteristik Varietas Waxy yaitu pucuk daun berwarna hijau terang, permukaan tangkai daun berwarna hijau kemerahan, batang berwarna cokelat, dan umbinya berwarna merah muda. Varietas ini termasuk ke dalam varietas elit ubi kayu yang di introduksi dari Thailand dan varietas ini juga digunakan untuk industri tepung tapioka karena mengandung kadar pati yang tinggi. Menurut Anggraini *et al.* (2021), Varietas Waxy memiliki kadar pati yang dapat mencapai 12,72%.

Tanaman ubi kayu memiliki banyak sekali manfaat. Bagian-bagian dari ubi kayu seperti umbi, batang, dan daunnya dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan di bidang pangan maupun industri. Bagian batang ubi kayu dapat dimanfaatkan untuk digunakan sebagai sumber bibit. Daun ubi kayu dapat diolah sebagai makanan, bahan farmasi, dan pakan ternak. Sementara itu, daging ubi kayu dapat diolah menjadi makanan, tepung tapioka, perekat, bioethanol, dan plastik *biodegradable* (Hapijah *et al.*, 2020). Selain itu, limbah hasil pengolahan ubi kayu dapat dimanfaatkan untuk pembuatan pupuk organik yang dapat mendukung praktik pertanian berkelanjutan. Produk olahan dari ubi kayu juga seperti bioetanol dapat berkontribusi dalam pengurangan ketergantungan terhadap bahan bakar fosil melalui pemanfaatannya sebagai sumber energi terbarukan. Banyaknya manfaat yang diperoleh dari ubi kayu, sehingga dapat meningkatkan kebutuhan bibitnya, terutama bibit unggul.

Pengembangan ubi kayu dengan metode konvensional mengalami beberapa hambatan seperti keterbatasan jumlah bahan tanam (Sessou *et al.*, 2020). Ketersediaan bahan tanam yang tidak konsisten dan produktivitas yang rendah karena bibit unggul yang tersedia sedikit dalam jumlah yang terbatas sehingga dapat menghambat keberlanjutan pasokan bagi bidang industri yang membutuhkan jumlah bahan tanam dalam skala besar. Selain itu, ubi kayu yang diperbanyak melalui setek batang mempunyai potensi untuk menularkan penyakit dari tanaman induknya. Maka dari itu, diperlukan upaya untuk menghasilkan tanaman ubi kayu dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat.

Perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan sudah dilakukan pada beberapa tanaman lain, seperti pisang, anggrek, krisan, stroberi, tebu, dan lain-lain. Kultur jaringan dapat mengatasi kendala yang dihadapi pada perbanyakan tanaman konvensional. Teknik ini dilakukan dengan mengisolasi bagian tanaman, seperti daun, mata tunas, atau sel lalu menumbuhkannya dalam media buatan yang kaya akan nutrisi dan zat pengatur tumbuh (Kurnianingsih *et al.*, 2020). Proses ini dilakukan secara aseptik di dalam wadah transparan tertutup, sehingga bagian tanaman tersebut dapat berkembang biak dan beregenerasi menjadi tanaman utuh. Teknik kultur jaringan memiliki beberapa keunggulan, diantaranya produksi bibit tidak bergantung pada musim, bibit dapat dihasilkan dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat, dan bibit yang dihasilkan bersifat seragam serta bebas dari penyakit.

Perbanyakan tanaman dengan metode kultur jaringan dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu organogenesis, embriogenesis, dan *axillary branching*. Menurut Hapsoro (2019), organogenesis merupakan proses pembentukan tanaman baru yang berasal dari bagian tanaman yang tidak memiliki jaringan meristem, seperti tunas. Eksplan yang dapat digunakan mencakup potongan daun, cabang, hipokotil, epikotil, kotiledon, dan lainnya. Sementara itu, embriogenesis somatik merupakan proses yang merangsang eksplan untuk menghasilkan embrio yang dapat disebut dengan embrio somatik karena berasal dari sel-sel somatik. *Axillary branching* merupakan metode yang memanfaatkan batang atau cabang yang mengandung mata tunas atau meristem ujung untuk diregenerasi menjadi tanaman baru.

Embriogenesis somatik merupakan salah satu metode perbanyakan dalam kultur jaringan. Embriogenesis somatik adalah proses pembentukan embrio dari sel-sel somatik yang berasal dari jaringan tumbuhan yang digunakan sebagai eksplan. Perkembangan embriogenesis somatik melalui empat fase yaitu fase globular, fase hati, fase torpedo, dan fase kotiledon (Saepudin *et al.*, 2016). Embrio somatik dapat terbentuk secara langsung maupun tidak langsung. Pada embriogenesis somatik langsung, embrio terbentuk langsung dari sel pre-embriogenik dalam

jaringan somatik. Sementara itu, pada embriogenesis somatik tidak langsung, jaringan sel somatik terlebih dahulu dirangsang untuk membentuk kalus yang kemudian berkembang menjadi embrio (Ibrahim *et al.*, 2018). Menurut Adhinugraha (2024), perbanyakan tanaman melalui embriogenesis somatik memiliki beberapa keunggulan seperti mampu menghasilkan bibit dalam jumlah besar dengan tingkat keseragaman tinggi dalam waktu singkat, menghasilkan bibit bebas penyakit, memperbanyak spesies yang sulit berakar, dan dapat digunakan sebagai target untuk transfer gen.

Pemilihan jenis eksplan, jenis auksin, dan konsentrasi auksin merupakan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi embriogenesis somatik ubi kayu (Mongomake *et al.*, 2015). Eksplan dalam kultur jaringan berasal dari bagian tanaman yang masih aktif melakukan pembelahan sel, seperti jaringan meristem. Macam-macam eksplan yang digunakan yaitu daun pucuk, petiol, batang, akar, *internode*, dan *Immature Leaf Lobes* (ILL). Nugroho (2017) menggunakan eksplan daun muda, tunas pucuk, dan petiol untuk menginduksi terbentuknya embrio somatik dari Ubi Kayu Genotipe UJ-5. *Internode* merupakan ruas batang yang juga dapat digunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan ubi kayu. Chauhan dan Taylor (2018) dalam penelitiannya menggunakan daun, petiol, dan *internode* sebagai eksplan ubi kayu.

Banyak penelitian telah mengkaji mengenai embriogenesis ubi kayu pada berbagai varietas ubi kayu dengan memanfaatkan zat pengatur tumbuh (ZPT). Zat pengatur tumbuh tanaman memiliki peran yang penting dalam mengendalikan proses biologis di dalam jaringan tanaman. Fungsinya meliputi pengaturan kecepatan pertumbuhan pada setiap jenis jaringan serta mengintegrasikan berbagai bagian tersebut untuk membentuk struktur yang dikenal sebagai tanaman (Lestari, 2011). Jenis ZPT terdiri dari auksin, sitokinin, giberelin, etilen, dan asam absisat. Untuk menginduksi kalus embriogenik secara umum menggunakan auksin yang mempunyai aktifitas kuat atau dengan konsentrasi tinggi. Auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus adalah picloram, 2,4 *Dichlorophenoxyacetic Acid* (2,4-D), dan *Naphthalene Acetic Acid* (NAA).

Zat pengatur tumbuh picloram dan 2,4-D berperan dalam menginduksi kalus pada kultur jaringan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yelli *et al.* (2023), penggunaan picloram konsentrasi (0, 7,5, 10, 12,5, 15) mg/L dengan penambahan NAA pada tahap induksi kalus Ubi Kayu Klon UJ-3 dan BW-1 dapat menghasilkan persentase embrio somatik $85.19 \pm 3.70\%$ hingga $96.30 \pm 3.70\%$. Danso *et al.* (2010) menyatakan bahwa penambahan picloram 16 mg/L pada Ubi Kayu Klon ADI 001 dapat menghasilkan embrio somatik sebanyak 7,4 embrio. Menurut Nugroho (2017), penambahan 2,4-D 8 mg/L pada Ubi Kayu Klon UJ-5 dapat menghasilkan persentase embrio somatik hingga 41,7% yang diperoleh dari eksplan daun.

Penambahan zat pengatur tumbuh NAA dalam kultur jaringan berfungsi untuk mendorong pertumbuhan kalus dan akar, merangsang pembelahan serta pemanjangan sel dan organ, serta dapat memperkuat dominansi apikal. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hardjo (2018), penggunaan auksin dengan konsentrasi yang lebih rendah yaitu 0,01 mg/L NAA, menghasilkan jumlah embrio somatik yang lebih banyak, mencapai 90% kalus dalam waktu 35 hari. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan NAA pada konsentrasi 0,05 mg/L yang tidak diturunkan, yang dikombinasikan dengan 0,01 mg/L sitokinin BAP pada proses embriogenesis somatik anggrek *Vanda tricolor* (Lindl.). Menurut Beyene *et al.* (2010), penggunaan Media MS yang diperkaya dengan BAP 0,5 mg/L, NAA 0,01 mg/L, dan GA3 1 mg/L mampu menghasilkan jumlah tunas yang melimpah pada dua kultivar ubi kayu asal Ethiopia.

Penelitian ini dilakukan untuk menginduksi kalus tanaman Ubi Kayu Varietas Waxy. Eksplan yang digunakan yaitu daun pucuk dan *internode* yang diinduksi pada media yang mengandung tambahan picloram dan 2,4-D. Penelitian ini diharapkan dapat mengidentifikasi media induksi yang optimal untuk pembentukan kalus pada Ubi Kayu Varietas Waxy melalui penggunaan picloram dan 2,4-D.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu menghasilkan protokol embriogenesis somatik pada Ubi Kayu Varietas Waxy dengan menggunakan dua jenis eksplan yang berbeda sehingga dapat memenuhi kebutuhan bibit unggul ubi kayu bagi industri pangan dalam waktu singkat.

