

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

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

Sabrina Salsabila Sulaeman¹, Fitri Yelli^{1*}, Agus Karyanto¹, dan Radix Suharjo²

¹Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Indonesia

²Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: fitri.yelli@fp.unila.ac.id

ARTICLE HISTORY:

Received: 12 January 2025

Peer Review: 29 March 2025

Accepted: 30 October 2029

KATA KUNCI:

2,4-D, embriogenesis
somatik, picloram, singkong

KEYWORDS:

2,4-D, cassava, somatic
embryogenesis, picloram

ABSTRAK

Ubi kayu merupakan tanaman pangan penting dengan beragam fungsi. Perbaikan genetik ubi kayu dibutuhkan untuk menghasilkan tanaman dengan kuantitas dan kualitas yang lebih baik. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan perbaikan genetik secara bioteknologi melalui transformasi genetik. Proses transformasi genetik memerlukan sel target yang dapat diperoleh melalui embriogenesis somatik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi auksin terhadap induksi kalus primer dan embriogenesis somatik ubi kayu klon SN. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktor tunggal berupa berbagai jenis dan konsentrasi ZPT, yaitu: kontrol (MS + NAA 6 mg/l), MS + Picloram (8 mg/l, 12 mg/l, dan 15 mg/l) + NAA 6 mg/l, dan MS + 2,4-D (8 mg/l, 12 mg/l, dan 15 mg/l) + NAA 6 mg/l. Hasil penelitian berdasarkan perhitungan rata-rata menunjukkan bahwa waktu muncul kalus tercepat adalah pada media dengan penambahan 2,4-D 8 mg/l + 6 mg/l NAA (9,79 hsi) dengan bobot kalus sebesar 0,091 g. Perlakuan picloram 12 mg/l, 2,4-D 8 mg/l, dan 2,4-D 12 mg/l menghasilkan persentase eksplan berkalus yang sama yaitu sebesar 92±1,1%. Persentase kalus berembrio perlakuan 2,4-D 8 mg/l adalah sebesar 44±1,8% dengan jumlah embrio sebanyak 35 embrio. Perlakuan picloram 12 mg/l memiliki persentase kalus berembrio sebesar 17±1,8% dan jumlah embrio sebanyak 8 embrio.

ABSTRACT

Cassava is an important food crop with various functions. Genetic improvement of cassava is needed to produce plant that has better quantity and quality. One of the ways that can be used is to conduct genetic improvement biotechnologically through plant genetic transformation. The process of genetic transformation requires target cells that can be obtained through somatic embryogenesis. This research aims to determine the effect of type and concentration of auxin on primary callus induction and somatic embryogenesis of cassava clone SN. This research used a single factor completely randomized design in the form of various types and concentrations of PGRs, namely: control (MS + NAA 6 mg/l), MS + Picloram (8 mg/l, 12 mg/l, and 15 mg/l) + NAA 6 mg/l, and MS + 2,4-D (8 mg/l, 12 mg/l, and 15 mg/l) + NAA 6 mg/l. The results of this research based on the calculation of the average showed that the fastest callus emergence time was in the media with the addition of 2,4-D 8 mg/l + 6 mg/l NAA (9,79 hsi) with callus weight of 0,091 g. The treatment of picloram 12 mg/l, 2,4-D 8 mg/l, and 2,4-D 12 mg/l produced the same percentage of callus explants at 92 ± 1,1%. The percentage of embryonic callus in the treatment of 2,4-D 8 mg/l is 44 ± 1,8% with the number of embryos is 35 embryos. The 12 mg/l picloram treatment has a percentage of embryonic callus of 17 ± 1,8% and the number of embryos is 8 embryos.