1.5 Kerangka Pemikiran

Ubi kayu merupakan salah satu tanaman pangan yang memiliki potensi tinggi untuk memenuhi berbagai keperluan di bidang pangan maupun industri. Akan tetapi, kurang tersedianya jumlah bahan tanam ubi kayu dapat menyebabkan penurunan produksi. Hal tersebut dapat disebabkan oleh ketersediaan bahan tanam yang tidak konsisten dan produktivitas yang rendah karena bibit unggul yang tersedia sedikit dalam jumlah yang terbatas sehingga dapat menghambat keberlanjutan pasokan bagi bidang industri yang membutuhkan jumlah bahan tanam dalam skala besar. Perbanyakan bibit ubi kayu dapat dilakukan secara konvensional maupun nonkonvensional. Perbanyakan tanaman secara konvensional melalui setek memiliki beberapa kendala seperti ketersediaan pohon induk yang terbatas, ketidakseragaman bibit, dan berpotensi menularkan penyakit dari tanaman induknya. Oleh karena itu, perbanyakan secara vegetatif nonkonvensional menggunakan teknik kultur jaringan dengan embriogenesis somatik dapat mengatasi kendala ini.

Embriogenesis somatik adalah teknik mikropropagasi *in vitro* yang mampu menghasilkan anakan yang seragam dalam jumlah besar. Proses ini memerlukan sel target yang berupa embrio somatik. Embrio somatik berasal dari satu sel dan memiliki sifat yang sama persis dengan induknya. Tahap perkembangan embrio somatik melewati fase globular berbentuk bulat, fase hati berbentuk hati, fase torpedo, dan fase kotiledon (Novita, 2023). Pada penelitian ini menggunakan embriogenesis somatik tidak langsung, di mana eksplan membentuk kalus yang kemudian berkembang menjadi sel embriogenik.

Induksi embriogenesis somatik membutuhkan ZPT (zat pengatur tumbuh) seperti picloram dan 2,4 *dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) yang dapat membantu dalam pembentukan kalus dan embrio somatik. Penambahan picloram dan 2,4-D dalam media kultur dapat meningkatkan pertumbuhan kalus. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fletcher *et al.* (2011), penambahan 2,4-D 8 mg/L dapat menghasilkan persentase kalus tertinggi pada Ubi Kayu Klon Afebankye sebesar

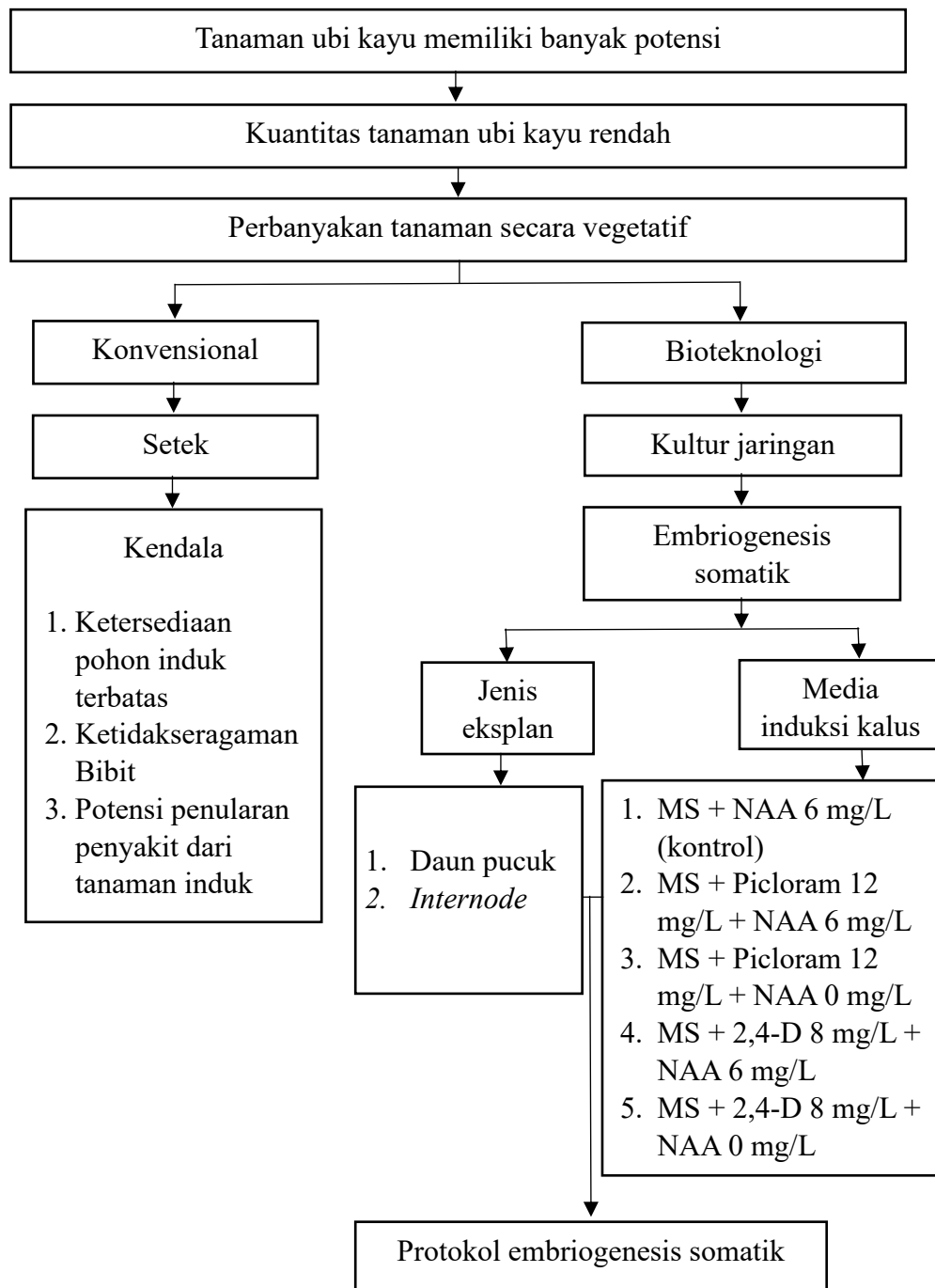
75%. Menurut penelitian Susanti *et al.* (2017), penggunaan picloram 12 mg/L mampu menghasilkan frekuensi total embrio somatik pada Ubi Kayu Klon Adira 4 sebesar 37,5%, lebih tinggi dibandingkan pada perlakuan lainnya.

Embriogenesis juga dipengaruhi oleh jenis eksplan yang digunakan. Pada penelitian ini, digunakan Ubi Kayu Varietas Waxy dengan jenis eksplan daun pucuk dan *internode*. Rahman *et al.* (2021) melakukan penelitian menggunakan eksplan daun muda dan petiol untuk menginduksi kalus dari Ubi Kayu Gajah dan Kuning. Chauhan dan Taylor (2018) dalam penelitiannya menggunakan daun, petiol, dan *internode* sebagai eksplan ubi kayu. Eksplan yang disubkultur pada berbagai media induksi diharapkan dapat menginduksi kalus dan embriogenesis somatik ubi kayu sehingga akan diperoleh protokol embriogenesis somatik. Alur kerangka pemikiran embriogenesis somatik Ubi Kayu Varietas Waxy disajikan pada Gambar 1.

1.6 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

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



Gambar 1. Alur kerangka pemikiran embriogenesis somatik Ubi Kayu Varietas Waxy.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Ubi Kayu

Ubi kayu merupakan salah satu tanaman pangan yang diperkirakan berasal dari Amerika Selatan dan kemudian menyebar ke Asia dan Afrika. Ubi kayu berpotensi untuk mengatasi masalah kekurangan pangan karena tanaman ini dapat diolah menjadi makanan, lebih dari 800 juta orang di seluruh dunia menjadikan ubi kayu sebagai makanan pokok (Otun *et al.*, 2023). Adapun taksonomi dari ubi kayu adalah sebagai berikut: Kingdom: Plantae; Divisi: Spermatophyta; Kelas: Dicotyledoneae; Ordo: Malpighiales; Famili: Euphorbiaceae; Genus: Manihot; Spesies: *Manihot esculenta* L. (Sastrahidayat, 2017).

Ubi kayu adalah tumbuhan dengan batang pohon lunak atau getas yang mudah patah. Ubi kayu adalah tumbuhan yang tinggi dengan batang bulat dan bergerigi yang terdiri dari bekas pangkal tangkai daun yang bergabus di bagian tengahnya. Batang ubi kayu berbentuk silinder dengan diameter 2-6 cm dan dapat mencapai ketinggian antara 1 hingga 4 meter. Kulit batang berwarna putih, abu-abu, atau cokelat kemerahan. Daun ubi kayu memiliki tangkai panjang, helaian daun mirip telapak tangan, dan memiliki 3-8 lembar daun per tangkai. Tangkai daun tersebut berwarna kuning, hijau, atau merah (Mustikarini *et al.*, 2019).

Ubi kayu tumbuh di wilayah yang terletak di antara 30° lintang selatan dan 30° lintang utara, yaitu di daerah yang memiliki suhu rata-rata di atas 18 °C dan curah hujan tahunan lebih dari 500 mm. Tanaman ubi kayu mampu bertahan hingga ketinggian 2.000 meter di atas permukaan laut (mdpl) atau di wilayah subtropis dengan suhu rata-rata 16 °C. Pada ketinggian hingga 300 mdpl tanaman ubi kayu

dapat menghasilkan umbi dengan baik, meskipun tidak dapat berbunga. Namun, pada ketinggian sekitar 800 mdpl tanaman ubi kayu dapat menghasilkan bunga dan biji (Mustikarini *et al.*, 2019).

Ubi kayu dapat diolah menjadi berbagai produk, salah satunya adalah tepung tapioka yang sering digunakan dalam industri makanan. Berdasarkan kandungan asam sianida (Hidrosianida atau HCN), ubi kayu dibagi menjadi dua jenis yaitu ubi kayu pahit dan ubi kayu manis. Ubi kayu pahit memiliki kandungan HCN lebih dari 50 mg/kg umbi segar, sedangkan ubi kayu manis atau tidak pahit memiliki kandungan HCN lebih rendah sekitar 40 mg/kg umbi segar. Meskipun ubi kayu mengandung senyawa Hidrosianida yang beracun, pengolahan yang tepat seperti perendaman, pemasakan, atau fermentasi dapat menurunkan kadar racunnya sehingga aman dikonsumsi (Indra, 2019).