1. PENDAHULUAN

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

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

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

Pengembangan ubi kayu di Indonesia menemui beberapa kendala diantaranya adalah ketersediaan bibit ubi kayu varietas unggul yang terbatas terutama pada saat musim panas panjang, kadar pati yang rendah (Nintania *et al.*, 2021), kadar protein yang rendah, dan tingginya kandungan senyawa sianogenik pada beberapa genotip ubi kayu (Ariani *et al.*, 2017). Upaya peningkatan produksi dan perbaikan kualitas ubi kayu dapat dilakukan melalui perakitan varietas unggul menggunakan rekayasa genetik tanaman. Transformasi genetik merupakan salah satu tahapan dalam proses perakitan varietas unggul dengan metode rekayasa genetik yaitu menyisipkan *gene of interest* ke genom tanaman yang akan diperbaiki genetiknya. Dalam hal ini, kultur jaringan berperan penting dalam menyediakan sel target untuk penyisipan gen.

Kultur jaringan adalah suatu teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro* melalui organ tanaman yang ditumbuhkan dalam suatu media pada keadaan steril. Kultur jaringan bertujuan untuk mendapatkan tanaman dengan jumlah yang besar dan dalam waktu yang singkat (Yuniardi, 2019). Pada kultur jaringan terdapat dua sistem regenerasi yaitu dengan embriogenesis somatik dan organogenesis. Embriogenesis somatik merupakan suatu proses pembentukan embrio dari sel atau jaringan somatik tanaman dan akan berkembang menghasilkan individu baru (Sualang *et al.*, 2023). Embriogenesis somatik akan menghasilkan kalus yang bersifat embriogenik. Kalus ini bersifat meristematik dan mengandung banyak sel sehingga akan meningkatkan efisiensi dalam proses transformasi genetik (Budaya *et al.*, 2022). Kalus embriogenik berpotensi menjadi sel target pada transformasi genetik karena memiliki daya regenerasi yang tinggi (Koetle *et al.*, 2015). Embrio yang dihasilkan kemudian akan mengalami pembelahan sel membentuk organ-organ tanaman seperti tunas, daun, dan akar.

Induksi kalus untuk membentuk embrio membutuhkan zat pengatur tumbuh (ZPT). Penambahan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi yang tepat dalam media akan menentukan keberhasilan pada regenerasi tanaman (Yelli *et al.*, 2022). Terdapat dua kelompok ZPT yang sering

digunakan dalam kultur *in vitro* untuk induksi kalus yaitu auksin dan sitokinin (Wardani, 2020). Penggunaan ZPT auksin dapat mempengaruhi diferensiasi sel, pertambahan panjang batang, dan percabangan akar. Auksin picloram dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) banyak digunakan dalam penelitian untuk menginduksi kalus.

Picloram adalah auksin yang banyak digunakan karena dapat menginduksi kalus dengan lebih cepat dibandingkan jenis auksin lain (Rahman *et al.*, 2025). Penggunaan picloram dalam media induksi kalus embriogenik terbukti paling efektif untuk menghasilkan kalus embriogenik pada tanaman ubi kayu (Syombua *et al.*, 2019). Auksin 2,4-D adalah salah satu jenis auksin endogen dalam sel yang bila ditambahkan dalam media kultur akan memicu proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman. Auksin 2,4-D juga efektif dalam merangsang pembentukan kalus, organogenesis, diferensiasi sel, serta menjaga pertumbuhan kalus (Sitinjak *et al.*, 2015).

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

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

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

2.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah autoklaf, *water destilator*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), alat-alat diseksi seperti gunting, pinset, *scalpel*, dan petridish. Bahan yang digunakan yaitu media dasar Murashige dan Skoog (MS), ZPT (Picloram, Naphthalene acetic acid (NAA), dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), gelrite, CuSO₄, tisu, kapas, aquades, spirtus, detergen, agar-agar, air, bayclin (NaOCl), alkohol 70%, sabun cuci piring, larutan tweens-20, sukrosa, KOH 1 N, HCl 1 N, air steril dan tunas ubi kayu klon SN.