Ketersediaan ubi kayu pada umumnya masih kurang mencukupi untuk memenuhi permintaan yang terus meningkat di bidang industri sehingga diperlukan pengembangan dan penyediaan ubi kayu unggul. Menurut Wokanubun *et al.* (2020), varietas unggul memiliki kelebihan dalam hal produktivitas, ketahanan terhadap hama dan penyakit, serta adaptasi yang lebih baik terhadap berbagai kondisi lingkungan. Ubi kayu varietas unggul yang banyak dibudidayakan petani Indonesia yaitu Adira 1 (1978), Malang 1 (1992), Malang 2 (1992), Darul Hidayah (1998), Adira 2 (1978), Adira 4 (1987), UJ-3 (2000), UJ-5 (2000), Malang 4 (2001), Malang 6 (2001), Litbang UK-2 (2012), dan UK-1 Agritan (2016).

Ubi Kayu Varietas Waxy merupakan salah satu varietas yang banyak dibudidayakan di Provinsi Lampung. Menurut Nintania *et al.* (2021), Ubi Kayu Varietas Waxy termasuk ke dalam ubi kayu industri dengan kadar HCN mencapai 0,069 mg/g. Karakteristik Varietas Waxy yaitu pucuk daun berwarna hijau terang, permukaan tangkai daun berwarna hijau kemerahan, batang berwarna cokelat, dan umbinya berwarna merah muda. Rata-rata bobot ubi per pohon pada Varietas Waxy mencapai 3,16 kg, lebih tinggi dibandingkan dengan Klon UJ-5. Ubi Kayu

Varietas Waxy mempunyai kadar pati yang mencapai 12,72%, dengan kandungan amilosa yang jauh lebih rendah dibandingkan ubi kayu biasa yaitu 0,0% (Anggraini *et al.*, 2021).

2.2 Perbanyak Ubi Kayu

Tanaman ubi kayu dapat diperbanyak secara generatif maupun vegetatif. Perbanyak ubi kayu secara generatif dilakukan dengan menggunakan biji. Ubi kayu yang diperbanyak melalui metode ini umumnya hanya digunakan dalam skala penelitian atau pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas baru, bukan untuk keperluan budidaya (Haryono *et al.*, 2022). Hal tersebut dikarenakan memerlukan waktu yang lebih lama untuk mencapai fase produktif dan biji ubi kayu seringkali mengalami dormansi (Beyene, 2009).

Perbanyak ubi kayu konvensional secara vegetatif biasanya dilakukan dengan menggunakan setek batang. Bibit yang diperlukan sekitar 10.000 hingga 14.000 setek per hektar untuk menanam ubi kayu secara monokultur. Metode ini mempunyai beberapa kelemahan, antara lain berisiko tinggi dalam menularkan penyakit dari tanaman induk ke tanaman hasil setek, jumlah bibit yang terbatas terutama untuk bibit unggul baru sehingga belum mampu memenuhi kebutuhan petani. Selain itu, prosesnya memerlukan waktu yang lama karena harus menunggu hingga tanaman berumur sekitar 8-12 bulan untuk dipanen dan bibit yang dihasilkan tidak dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama (Yelli *et al.*, 2023). Oleh karena itu, diperlukan upaya serta teknik penanaman yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang lebih cepat.

2.3 Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman, seperti sekelompok sel atau jaringan yang kemudian ditumbuhkan dalam kondisi steril atau aseptik. Teknik ini memungkinkan bagian tanaman tersebut berkembang biak dan tumbuh menjadi tanaman utuh yang memiliki karakteristik

sama dengan induknya. Teknik kultur jaringan dikenal dengan istilah kultur *in vitro*. Istilah ini berarti pertumbuhan dan perkembangan sel, jaringan, atau organ tanaman dilakukan di luar organisme induknya, tepatnya di dalam wadah transparan seperti botol kaca (Harahap *et al.*, 2019).

Prinsip kultur jaringan didasarkan pada teori sel yang dikemukakan oleh Schwann dan Schleiden pada 1838, yang menyatakan bahwa setiap sel tumbuhan memiliki kemampuan untuk mengatur proses fisiologisnya sendiri dan memiliki sifat totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan sel tumbuhan baik sel somatik, vegetatif, maupun gamet untuk beregenerasi menjadi tanaman utuh. Kemampuan ini memungkinkan setiap sel tumbuh dan berkembang dalam kondisi yang sesuai dengan tetap membawa karakteristik induknya. Sifat totipotensi ini lebih banyak terdapat pada bagian tanaman yang masih muda (*juvenile*) dan terutama ditemukan di area meristem sehingga sel, jaringan, atau organ yang digunakan dalam budidaya *in vitro* dapat berkembang sesuai dengan tujuan yang diinginkan (Harahap *et al.*, 2019).

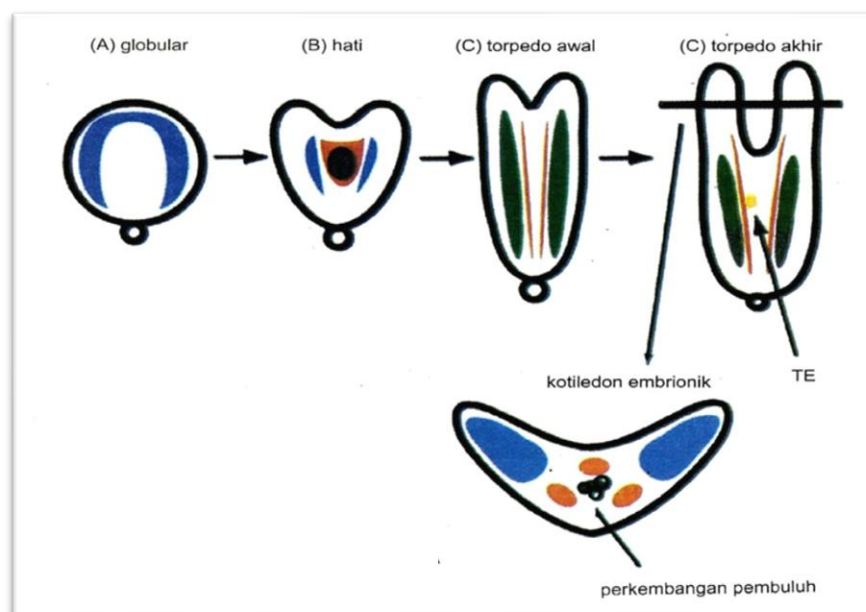
Kelebihan dari kultur jaringan yaitu bibit dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar tanpa memerlukan lahan yang luas, serta mampu memproduksi bibit dalam waktu singkat. Bibit yang dihasilkan juga memiliki sifat identik dengan induknya, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, serta pertumbuhannya lebih cepat dibandingkan dengan metode konvensional. Namun, kultur jaringan juga memiliki kekurangan yaitu biaya yang relatif tinggi sehingga bibit hasil kultur jaringan biasanya lebih mahal dibandingkan bibit dari metode konvensional (Widyastuti dan Deviyanti, 2024). Selain itu, teknik kultur jaringan memerlukan keahlian dan keterampilan khusus.

Pola regenerasi perbanyakan secara *in vitro* melalui tiga pola yaitu *axillary branching*, organogenesis, dan embriogenesis somatik. *Axillary branching* merupakan proses regenerasi melalui percabangan tunas aksilar yang berada di ketiak daun. Organogenesis merupakan proses pembentukan tunas atau akar adventif yang berasal dari jaringan kalus. Proses ini berlangsung setelah masa

dormansi pertumbuhan kalus yaitu di antara tahap penanaman eksplan dan terjadinya induksi organ. Embriogenesis somatik merupakan proses pembentukan embrio yang berasal dari sel-sel vegetatif atau sel somatik yang dapat diperoleh dari berbagai jenis eksplan. Pembentukan dan perkembangan embrio somatik ini terjadi tanpa melalui proses reproduksi seksual (Zulkarnain, 2022).

2.4 Embriogenesis Somatik

Embriogenesis somatik adalah proses pembentukan embrio yang berasal dari sel-sel somatik pada jaringan eksplan. Selama proses ini, sel-sel eksplan mengalami beberapa fase perubahan bentuk yaitu fase globular, fase hati, fase torpedo, hingga fase kotiledon. Embriogenesis somatik dapat terbentuk secara langsung (*direct somatic embryogenesis*) dan secara tidak langsung (*indirect somatic embryogenesis*). Pada embriogenesis somatik langsung, embrio terbentuk langsung dari jaringan eksplan tanpa melalui pembentukan kalus. Sebaliknya, pada embriogenesis somatik tidak langsung, proses dimulai dengan pembentukan kalus diikuti oleh pembentukan embrioid melalui induksi kalus (Adhinugraha, 2024). Fase perkembangan embrio somatik disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Fase perkembangan embrio somatik (Purnamaningsih, 2002).

Tahapan embriogenesis somatik dimulai dengan pemilihan eksplan, yang bisa berupa potongan daun, akar, atau bunga dari tanaman induk. Eksplan kemudian disterilisasi untuk mencegah kontaminasi patogen. Setelah itu, eksplan ditanam pada medium induksi kalus, lalu dilakukan perbanyakan kalus dan induksi kalus embriogenik. Kalus embriogenik kemudian dipindahkan ke medium yang mengandung konsentrasi auksin, dengan atau tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dari kelompok sitokinin, untuk menginduksi pembentukan embrio somatik (Adhinugraha, 2024). Embrio somatik yang terbentuk selanjutnya dikecambahkan hingga menjadi planlet. Planlet yang sudah cukup umur kemudian diaklimatisasi sebelum dipindahkan ke kondisi lapang.

Pembentukan sel atau kalus embriogenik merupakan syarat utama dalam produksi embrio somatik. Kalus embriogenik biasanya dihasilkan dari embrio benih atau jaringan meristematik. Kultur kalus memiliki potensi morfogenetik yang beragam. Kalus yang dihasilkan sering kali gagal untuk beregenerasi menjadi embrio somatik atau hanya mampu membentuk akar. Proses pembentukan embrio somatik, pematangan, perkecambahan, serta regenerasi planlet memerlukan medium, zat pengatur tumbuh (ZPT), dan lingkungan yang mendukung. Sebelum induksi pembentukan embrio somatik, biasanya dilakukan pemecahan kalus untuk dikulturkan ke media baru yang berfungsi untuk meningkatkan pembelahan sel. Namun, subkultur kalus yang dilakukan berulang kali dapat menyebabkan hilangnya kemampuan morfogenetik. Kalus yang dihasilkan dari inisiasi awal cenderung memiliki kemampuan regenerasi lebih tinggi dalam membentuk embrio somatik dibandingkan dengan kalus hasil dari subkultur (Sulastri *et al.*, 2019).

2.5 Media Kultur

Media kultur merupakan salah satu komponen penting dalam kultur jaringan tanaman yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan eksplan secara *in vitro*. Media kultur dapat berupa media cair, padat, semi padat, dan semi solid yang penggunaannya tergantung dari tujuan, jenis bahan tanam,

dan jenis umur jaringan yang dipakai. Secara umum, media kultur jaringan dapat dibedakan menjadi media dasar dan media perlakuan. Resep media dasar merupakan resep kombinasi zat yang mengandung hara esensial makro dan mikro, sumber energi, dan vitamin (Widyastuti dan Deviyanti, 2024).

Semua jenis tanaman dan bagian tanaman yang aktif membelah dapat diperbanyak dengan kultur jaringan. Namun, setiap tanaman memerlukan komposisi media kultur yang berbeda untuk pertumbuhannya. Tanaman yang memiliki hubungan kekerabatan dekat seperti yang berasal dari spesies, genus, atau famili yang sama, umumnya memiliki komposisi media kultur yang tidak jauh berbeda, terutama untuk bagian eksplan yang sama seperti pucuk, daun, batang, atau akar. Selain itu, dalam satu tanaman, komposisi media dan hormon yang digunakan juga bervariasi tergantung bagian tanaman yang dikultur. Misalnya, media yang digunakan untuk menumbuhkan pucuk berbeda dengan media yang dibutuhkan untuk menumbuhkan daun, batang, atau akar (Harahap *et al.*, 2019).

Media kultur jaringan terdiri atas beberapa komponen penting yang berperan dalam mendukung pertumbuhan eksplan. Beberapa komponen penting tersebut yaitu garam-garam anorganik, vitamin, sukrosa, mio-inositol, asam-asam amino, dan agar. Garam-garam anorganik merupakan gabungan dari unsur hara esensial makro, seperti karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), nitrogen (N), sulfur (S), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), dan magnesium (Mg), serta unsur hara mikro yang dibutuhkan dalam jumlah kecil, seperti klorin (Cl), boron (B), molibdenum (Mo), mangan (Mn), tembaga (Cu), besi (Fe), seng (Zn), dan kobalt (Co). Vitamin berupa *pyridoxine* (vitamin B6), *nicotinic acid* (niacin), dan *thiamine* (vitamin B1). Sukrosa berfungsi sebagai sumber energi bagi eksplan. Selain itu, dapat digunakan juga glukosa dan fruktosa sebagai pengganti sukrosa karena mampu merangsang pertumbuhan dari beberapa jaringan. Mio-Inositol berperan dalam merangsang pertumbuhan jaringan. Asam-asam amino merupakan sumber nitrogen organik. Asam amino yang umumnya mempunyai peran sebagai penopang akar supaya eksplan tetap pada tempatnya (Harahap, *et al.*, 2019).

Media dasar yang digunakan dalam kultur jaringan terdapat beberapa jenis. Jenis media dasar yang umum digunakan dalam kultur jaringan, masing-masing disesuaikan dengan jenis tanaman dan tujuan kultur. Media dasar Murashige dan Skoog merupakan media yang paling sering digunakan untuk hampir semua jenis kultur, terutama pada tanaman *herbaceous*. Media dasar B5 biasanya digunakan untuk kultur sel tanaman kedelai, alfafa, dan legume. Sementara itu, media dasar White banyak dimanfaatkan dalam kultur akar tanaman tomat. Pada tanaman anggrek, media dasar Vacin dan Went merupakan pilihan umum digunakan dalam kultur jaringannya. Media dasar Nitsch dan Nitsch sering digunakan dalam kultur pollen dan kultur sel. Media dasar Schenk dan Hildebrandt cocok untuk kultur jaringan tanaman monokotil. Selain itu, terdapat juga media khusus untuk tanaman berkayu yang dikenal sebagai Woody Plant Medium (WPM). Terakhir, media dasar N6 sangat sesuai untuk kultur jaringan semua jenis tanaman serealia, terutama padi (Widyastuti dan Deviyanti, 2024).

2.6 Eksplan

Eksplan adalah bagian kecil dari jaringan atau organ yang diambil dari tanaman induk untuk digunakan dalam proses kultur. Keberhasilan dalam melakukan kultur jaringan dapat dipengaruhi oleh eksplan yang digunakan. Adapun kondisi eksplan yang mempengaruhi keberhasilan kultur yaitu jenis eksplan, ukuran, umur, dan fase fisiologis jaringan yang digunakan sebagai eksplan (Basri, 2016). Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan dapat berupa pucuk tunas, potongan batang dengan satu buku, potongan daun atau akar, kotiledon, aksis embrio pada biji, biji utuh, bagian bunga, dan lain-lain. Salah satu syarat utama dalam kultur jaringan tanaman adalah kondisi aseptik, eksplan yang akan dikulturkan di media steril harus dibuat aseptik terlebih dahulu. Eksplan dapat berasal dari tanaman yang tumbuh di alam bebas atau di rumah kaca. Meskipun tampak sehat dan tidak menunjukkan tanda-tanda serangan hama atau penyakit, permukaan luar eksplan tetap harus dianggap tidak steril. Untuk memastikan kultur aseptik, eksplan harus disterilisasi sebelum ditanam (Ziraluo, 2021).

Umur eksplan sangat mempengaruhi kemampuan eksplan tumbuh dan beregenerasi. Secara umum, eksplan yang berasal dari jaringan tanaman muda (juvenil) lebih mudah tumbuh dan beregenerasi dibandingkan dengan jaringan yang sudah mengalami diferensiasi lanjut. Jaringan muda memiliki sel-sel aktif membelah dan dinding sel yang belum kompleks, sehingga lebih mudah dimodifikasi dalam kultur dibandingkan jaringan yang lebih tua. Maka dari itu, inisiasi kultur biasanya menggunakan pucuk muda, kuncup muda, hipokotil, atau bunga yang belum dewasa (Basri, 2016). Jika eksplan diambil dari tanaman dewasa, re-juvenilisasi tanaman induk melalui pemangkasan atau pemupukan dapat membantu mendapatkan eksplan muda untuk meningkatkan keberhasilan kultur.

Ukuran eksplan juga berperan dalam keberhasilan kultur. Ukuran eksplan yang ideal adalah antara 0,5 hingga 1,0 cm yang sangat menentukan keberhasilan proses kultur (Apriliyana dan Wahidah, 2021). Eksplan berukuran kecil lebih mudah disterilisasi dan membutuhkan lebih sedikit ruang serta media. Namun, memiliki kemampuan regenerasi yang lebih rendah sehingga memerlukan media yang lebih kompleks untuk pertumbuhan dan regenerasinya, sedangkan eksplan berukuran besar memiliki peluang lebih besar untuk membawa penyakit dan lebih sulit disterilkan, serta membutuhkan ruang dan media kultur yang lebih banyak. Ukuran eksplan yang tepat tergantung pada jenis tanaman yang dikulturkan, teknik, serta tujuan pengkulturan (Basri, 2016).

2.7 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan suatu senyawa organik bukan hara, yang dalam konsentrasi rendah ($1 \mu\text{M}$) mampu merangsang, menghambat, dan mempengaruhi pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh menjadi salah satu komponen penting dalam media kultur jaringan karena bertanggung jawab untuk mengontrol berbagai tahapan pertumbuhan dan perkembangan tanaman seperti, pembelahan sel, pembentukan akar dan tunas, serta proses diferensiasi lainnya. Pada konsentrasi yang tepat, zat pengatur

tumbuh akan bekerja dengan baik. Namun, jika konsentrasi yang digunakan berlebihan atau kekurangan, maka akan menghambat pertumbuhan diameter dari tanaman (Ningsih dan Rohmawati, 2019).

Zat pengatur tumbuh dapat digolongkan menjadi lima kelompok utama yaitu auksin, sitokinin, giberelin, etilena, dan asam absisat. Auksin, sitokinin, dan giberelin memiliki sifat yang positif bagi pertumbuhan tanaman pada konsentrasi fisiologis, sedangkan etilena dapat bersifat menghambat ataupun mendukung pertumbuhan serta asam absisat tergolong sebagai penghambat (inhibitor) bagi pertumbuhan. Masing-masing ZPT memiliki peran tersendiri dalam proses fisiologis tanaman. Auksin berperan penting dalam pembentukan kalus, kultur suspensi sel, dan induksi perakaran. Namun, tidak dapat bekerja secara mandiri dan harus digunakan bersama dengan sitokinin. Sitokinin berfungsi untuk merangsang pembentukan tunas serta proses morfogenesis, khususnya pada sel yang mengalami embriogenesis secara sinergis dengan auksin. Giberelin memiliki fungsi utama dalam mempercepat pemanjangan sel. Etilen berperan dalam mempercepat pematangan sel serta mencegah dormansi pada biji. Terakhir, asam absisat (ABA) berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan tanaman sehingga digolongkan sebagai inhibitor (Heriansyah, 2020).

Auksin dan sitokinin adalah golongan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang paling umum digunakan dalam melakukan kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh dari golongan auksin yaitu terdiri dari IAA (*indole acetic acid*), NAA (*naphthalene acetic acid*), IBA (*indole butyric acid*), 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*), dicamba (*3,6-dichloro-o-anisic acid*), dan picloram (*4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid*). Sementara itu, zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin yaitu BA (*benzyl adenine*), kinetin (*furfuryl amino purine*), 2-IP (*dimethylallyl amino purine*), dan zeatin (Hervani, *et al.*, 2018).