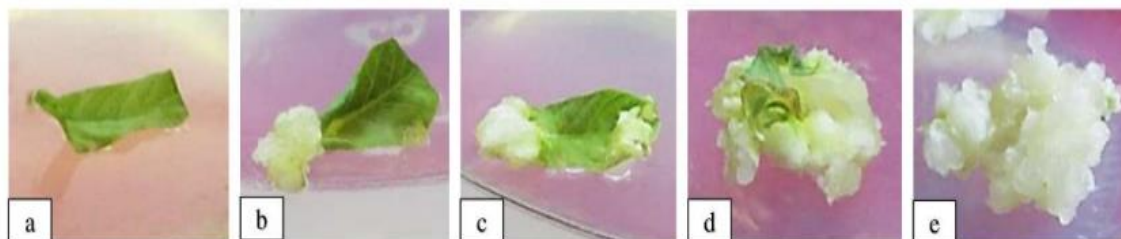
2.3 Metode Penelitian

Perlakuan disusun secara tunggal (satu faktor) yaitu penambahan berbagai jenis zat pengatur tumbuh auksin. Terdapat 7 jenis perlakuan dengan setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali dan setiap ulangan terdiri dari 3 botol serta setiap botol diisi dengan 3 eksplan. Total eksplan yang digunakan sebanyak 252 dalam 28 satuan percobaan. Data yang diperoleh diuji homogenitasnya menggunakan uji Bartlett dan aditivitas diuji dengan uji tukey. Selanjutnya, data diolah dan dianalisis menggunakan ANOVA (analysis of variance) pada taraf 5% dan dilanjutkan dengan uji BNT 5%. Tujuh kombinasi perlakuan yang digunakan adalah MS + NAA 6 mg/l (kontrol), MS + Picloram 8 mg/l + NAA 6 mg/l, MS + Picloram 12 mg/l + NAA 6 mg/l, MS + Picloram 15 mg/l + NAA 6 mg/l, MS + 2,4-D 8 mg/l + NAA 6 mg/l, MS + 2,4-D 12 mg/l + NAA 6 mg/l, MS + 2,4-D 15 mg/l + NAA 6 mg/l.

Eksplan yang digunakan adalah eksplan daun pucuk (2x5 mm²) yang berasal dari tunas steril umur 15 hari setelah induksi (his) di media *in vitro*. Daun pucuk diambil dari tunas yang telah tumbuh dipotong pada bagian ujung-ujungnya sehingga daun berbentuk persegi panjang. Selanjutnya diinduksi pada masing-masing media sesuai perlakuan dan diberi label. Pada tahap akhir setelah penanaman dilakukan maka tanaman diinkubasi pada ruang kultur dengan kondisi gelap dan suhu 23±°C. Subkultur dilakukan pada minggu ketiga pada media yang sama. Hal ini bertujuan untuk memperbaharui kandungan nutrisi pada media induksi kalus yang digunakan.

Tabel 1. Skoring Pembentukan Kalus Primer Per Eksplan

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



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

Pembentukan kalus pada eksplan dikelompokkan berdasarkan skor yang dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1. Persentase eksplan berkalus dan persentase eksplan berembrio dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Persentase eksplan berkalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan berkalus}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Persentase kalus berembrio} = \frac{\text{Jumlah kalus berembrio}}{\text{Jumlah kalus embriogenik}} \times 100\% \quad (2)$$

Variabel pengamatan dalam penelitian ini dibedakan menjadi dua yaitu pengamatan visual dan pengamatan kuantitatif. Pengamatan visual berupa visualisasi perkembangan kalus primer dan embrio somatik. Pengamatan perkembangan embrio dilakukan menggunakan mikroskop stereo. Pengamatan kuantitatif berupa waktu muncul kalus primer, skoring pembentukan kalus per eksplan 2 dan 3 minggu setelah induksi (msi), bobot kalus primer 3 msi, persentase eksplan berkalus 3 msi, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio. Skoring dilakukan dengan cara mengamati pertumbuhan kalus per eksplan yang dilakukan setiap minggu.