Menambahkan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur mampu meningkatkan konsentrasi ZPT endogen yang berada di dalam sel, sehingga menjadi faktor pemicu dalam proses pertumbuhan maupun perkembangan jaringan. Auksin

berperan penting dalam memberikan sinyal pada eksplan selama fase induksi embriogenesis somatik tidak langsung. Pada fase ini, auksin membantu memicu proses pembentukan struktur kalus. Namun, saat memasuki fase ekspresi di mana kalus berkembang menjadi embrio somatik, konsentrasi auksin yang rendah atau ketiadaan auksin dalam media kultur lebih disarankan. Hal ini disebabkan oleh sensitivitas embrio terhadap kadar hormon, karena auksin yang berlebihan dapat mengganggu atau bahkan menghambat pertumbuhan tanaman. Hal ini terjadi karena fitohormon termasuk auksin endogen secara alami aktif pada konsentrasi yang sangat rendah untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara optimal (Hapsoro dan Yusnita, 2022).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

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

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi autoklaf, destilator, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), botol kultur, rak kultur, timbangan digital, timbangan analitik, pH meter, *sprayer*, cawan petri, pinset, karet, plastik, *scalpel*, *blade*, keramik, bunsen, korek api, gelas ukur, kamera, *beaker glass*, panci, spatula, kompor, tabung gas, bak air, gayung, ember, dirigen, *showcase*, lap kain, *magnetic stirrer*, botol *schott*, pipet tetes, komputer, mikroskop stereo, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi Ubi Kayu Varietas Waxy, Media MS, Picloram, 2,4 -*Dichlorophenoxy acid*, *Naphtalen Acetid Acid* (NAA), GA₃, *Benzyladenine* (BA), CuSO₄, kapas, tisu, karet, label, aquades, agar-agar, spirtus, detergen, bayclin, sabun cuci piring, sukrosa, HCl 1 N, KOH 1 N, plastik *wrapping*, air, dan plastik ukuran 12 x 25 cm.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial (2 x 5). Faktor pertama adalah eksplan Ubi Kayu Varietas Waxy (E) yang terdiri atas dua jenis yaitu eksplan daun pucuk (E1) dan *internode* (E2). Faktor

kedua adalah jenis media induksi kalus (M) yang terdiri dari 5 jenis yaitu MS + NAA 6 mg/L (M0), MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L (M1), MS + Picloram 12 mg/L + NAA 0 mg/L (M2), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L (M3), MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L (M4). Berdasarkan kedua faktor tersebut, maka diperoleh 10 kombinasi perlakuan. Sepuluh kombinasi perlakuan yang diperoleh sebagai berikut:

- (1) E1M0 = Eksplan daun pucuk + MS + NAA 6 mg/L (kontrol)
- (2) E1M1 = Eksplan daun pucuk + MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L
- (3) E1M2 = Eksplan daun pucuk + MS + Picloram 12 mg/L + NAA 0 mg/L
- (4) E1M3 = Eksplan daun pucuk + MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L
- (5) E1M4 = Eksplan daun pucuk + MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L
- (6) E2M0 = Eksplan *internode* + MS + NAA 6 mg/L (kontrol)
- (7) E2M1 = Eksplan *internode* + MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L
- (8) E2M2 = Eksplan *internode* + MS + Picloram 12 mg/L + NAA 0 mg/L
- (9) E2M3 = Eksplan *internode* + MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L
- (10) E2M4 = Eksplan *internode* + MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L

Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali, untuk 1 kali ulangan terdiri dari 3 botol dengan 1 botol terdiri dari 3 eksplan. Sehingga, total eksplan yang digunakan adalah 360 eksplan dan secara keseluruhan terdapat 40 satuan percobaan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap. Tahapan tersebut dimulai dari penyiapan bahan tanam, sterilisasi alat, pembuatan media, sterilisasi media, dan penanaman eksplan.

3.4.1 Penyiapan Bahan Tanam

Persiapan bahan tanam dilakukan secara *in vitro* di ruang kultur laboratorium ilmu tanaman pada kondisi aseptik. Perbanyakan planlet Varietas Waxy dilakukan melalui subkultur dengan menggunakan eksplan steril sepanjang 1 cm atau satu

ruas dari *mother stock*. Proses subkultur dilanjutkan hingga jumlah planlet mencukupi untuk digunakan sebagai bahan tanam. Bagian daun pucuk dan ruas batang (*internode*) dapat digunakan sebagai eksplan yang kemudian ditempatkan pada media steril yang telah diberi perlakuan.

3.4.2 Sterilisasi Alat

Semua alat yang akan digunakan harus dalam kondisi steril, sehingga perlu dilakukan sterilisasi terlebih dahulu. Adapun tahap sterilisasi alat meliputi sterilisasi botol dan sterilisasi alat diseksi.

3.4.2.1 Sterilisasi botol

Teknik kultur jaringan memerlukan kondisi aseptik untuk mengurangi risiko kegagalan akibat kontaminasi. Terdapat dua tahap pencucian dalam proses sterilisasi botol kultur, yaitu mencuci botol yang terkontaminasi dan botol yang sudah bersih. Pada tahap pertama, botol kultur yang terkontaminasi disterilkan menggunakan autoklaf *Budenberg* selama 30 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Setelah itu, media terkontaminasi dalam botol dikeluarkan menggunakan pinset dan botol dicuci dengan sabun cuci piring. Setelah bersih, botol direndam selama ± 12 jam dalam larutan detergen sebanyak 40 g yang dicampur dengan 300 ml larutan desinfektan komersial. Setelah perendaman, bagian dalam dan luar botol digosok dengan serabut jaring dan serabut kawat hingga benar-benar bersih. Botol kemudian dibilas dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa detergen dan direndam dalam air panas selama 10-15 menit. Setelah itu, botol ditiriskan menggunakan alas kertas, lalu mulut botol ditutup dengan penutup plastik berukuran 12 x 25 cm.

Sterilisasi botol pada tahap kedua dilakukan pada botol yang telah dibersihkan pada tahap sebelumnya. Botol-botol tersebut disusun ke dalam autoklaf *Tomy*, yang khusus digunakan sebagai autoklaf bersih untuk sterilisasi media dan

peralatan. Proses sterilisasi botol dilakukan selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Setelah selesai, botol-botol yang telah steril disusun ke dalam box penyimpanan dan siap untuk digunakan.

3.4.2.2 Sterilisasi alat diseksi

Alat diseksi yang akan digunakan dalam kultur jaringan perlu disterilisasi agar tidak terjadi kontaminasi. Alat diseksi berupa pinset, *scalpel*, cawan petri, ubin atau keramik, dan kapas dilakukan dengan cara membungkus alat dengan kertas lalu dilapisi dengan plastik tahan panas pada bagian luar dan diikat menggunakan karet. Sterilisasi kapas dimasukkan ke dalam botol steril lalu ditutup dengan plastik. Selain alat diseksi tersebut, alat-alat yang digunakan untuk menyimpan media maupun larutan stok perlu disterilisasi, seperti botol *schott*, gelas ukur, dan cawan petri. Alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 30 menit. Kemudian, alat-alat tersebut dikeluarkan dan diangin-anginkan pada ruangan ber-AC.

3.4.3 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini terdapat 4 jenis. Media tersebut yaitu media pre-kondisi (MS0), media induksi kalus primer, media maturasi embrio, dan media regenerasi tunas.

3.4.3.1 Media pre-kondisi (MS0)

Media pre-kondisi adalah media yang digunakan untuk mempersiapkan eksplan daun pucuk dan eksplan *internode* ubi kayu. Komponen Media MS (Tabel 1) dan sukrosa yang sudah disiapkan dimasukkan ke dalam gelas *beaker* yang telah ditambahkan sedikit aquades ± 200 ml, lalu homogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah homogen, volume larutan ditambah aquades hingga mencapai 1000 ml menggunakan gelas ukur 1 liter. Larutan kemudian dituangkan kembali ke dalam gelas *beaker* dan dihomogenkan sambil mengatur pH menjadi 5,8

dengan menggunakan KOH atau HCl 1 N. Jika pH awal lebih tinggi dari 5,8 digunakan HCl 1 N untuk menyesuaikan, sedangkan jika pH awal lebih rendah dari 5,8 digunakan KOH 1 N. Selanjutnya, larutan dipanaskan sambil ditambahkan agar sebanyak 7 g/L dan diaduk hingga mendidih. Setelah itu, larutan media dituangkan ke dalam botol kultur steril dengan volume \pm 30 ml per botol dan ditutup kembali menggunakan plastik dan diikat menggunakan karet. Botol yang sudah berisi media diberi label untuk menandai komposisi media yang telah dibuat. Setelah diberi label, botol kultur yang berisi media disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Media yang telah diautoklaf dapat digunakan setelah 3 hari disimpan di ruang kultur. Hal tersebut dilakukan agar dapat dipastikan bahwa media yang akan digunakan telah steril. Komposisi media Murashige dan Skoog disajikan pada Tabel 1.

3.4.3.2 Media induksi kalus primer (MIKP)

Media induksi kalus primer (MIKP) digunakan sebagai media untuk menginduksi terbentuknya kalus primer dan embrio somatik. Media MIKP dibuat dengan komposisi Media MS (Murashige and Skoog, 1962) dengan menambahkan NAA 6 mg/L, 4 μ M CuSO₄, sukrosa 40 g/L, dan agar-agar oxoid 8 g/L. Media ini kemudian dikombinasikan sesuai dengan perlakuan yang diterapkan yaitu kontrol (MS + NAA 6 mg/L), MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L, MS + Picloram 12 mg/L + NAA 0 mg/L, MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L, MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L. Penanaman eksplan pada media MIKP dilakukan selama 4 minggu kemudian diinkubasi pada tempat yang gelap dengan suhu $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Setelah 4 minggu, kalus ditimbang dan dipindahkan pada media yang sama dengan media awal (MIKP) selama 3 minggu di ruang gelap yang bertujuan untuk menginduksi embrio somatik pada kalus, mencegah *browning*, dan memberikan kembali nutrisi yang dibutuhkan oleh kalus.