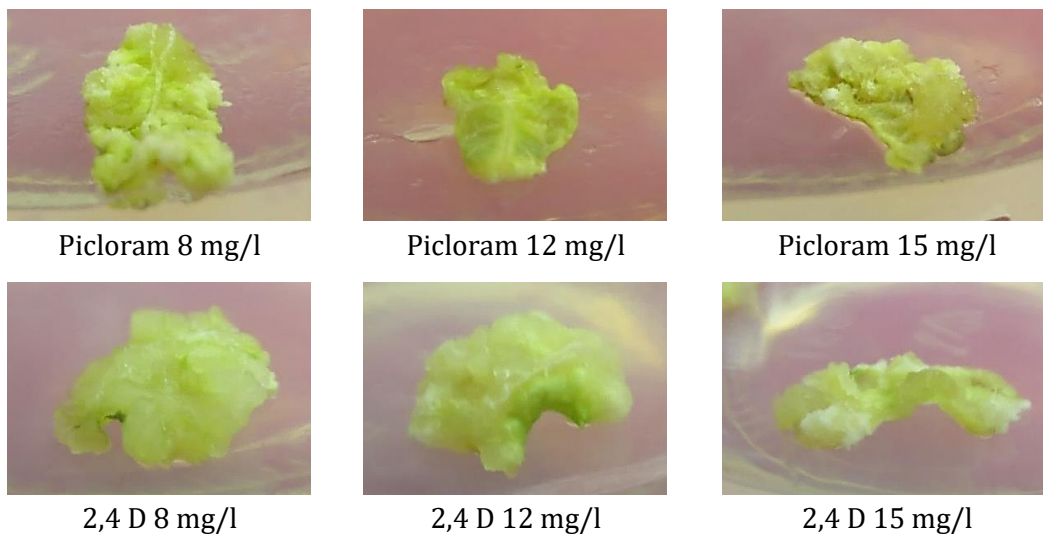
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian ini disajikan hasil pengamatan terhadap visualisasi perkembangan kalus primer dan embrio somatik ubi kayu klon SN. Selain itu, disajikan juga hasil pengamatan terhadap variabel kuantitatif, antara lain waktu muncul kalus, skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 2 dan 3 msi, bobot kalus primer 3 msi, persentase eksplan berkalus, persentase kalus berembrio, dan jumlah embrio.

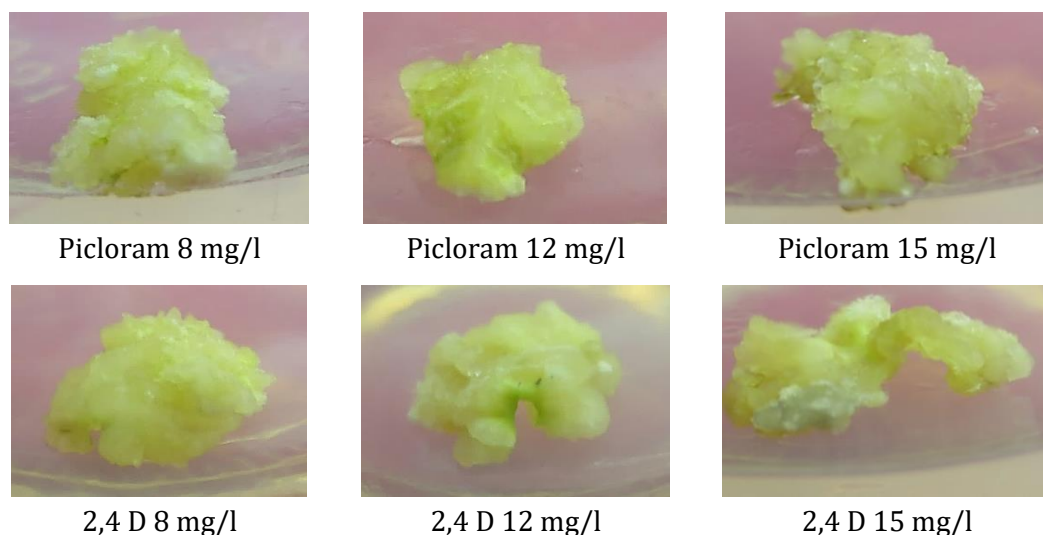
3.1 Visualisasi Perkembangan Kalus Primer dan Embrio Somatik Ubi Kayu Klon SN

Berdasarkan pengamatan terhadap perkembangan pembentukan kalus dan embrio somatik tanaman ubi kayu klon SN, kalus pada media 2,4-D menunjukkan perkembangan dan pertumbuhan kalus yang lebih cepat dan lebih baik dibandingkan kalus pada media picloram. Pada minggu ke-2 di media induksi kalus 2,4-D 8 mg/l menunjukkan warna dan struktur kalus yang embriogenik. Kalus ini menunjukkan ciri-ciri kalus berstruktur remah, berwarna putih kekuningan, dan permukaan kalus yang mengkilat (Gambar 2).

Kalus yang mempunyai tekstur remah adalah kalus yang mempunyai kualitas baik (Tarigan *et al.*, 2023). Kalus yang bertekstur remah mudah dipisahkan menjadi sel tunggal karena ruang antar selnya besar serta memiliki banyak kandungan air (Setiawati *et al.*, 2021). Kalus kompak adalah kalus yang bertekstur padat, rapat, dan keras sehingga tidak dapat dipisahkan menjadi sel tunggal karena sel-selnya kecil (Julianti *et al.*, 2021). Pertumbuhan sel-sel kalus paling baik pada klon SN terlihat pada perlakuan 2,4-D 8 mg/l. Zat pengatur tumbuh 2,4-D secara efektif menstimulasi pembentukan kalus karena kemampuannya yang tinggi dalam mendorong diferensiasi sel dan mempertahankan pertumbuhan kalus (Sitinjak *et al.*, 2015). Pada perlakuan 2,4-D 12 mg/l dan 15 mg/l terjadi penurunan kualitas kalus. Hal ini karena konsentrasi ZPT yang tinggi memberikan respon yang menghambat pertumbuhan sel tanaman. Proses metabolisme tanaman dapat terhambat dan menjadi kurang aktif apabila diberikan ZPT dengan konsentrasi tinggi (Rokhmah, 2020).



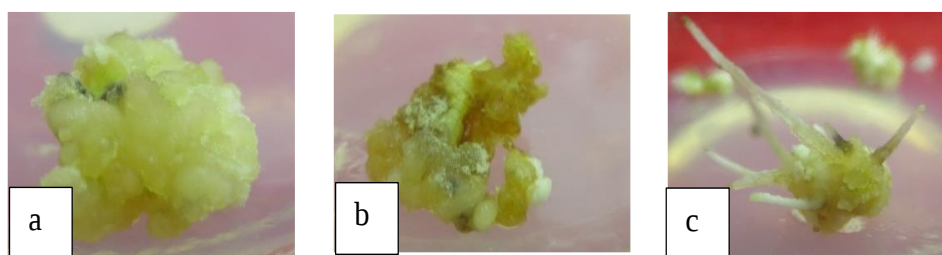
Gambar 2. Visualisasi kalus primer ubi kayu klon SN 2 msi pada media induksi kalus primer.