Tabel 1. Komposisi Media Murashige dan Skoog (1962)

No.	Komponen media	Konsentrasi dalam Media MS (mg/L)	Konsentrasi dalam larutan stok (mg/L)	Komponen yang dibutuhkan dalam 1 L media
1.	Stok Makro (10x)	-	-	100 ml
	NH ₄ NO ₃	1650	16500	-
	KNO ₃	1900	19000	-
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370	3700	-
	KH ₂ PO ₄	170	1700	-
2.	Stok Mikro A (100x)	-	-	10 ml
	H ₃ BO ₃	6,2	620	-
	MnSO ₄ .H ₂ O	16,9	1690	-
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	860	-
3.	Stok Mikro B (100x)	-	-	10 ml
	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	-
4.	Stok CaCl₂ (100x)	-	-	10 ml
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440	44000	-
5.	Stok Fe (100x)	-	-	10 ml
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	2780	-
	Na ₂ EDTA	37,3	3730	-
6.	Vitamin MS (100x)	-	-	10 ml
	Tiamin-HCl	0,1	10	-
	Piridoksin-HCl	0,5	50	-
	Glisin	2,0	200	-
7.	Mio-Inositol (10x)	-	-	100 ml
	Mio-Inositol	100	1000	-

3.4.3.3 Media maturasi embrio (MME)

Media maturasi embrio (MME) digunakan untuk pematangan embrio somatik yang terbentuk dari kalus primer sehingga embrio dapat berkembang menjadi kotiledon. Media maturasi embrio somatik ini adalah Media MS yang ditambahkan NAA 0,5 mg/L, CuSO₄ 4 µM, sukrosa 40 g/L, dan agar-agar oxoid 8 g/L. Pada MME, konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) diturunkan menjadi 2

mg/L yang bertujuan sebagai pemicu kalus agar berhenti untuk membelah dan mendorong perkembangan embrio hingga mencapai fase kotiledon. Pada penelitian ini, MME yang digunakan terdapat 5 jenis yaitu kontrol (MS + NAA 0,5 mg/L), 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, MS + 2,4-D 2 mg/L + NAA 0 mg/L. Formulasi media induksi kalus primer dan media maturasi embrio disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Formulasi Media Induksi Kalus Primer dan Media Maturasi Embrio

Media Induksi Kalus Primer	Media Maturasi Embrio
MS + NAA 6 mg/L	MS + NAA 0,5 mg/L
MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L	MS + Picloram 2 mg/L + NAA 0,5 mg/L
MS + Picloram 12 mg/L + NAA 0 mg/L	MS + Picloram 2 mg/L + NAA 0 mg/L
MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 6 mg/L	MS + 2,4-D 2 mg/L + NAA 0,5 mg/L
MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L	MS + 2,4-D 2 mg/L + NAA 0 mg/L.

3.4.3.4 Media regenerasi tunas (MRT)

Media regenerasi tunas (MRT) adalah media yang digunakan untuk mengecambahkan embrio yang telah terbentuk menjadi kotiledon hijau. Media dasar yang digunakan dalam MRT adalah Media MS (Tabel 1), sukrosa 20 g/L, agar-agar gelrite 2,5 g/L + BA 0,2 mg/L + GA3 0,01 mg/L dan MS + BA 0,2 mg/L + dan GA3 0 mg/L. Media ini digunakan untuk merangsang pembentukan tunas.

3.4.4 Sterilisasi Media

Media disterilkan dengan cara mengautoklaf botol yang berisi media selama 15 menit menggunakan autoklaf *Tomy* pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

Selanjutnya, media yang telah disterilisasi dipindahkan dan disimpan di ruang kultur.

3.4.5 Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan dalam beberapa tahapan dengan langkah-langkah yang berbeda setiap tahapnya. Adapun tahap penanaman eksplan meliputi penanaman pada media pre-kondisi (MS0), penanaman eksplan ke media induksi kalus primer, maturasi embrio somatik, dan media regenerasi tunas.

3.4.5.1 Penanaman pada media pre-kondisi (MS0)

Tunas untuk penanaman pada media pre-kondisi diperoleh dari planlet *mother stock* yang dipotong sepanjang 1-2 cm di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) untuk menghasilkan calon tunas baru. Setiap botol kultur diisi dengan tiga tunas, kemudian diberi label yang mencantumkan nama, waktu tanam, dan jenis varietas untuk memudahkan mengidentifikasi. Botol-botol ini disimpan di ruang kultur dengan suhu terkontrol $23 \pm 2^\circ\text{C}$ serta pencahayaan yang berkelanjutan selama 24 jam menggunakan lampu *Flourescent* untuk mendukung pertumbuhan yang optimal. Setelah 18 hari, tunas steril yang berkembang pada media pre-kondisi akan digunakan sebagai eksplan untuk perlakuan pada media induksi kalus primer.

3.4.5.2 Penanaman eksplan ke media induksi kalus primer (MIKP)

Setelah tunas tumbuh di media pre-kondisi selama 18 hari, eksplan yang digunakan berupa *internode* dan daun pucuk yang berasal dari planlet *mother stock*. Eksplan daun pucuk yang digunakan berukuran $2 \times 5 \text{ mm}^2$, sedangkan ukuran eksplan *internode* 2 mm. Setiap botol kultur diisi dengan 3 eksplan, di mana bagian bawah daun dan *internode* menyentuh media. Proses induksi kalus dilakukan dengan menginkubasi eksplan dalam kondisi gelap pada suhu $23 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 4 minggu di media MIKP. Setelah 4 minggu, kalus ditimbang dengan beberapa ukuran kalus kemudian dipindahkan ke media dengan komposisi nutrisi yang sama, dan diinkubasi kembali dalam kondisi gelap pada suhu $23 \pm 2^\circ\text{C}$

selama 3 minggu untuk induksi embrio somatik. Setelah itu dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop stereo *Olympus*.

3.4.5.3 Maturasi embrio somatik

Setelah eksplan mengalami induksi selama 7 minggu, eksplan yang menunjukkan perkembangan kalus embriogenik disubkultur ke media maturasi embrio (MME) selama ± 4 minggu di ruang gelap. Setiap botol kultur diisi dengan 3 kalus. Proses induksi dilakukan dalam ruang kultur yang gelap pada suhu $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Media MME digunakan untuk pematangan embrio yang terbentuk pada media induksi kalus primer dan embrio somatik dengan tujuan membantu proses pematangan embrio tersebut.

3.4.5.4 Media regenerasi tunas

Setelah embrio terbentuk dan sebagian besar telah mencapai tahap kotiledon, embrio tersebut diinduksi untuk menjadi planlet. Embrio yang memasuki fase kotiledon dipindahkan ke media regenerasi tunas (MRT), yang terdiri dari MS + sukrosa 20 g/L + agar-agar gelrite 2,5 g/L + BA 0,2 mg/L + GA3 0,01 mg/L dan diinkubasi selama 4 minggu dalam kondisi terang. Selanjutnya, tunas hijau atau kotiledon dipindahkan ke Media MS + AC 1 g/L selama 2-3 minggu hingga berkembang menjadi planlet yang sempurna dengan akar dan daun.

3.5 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan yang diamati dalam penelitian ini meliputi variabel kualitatif dan variabel kuantitatif. Adapun variabel kualitatif meliputi pengamatan warna kalus, struktur kalus, dan fase embrio somatik primer, sedangkan variabel kuantitatif meliputi waktu muncul kalus primer, persentase eksplan berkalus, bobot kalus primer 4 msi, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio somatik.

3.5.1 Variabel Kualitatif

Pengamatan kualitatif dilakukan mulai dari penanaman eksplan hingga terbentuknya kalus dan embrio somatik. Variabel kualitatif meliputi warna kalus, struktur kalus, dan fase embrio somatik primer pada kalus.

3.5.1.1 Warna kalus

Pengamatan dilakukan terhadap warna kalus yang terbentuk dari eksplan daun pucuk dan *internode*. Proses ini dilakukan mulai dari eksplan ditanam hingga kalus berkembang secara sempurna. Pengamatan terhadap variabel warna kalus dilakukan secara deskriptif melalui skoring warna kalus. Deskripsi dan skoring warna kalus disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Deskripsi dan Skoring Warna Kalus Ubi Kayu Varietas Waxy

Skor	Deskripsi	Keterangan
5	Putih atau bening	p/b
4	Putih kekuningan	p/k
3	Kuning kecoklatan	k/c
2	Coklat kehitaman	c/h
1	Hitam	h
0	Mati	m

Sumber: Kadir (2006); Wulandari *et al.* (2021); Abdullah *et al.* (2024).

3.5.1.2 Struktur kalus

Struktur kalus dibedakan menjadi dua jenis, yaitu kalus remah (*friable*) dan kalus kompak (*nonfriable*). Kalus remah memiliki ikatan sel yang longgar sehingga mudah hancur, sedangkan kalus kompak memiliki ikatan sel yang kuat dan rapat sehingga lebih tahan terhadap kerusakan. Pengamatan terhadap variabel struktur kalus dilakukan secara deskriptif melalui skoring struktur kalus. Deskripsi dan skoring struktur kalus disajikan pada Tabel 4.

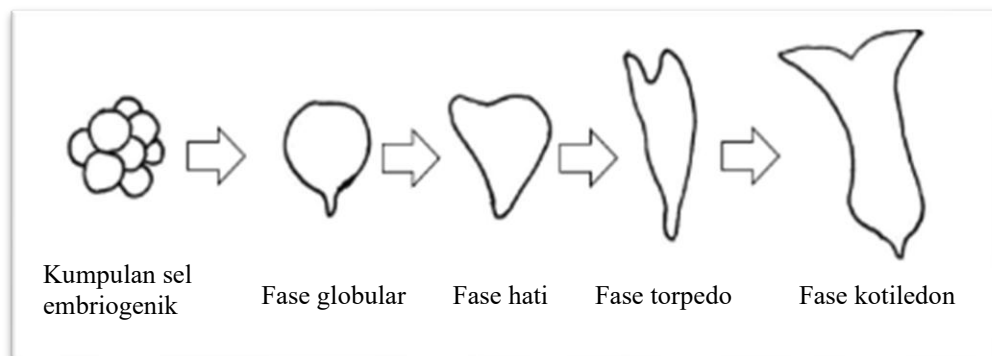
Tabel 4. Deskripsi dan Skoring Struktur Kalus Ubi Kayu Varietas Waxy

Skor	Deskripsi	Keterangan
2	Remah	Tekstur lunak, tersusun dari sel-sel renggang, mudah dipisah dan mengandung sedikit air.
1	Kompak	Tektur keras dan padat, tersusun dari sel-sel kecil yang rapat, susah dipisah dan mengandung banyak air.
0	Mati	Tidak terbentuk kalus

Sumber: Sugiarto dan Paramita (2014); Wulandari *et al.* (2021); Abdullah *et al.* (2024).