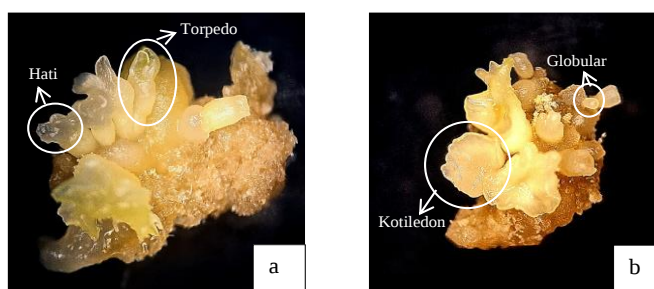
Gambar 3. Visualisasi kalus primer ubi kayu klon SN 3 msi pada media induksi kalus primer.

Pertumbuhan kalus pada minggu ke-3 terlihat pada tiap perlakuan seluruh permukaan eksplan sudah berkalus (Gambar 3). Kalus pada perlakuan picloram 8 mg/l dan 2,4-D 8 mg/l menghasilkan ciri kalus yang baik yaitu berwarna cerah, remah, dan permukaan kalus mengkilat. Kalus yang baik dapat menghasilkan kalus yang bersifat embriogenik. Kalus embriogenik mempunyai kalus yang bertekstur gembur, terlihat kering, serta memiliki warna putih hingga kekuningan (Ningtiyas *et al.*, 2016). Kalus embriogenik merupakan kalus yang sel-selnya mempunyai potensi untuk membentuk embrio. Kalus pada perlakuan picloram 12 mg/l menghasilkan kalus yang kurang berkembang dan kurang padat dibandingkan kalus pada 2,4-D 12 mg/l. Kalus pada perlakuan picloram 15 mg/l dan 2,4-D 15 mg/l menghasilkan kalus yang kurang berkembang dibandingkan pada perlakuan 2,4-D 8 mg/l. Kalus dari dua perlakuan ini menunjukkan ciri-ciri kalus bertekstur padat dan berwarna putih seperti kapas. Ciri kalus seperti ini menunjukkan kalus yang bersifat non embriogenik. Selain itu, kalus yang memiliki ciri berwarna coklat kehitaman menunjukkan kalus yang bersifat non embriogenik karena kalus mengalami *browning* sehingga tidak bisa berdiferensiasi, struktur kalus kompak, serta kalus tampak basah (Hidayah dan Dewanti, 2021).

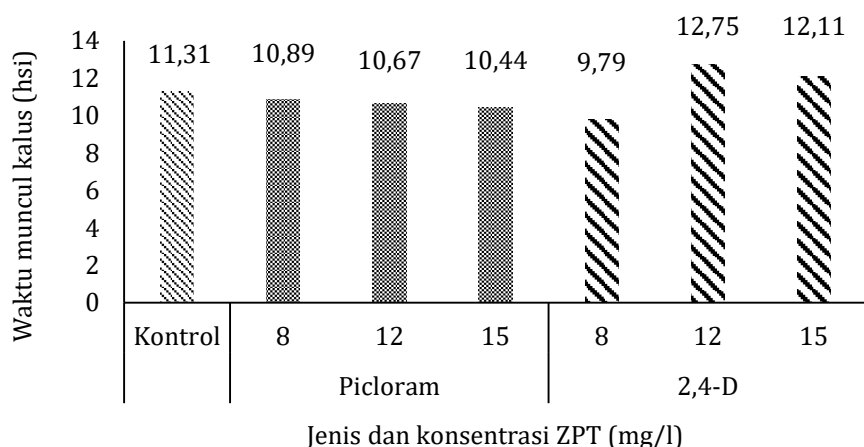
Warna kalus dapat menjadi indikator untuk membedakan sel-sel kalus yang masih aktif membelah atau sudah berhenti membelah (Afiyah *et al.*, 2022). Warna kalus putih kekuningan mencirikan kondisi kalus embriogenik (Setiawati *et al.*, 2021) yang memungkinkan kalus berproliferasi menjadi embrio somatik (Oktafiana *et al.*, 2022). Kalus yang kurang berkembang pada perlakuan picloram 15 mg/l dan 2,4-D 15 mg/l dapat disebabkan oleh konsentrasi ZPT yang tinggi sehingga menghambat pertumbuhan sel tanaman. Terdapat 3 tipe kalus yang terbentuk dari penelitian ini yaitu kalus embriogenik (Gambar 4a), kalus non embriogenik (Gambar 4b), dan kalus yang menghasilkan akar (Gambar 4c). Kalus embriogenik akan berkembang dan menghasilkan embrio dan kalus non embriogenik tidak menghasilkan embrio. Kalus akar dicirikan dengan akar yang tumbuh pada kalus dan tidak bersifat embriogenik. Pada minggu ke-8 dilakukan pengamatan terhadap struktur embrio yang terbentuk menggunakan mikroskop stereo. Kalus yang menghasilkan embrio berasal dari perlakuan 2,4-D 8 mg/l dan picloram 12 mg/l. Sedangkan, pada media perlakuan lainnya kalus primer tidak mampu berkembang menjadi embrio. Pada penelitian ini, dihasilkan 4 fase embrio somatik yaitu fase globular, hati, torpedo, dan kotiledon (Gambar 5).