3.5.1.3 Fase embrio somatik primer

Tahapan perkembangan embriogenesis pada tanaman ubi kayu dimulai dengan pembentukan embrio globular. Embrio ini mengalami pertumbuhan isodiametric yang menghasilkan simetri bilateral. Selanjutnya, embrio somatik berubah menjadi berbentuk jantung yang kemudian akan berkembang menjadi struktur akar dan meristem tunas. Proses ini dilanjutkan dengan perkembangan embrio somatik ke bentuk torpedo, hingga akhirnya mencapai fase terakhir yang berupa kotiledon berwarna hijau. Fase embrio somatik disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Fase embrio somatik (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

3.5.2 Variabel Kuantitatif

Pengamatan terhadap variabel kuantitatif dilakukan pada awal penanaman eksplan hingga terbentuknya embrio somatik. Variabel kuantitatif meliputi waktu muncul

kalus primer, persentase eksplan berkalus, bobot kalus primer 4 msi, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio somatik.

3.5.2.1 Waktu muncul kalus primer

Pengamatan terhadap waktu muncul kalus primer dilakukan setiap 2 hari sekali sejak penanaman eksplan pada media induksi kalus primer hingga seluruh eksplan membentuk kalus atau maksimal 4 minggu. Inisiasi pembentukan kalus primer ditandai dengan bagian eksplan yang mengerut, membesar, dan berwarna putih kekuningan.

3.5.2.2 Persentase eksplan berkalus

Persentase eksplan yang membentuk kalus diperoleh dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus dalam waktu 4 msi pada media induksi kalus primer. Berikut ini rumus perhitungan persentase eksplan berkalus:

$$\text{Persentase Eksplan Berkalus} = \frac{\text{Jumlah Eksplan Berkalus}}{\text{Jumlah Seluruh Eksplan}} \times 100\%$$

3.5.2.3 Bobot kalus primer 4 msi

Bobot kalus primer ditimbang saat 4 msi pada media induksi kalus primer. Setelah itu, kalus di subkultur ke media dengan perlakuan yang sama. Bobot kalus diperoleh dengan menimbang sampel kalus sebanyak 10% dari jumlah populasi dalam setiap perlakuan. Proses penimbangan kalus dilakukan di dalam LAFC.

3.5.2.4 Persentase kalus berembrio

Persentase kalus berembrio diperoleh dengan menghitung jumlah embrio yang muncul pada 3 msi di media MME dari masing-masing perlakuan berdasarkan jumlah kalus keseluruhan pada perlakuan tersebut. Persentase eksplan berembrio dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Persentase Kalus Berembrio} = \frac{\text{Jumlah Kalus Berembrio}}{\text{Jumlah Seluruh Kalus}} \times 100\%$$

3.5.2.5 Jumlah embrio somatik

Jumlah embrio per eksplan diperoleh dengan menghitung jumlah embrio yang muncul saat 3 msi pada media MME. Pengamatan jumlah embrio somatik per kalus dilakukan menggunakan mikroskop stereo *Olympus* pada berbagai besaran.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh terdiri atas dua jenis, yaitu data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif didapatkan melalui pengamatan visual terhadap warna kalus dan struktur kalus, sementara data kuantitatif diperoleh dari waktu muncul kalus primer, persentase eksplan berkalus, bobot kalus primer 4 msi, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio somatik. Analisis data kualitatif dilakukan secara deskriptif melalui scoring warna kalus dan struktur kalus. Data dari hasil pengamatan kuantitatif dianalisis dan diolah dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf 5%. Perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- (1) Jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik. Eksplan *internode* membentuk kalus lebih cepat (9,21 hsi). Namun, eksplan daun pucuk menghasilkan bobot kalus lebih tinggi (13,45 mg), persentase eksplan berkalus lebih besar (>80%), dan lebih responsif dalam membentuk embrio somatik;
- (2) Media induksi memberikan pengaruh yang nyata terhadap pembentukan kalus primer dan embrio somatik. Kombinasi MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L merupakan perlakuan terbaik dengan persentase kalus embriogenik tertinggi (51,61%) dengan rerata jumlah embrio (7,50 embrio) pada eksplan daun pucuk. Media induksi dengan MS + NAA 6 mg/L saja menghasilkan kalus nonembriogenik yang membentuk akar. Kombinasi MS + 2,4-D 8 mg/L + NAA 0 mg/L mampu membentuk kalus embriogenik meskipun persentasenya lebih rendah (13,33%);
- (3) Terdapat interaksi antara eksplan dan media induksi terhadap persentase kalus berembrio. Interaksi menunjukkan bahwa eksplan daun pucuk dan media induksi MS + Picloram 12 mg/L + NAA 6 mg/L mampu menghasilkan embrio mencapai 51,61%.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu difokuskan pada peningkatan frekuensi pembentukan tunas menjadi planlet melalui modifikasi media regenerasi tunas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Lestari, C., dan Numba, S. 2024. Pengaruh air kelapa muda terhadap pertumbuhan kalus secara *in vitro* dua varietas tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Jurnal Agrotek*. 8(1): 1-8.
- Adhinugraha, Q. S. 2024. Embriogenesis somatik kopi: prinsip dan keunggulannya. *Agriculture and Biological Technology*. 1(2): 58-64.
- Aghbolaghi, A. M., Sharifzadeh, F., and Omid, M. 2020. Effect of explants and concentrations of plant growth regulators on callus induction in *Stipagrostis pennata*. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 51(4): 111-120.
- Ahmad, A., Ul Qamar, M. T., Shoukat, A., Aslam, M. M., Tariq, M., Hakiman, M., and Joyia, F. A. 2021. The effects of genotypes and media composition on callogenesis, regeneration and cell suspension culture of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *PeerJ*. 9: 1-19.
- Al-Rasyid, H., Winarti, D. D. T., dan Subeki. 2019. Scale up produksi beras siger dari klon Ubi Kayu Waxy kapasitas 100 Kg Per Jam. *Conference of Workshop Item*. 1-16.
- Anggraini, N., Yuliadi, E., Setiawan, K., dan Hadi, M. S. 2021. Karakterisasi pertumbuhan, kandungan pati, dan kadar HCN berbagai klon ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Tropical Upland Resources (J. Trop. Upland Res.)*. 3(1): 45-53.
- Apriliyani, R. dan Wahidah, B. F. 2021. Perbanyak anggrek *Dendrobium* sp. secara *in vitro*: faktor-faktor keberhasilannya. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*. 1(2): 33-46.
- Ardyani, N. P., Gunawan, B., dan Harahap, J. 2022. Ekologi politik budidaya singkong di Kecamatan Arjasari Kabupaten Bandung Provinsi Jawa Barat. *Aceh Anthropological Journal*. 6(2): 137-151.
- Arum, L.S., Safitri, L.W., Murtiyaningsih, H., dan Hazmi, M. 2022. Efektifitas madu sebagai substituen media induksi kalus sorgum (*Sorghum bicolor*) secara *in vitro*. *Paspalum: Jurnal Ilmiah Pertanian*. 10(1): 39.

- Basri, A. H. H. 2016. Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. *Agrica Ekstensia*. 10(1): 64-73.
- Beyene D. 2009. Micropropagation of Selected Cassava Varieties (*Manihot esculenta* Crantz) from Meristem Culture. *Thesis*. Departement of Biology, Faculty of Science, Addis Ababa University. Eithopia.
- Beyene, D., Feyissa, T., and Bedada, G. 2010. Micropropagation of selected cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties through meristem culture. *Ethiopian Journal of Biological Sciences*. 9(2): 127-142.
- Ceballos, H., Sanchez, T., Tofino, A. P. Rosero, A., Dufour, D., Smith, A., Denyer, K., Perez, J. C., Morante, N., Calle, F., Lentini, Z., Fregrene, M., and Mestres, C. 2007. Development and identification of cassava clones with special starch characteristics. *Prosding*. The 4th International Conference on Starch Technology. Bangkok. 10-13.
- 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 (PCTOC)*. 132: 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.
- Fletcher, E. K., Amoako, T. N., 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.
- Hapijah, N., Utomo, S. D., Yuliadi, E., dan Setiawan, K. 2020. Peningkatan produksi tujuh klon ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz) akibat penambahan unsur hara mikro di Tanjung Bintang Lampung Selatan. *Journal of Tropical Upland Resources (J. Trop. Upland Res.)*. 2(2): 230-238.
- Hapsoro, D. 2019. *Kultur In Vitro Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma*. Aura Publishing. Bandar Lampung. 67 hlm.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. 2018. *Kultur Jaringan: Teori dan Praktik*. Andi. Yogyakarta. 141 hlm.
- Hapsoro, D., dan Yusnita. 2022. *Embriogenesis Somatik in vitro untuk Perbanyakan Klonal dan Pemuliaan Tanaman*. Aura. Bandar Lampung. 35 hlm.

- Harahap, F., Hasanah, A., Insani, H., Harahap, N. K., Pinem, M. D., Edi, S., Sipahutar, H., dan Silaban, R. 2019. *Kultur Jaringan Nanas*. Media Sahabat Cendekia. Surabaya. 33 hlm.
- Hardjo, P. H. 2018. *Monograf Kultur Jaringan Anggrek Embriogenesis Somatik Vanda tricolor (Lindl.) Var. Pallida*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 73 hlm.
- Hartati, H., Hartati, N.S., dan Sudarmonowati, E. 2018. Regeneration rate of eggplant somatic embryogenic in various maturation media. *Jurnal Ilmu Dasar*. 19(2): 125.
- Haryono, Y., Asmara, S., Kuncoro, S., dan Tamrin, T. 2022. Uji kinerja alat pemotong bibit singkong (petokong) tipe TEP-1 menggunakan batang 3 varietas tanaman singkong. *Jurnal Agricultural Biosystem Engineering*. 1(4): 582-590.
- Heriansyah, P. 2020. *Rahasia Mudah Menguasai Kultur Jaringan Tanaman: Teori dan Praktiknya*. Lindan Bestari. Bogor. 21 hlm.
- Hervani, D., Efendi, D., Suhartanto, M. R., and Purwoko, B. S. 2018. The preservation of somatic embryos of papaya derived from papaya lateral shoots after being stored in cryopreservation to maintain plant genetic information in the future. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 19(3): 724-729.
- Ibrahim, M. S. D. 2015. Faktor penentu keberhasilan perbanyakan kopi (*Coffea* spp.) melalui embriogenesis somatik. *SIRINOV*. 3(3): 127-136.
- Ibrahim, M. S. D., Hartati, R. S., Reflinur, R., dan Sudarsono, S. 2018. Induksi embrio somatik sekunder kopi arabika dan deteksi keragaman somaklonal menggunakan marka SSRs. *Industrial Crops Research Journal*. 24(1): 11-20.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., and Iwase, A. 2013. Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The plant cell*. 25(9): 3159-3173.
- Indra, R. 2019. Kajian pengolahan ubi kayu menjadi makanan kudapan sebagai upaya peningkatan pendapatan ekonomi masyarakat Desa Bajaronggi Kecamatan Dolok Masihul Kabupaten Serdang Bedagai. *Jurnal Ilmiah Akomodasi Agung*. 6(2): 1-10.
- Isda, M. N. dan Salsabilla, M. J. 2021. Induksi kalus dari eksplan daun tacca (*Tacca chantrieri* Andre) pada media murashige and skoog dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda secara *in vitro*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 10(1): 1-9.