Gambar 4. Visualisasi kalus embriogenik dan non embriogenik ubi kayu klon SN 3 msi: (a) kalus embriogenik, (b) kalus non embriogenik, (c) kalus akar.



Gambar 5. Visualisasi dan perkembangan kalus berembrio ubi kayu klon SN 8 minggu setelah induksi: (a) embrio perlakuan picloram 12 mg/l dan (b) embrio perlakuan 2,4-D 8 mg/L.



Gambar 6. Pengaruh jenis dan konsentrasi ZPT picloram dan 2,4-D terhadap waktu muncul kalus primer.

Tabel 2. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Skoring Persentase Pembentukan Kalus per Eksplan 3 Minggu Setelah Induksi.

Perlakuan	Rerata skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 3 msi
Kontrol	3,222 a
Picloram 8 mg/l	2,875 a
Picloram 12 mg/l	2,944 a
Picloram 15 mg/l	3,028 a
2,4-D 8 mg/l	2,875 a
2,4-D 12 mg/l	2,056 b
2,4-D 15 mg/l	1,931 b

Keterangan: Dua Nilai Tengah yang Tidak Diikuti Huruf yang Sama Dinyatakan Berbeda Nyata Berdasarkan Uji BNT 5% = 0,355.

3.2 Waktu Muncul Kalus

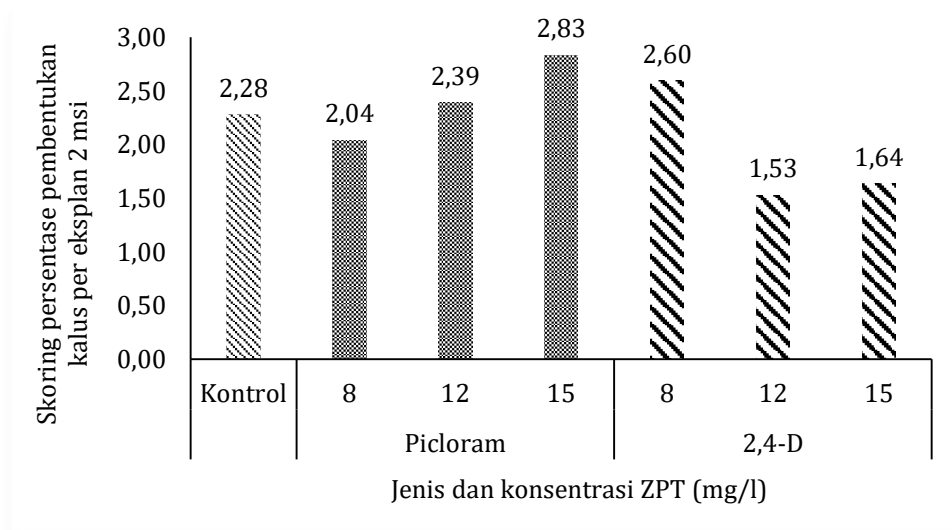
Jenis dan konsentrasi ZPT berpengaruh tidak nyata terhadap waktu muncul kalus berdasarkan hasil analisis ragam. Berdasarkan rata-rata waktu muncul kalus diketahui bahwa kalus tampak lebih cepat tumbuh pada perlakuan 2,4-D 8 mg/l yaitu 9,79 hsi. Pertumbuhan kalus lebih lambat pada perlakuan dengan penambahan 2,4-D 12 mg/l yaitu 12,75 hsi. Penambahan picloram pada media induksi menghasilkan rata-rata waktu muncul kalus berkisar antara 10,67 – 10,89. Sedangkan kalus baru