- Kadir, A. 2006. Induksi dan Perbanyakkan Populasi Kalus, Regenerasi Tanaman serta Uji Respon Kalus terhadap Konsentrasi PEG dan Dosis Iradiasi Sinar Gamma. Makassar. Fakultas Pertanian Universitas Islam Makassar.
- Karim, M.A. and Ahmed, S.U. 2010. Somatic embryogenesis and micropropagation in teale gourd. *International Journal of Environmental Science and Development*. 1(1): 10–14.
- Kawochar, M. A., Ahmed, N. U., Hossain, M. I., and Ferdois, J. 2017. Role of explants and NAA on callus induction of potato (*Solanum tuberosum*). *Am J Life Sci*. 5(5): 140-144.
- Kementerian Pertanian. 2023. *Laporan Tahunan Direktorat Jenderal Tanaman Pangan*. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan. Jakarta. 23 hlm.
- Khumaida, N. dan Handayani, T. 2010. Induksi dan proliferasi kalus embriogenik pada beberapa genotipe kedelai embryogenic callus induction and proliferation on several soybean genotypes. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 38(1): 19–24.
- Kurnianingsih, R., Ghazali, M., Rosidah, S., Muspiah, A., Astuti, S. P., dan Nikmatullah, A. 2020. Pelatihan teknik dasar kultur jaringan tumbuhan. *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*. 4(5): 888-896.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakkan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 7(1): 63-68.
- Mahadi I, I. W., Syafii., dan Sari, Y. 2016. Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2,4-d dan bap dengan metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 21(2): 84-89.
- Mongomake, K., Doungous, O., Khatabi, B., and Fondong, V. N. 2015. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *SpringerPlus*. 4(477): 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.
- Mustikarini, E. D., Tri Lestari, S. P., dan Prayoga, G. I. 2019. *Plasma Nutfah: Tanaman Potensial di Bangka Belitung*. Uwais Inspirasi Indonesia. Ponorogo. 18 hlm.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*. 15: 473-497.

- 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 (J. Trop. Upland Res.)*. 3(1): 36-44.
- Novita, A. 2023. Induksi embriogenesis somatik anggrek macan *Grammatophyllum scriptum* (L.) blume dengan perlakuan karbohidrat dan zat pengatur tumbuh (zpt). *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Nugroho, C. C. 2017. Induksi kalus embriogenik beberapa genotipe ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.). *Jurnal Magrobis*. 17(1): 1-15.
- Otun, S., Escrich, A., Achilonu, I., Rauwane, M., Lerma-Escalera, J. A., Morones-Ramírez, J. R., and Rios-Solis, L. 2023. The future of cassava in the era of biotechnology in Southern Africa. *Critical Reviews in Biotechnology*. 43(4): 594-612.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin AgroBio*. 5(2): 51-58.
- Rahman, Z. A., Roowi, S., Zaliha, W., and Subramaniam, S. 2010. Regeneration of Malaysian indica rice (*Oryza sativa*) variety MR232 via optimised somatic embryogenesis system. *Journal of phytology*. 2(3): 30-38.
- Rahman, N., Fitriani, H., Rahman, N., dan Hartati, N. S. 2021. Pengaruh beragam zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus organogenik dari ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Genotipe Gajah dan Kuning. *Jurnal Ilmu Dasar*. 22(2): 119-126.
- Rasud, Y., Habil, M., dan Tony, T. 2019. Penggunaan 2, 4-D untuk induksi kalus klon kakao unggul sulawesi 1. *J-PEN Borneo: Jurnal Ilmu Pertanian*. 2(2). 67-72.
- Rismayanti, A. Y. dan Nafi'ah, H. H. 2021. Modifikasi media pada induksi kalus kopi arabika (*Coffea arabica* L.) berbuah kuning. *Jurnal Agro Wiralodra*. 4(2): 42-49.
- Saepudin, A., Khumaida, N., Sopandie, D., dan Ardie, S. W. 2016. Induksi dan proliferasi embriogenesis somatik in vitro pada lima genotipe kedelai. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 44(3): 261-270.
- Sari, M. dan Isda, M. N. 2021. Respon pembentukan kalus daun *Tacca chantrieri* dengan berbagai konsentrasi 2,4 D dan BAP secara in vitro. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 9(1): 8-17.

- Sari, N. dan Suwarsi, E. 2014. Optimasi jenis dan konsentrasi ZPT dalam induksi kalus embriogenik dan regenerasi menjadi planlet pada *Carica pubescens* (Lenne & K. Koch). *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 6(1): 51-59.
- Sasmita, H. D., Dewanti, P., dan Alfian, F. N. Somatik embriogenesis anggrek *Dendrobium lasianthera x Dendrobium antennatum* dengan penambahan BA dan NAA. *J. Agron. Indonesia*. 50(2): 202-208.
- Sastrahidayat, I. R. 2017. *Penyakit pada Tanaman Ubi-Ubian*. UB Press. Malang. 1 hlm.
- Sessou, A. F., Kahia, J. W., Houngue, J. A., Ateka, E. M., Dadjo, C., and Ahanhanzo, C. 2020. In vitro propagation of three mosaic disease resistant cassava cultivars. *BMC biotechnology*. 20(51): 1-13.
- Setiawan, R. B., Khumaida, N., dan Dinarti, D. 2024. Proliferasi kalus embriogenik dan embrio somatik tanaman gandum (*Triticum aestivum* L.). *Jurnal Sains Agro*. 9(1): 61-67.
- Sulastrri., Nawfetrias, W., Pinardi, D., dan Rosdayanti, H. 2019. Embriogenesis somatik *in vitro* dan regenerasi planlet dari tiga varietas alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 6(1): 83-92.
- Susanti, I., Suharsono, W. U., Siregar, U. J., and Tjahjoleksono, A. 2017. Optimization of somatic embryogenesis induction of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). In *Annales Bogorienses*. 21(2): 45-51.
- Syombua, E. D., Wanyonyi, C. N., Adero, M. O., Mbinda, W. M., Ngugi, M. P., Alakonya, A. E., and Oduor, R. O. 2019. Explant type and hormone regime influences somatic embryogenesis and regeneration of cassava. *African Journal of Biotechnology*. 18(25): 532-539.
- Wahyuni, A., Satria, B., and Zainal, A. 2020. Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara In Vitro. *Agrosains : Jurnal Penelitian Agronomi*. 22(1): 39.
- Wahyuni, D.K., Andriani, P., Ansori, A.N.M. and Utami, E.S.W. 2017. Callus induction of gendarussa (*Justicia gendarussa*) by various concentration of 2,4-D, IBA, and BAP. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 9(3): 402.
- Wang, J. P., An, H. Z., Jin, Z.Y., Xie, Z. J, Zhuang, J. N., Zhuang, H. N., and Kim, J. M. 2013. Emulsifier and thickeners on extrusion-cooked instant rice product. *Journal of Food Science and Technology*. 50(4):655-666.

- Waryastuti, D. E., Setyobudi, L., dan Wardiyati, T. 2017. Pengaruh tingkat konsentrasi 2, 4-D dan BAP pada Media MS terhadap induksi kalus embriogenik temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 5(1): 140-149.
- Wokanubun, A., Ririhena, R. E., dan Wattimena, A. Y. 2020. Potensi dampak perubahan iklim terhadap produksi ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) dan pendapatan petani di Desa Wain, Kecamatan Kei Kecil Timur, Kabupaten Maluku Tenggara. *Jurnal Budidaya Pertanian*. 16(2). 206-214.
- Widyastuti, N. dan Deviyanti, J. 2024. *Kultur Jaringan—Teori dan Praktik Perbanyak Tanaman Secara In-Vitro*. Penerbit Andi. Yogyakarta. 27 hlm.
- Wulandari., Abdullah., dan Netty. 2021. Ketahanan kalus embrio kedelai (*Glycine max* L) terhadap tekanan salinitas (Nacl) secara in vitro. *Journal Techno Eco-Farming*. 1(1).
- Xu, K., Chang, Y., Liu, K., Wang, F., Liu, Z., Zhang, T., and Li, C. 2014. Regeneration of *Solanum nigrum* by somatic embryogenesis, involving frog egg-like body, a novel structure. *PloS one*. 9(6): e98672.
- Yelli, F., Ardian, A., Utomo, S. D., Setiawan, K., dan Surtono, A. 2023. Sosialisasi perbanyak bibit ubi kayu melalui teknologi kultur jaringan kepada Kelompok Tani Wira Bakti 1 Lampung Tengah, Lampung. *Abdimas Galuh*. 5(1): 337-345.
- Yelli, F., Titin, A., Utomo, S.D., and Pathak, A. 2023. Somatic embryogenesis in two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 51(1): 1-13.
- Yelnititis, Y. 2012. Pembentukan kalus remah dari eksplan daun ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 6(3): 181–194.
- Zhang, J., Gai, M., Li, X., Li, T., and Sun, H. 2016. Somatic embryogenesis and direct as well as indirect organogenesis in *Lilium pumilum* DC. Fisch., an endangered ornamental and medicinal plant. *Biosci Biotechnol Biochem*. 80(10): 1898-1906.
- Ziraluo, Y. P. B. 2021. Metode perbanyak tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* Poirlet) dengan teknik kultur jaringan atau stek planlet. *Jurnal Inovasi Penelitian*. 2(3): 1037-1046.
- Zulkarnain, H. 2022. *Kultur Jaringan Tanaman : Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Bumi Aksara. Jakarta. 9 hlm.