mulai terbentuk di media kontrol pada 11,31 hsi (Gambar 6). Respon tanaman terhadap waktu muncul kalus berbeda tergantung jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan, varietas, umur tanaman, bagian eksplan, serta kemampuan tanaman menyerap unsur hara. Penelitian yang dilakukan Tarigan (2023) menunjukkan waktu muncul kalus pada tanaman bangle menggunakan 1 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin adalah 10,8 HST. Selain itu, waktu muncul kalus primer pada tanaman ubi kayu klon BW-1 dan UJ-3 menggunakan picloram 7,5 mg/l, 10 mg/l, 12,5 mg/l, dan 15 mg/l yaitu 8-13 hsi (Yelli et al, 2023). Interaksi dan keseimbangan yang terjadi antara hormon endogen dengan ZPT eksogen pada eksplan menyebabkan waktu muncul kalus yang cepat (Tarigan et al., 2023).

3.3 Skoring Persentase Pembentukan Kalus per Eksplan 2 MSI dan 3 MSI

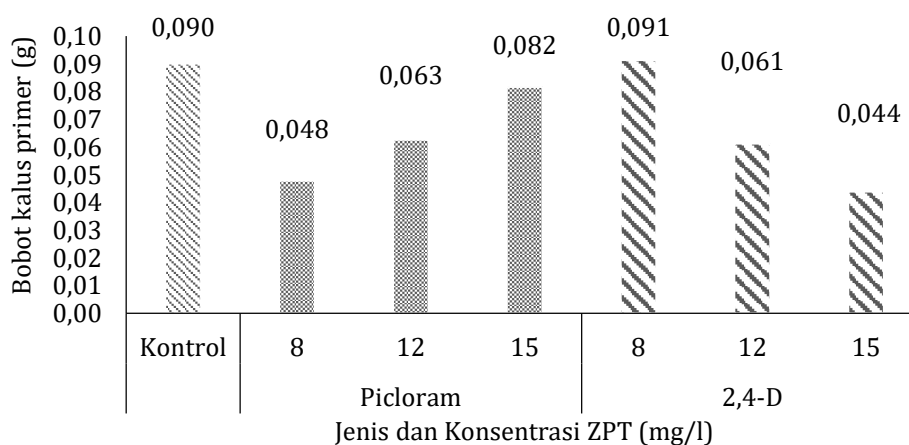
Skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 2 msi menunjukkan hasil analisis ragam tidak berbeda nyata antar perlakuan. Berdasarkan rata-rata, perlakuan picloram 15 mg/l menunjukkan skoring persentase sebesar 2,83 (50-75% kalus menutupi eksplan) dan skoring persentase pada perlakuan 2,4-D 12 mg/l yaitu 1,53 (>25% kalus menutupi eksplan) (Gambar 7).

Pembentukan kalus yang lebih cepat pada dua minggu pertama induksi dapat meningkatkan persentase pembentukan kalus pada luas permukaan eksplan yang lebih besar karena pembentukan kalus yang terjadi lebih awal.

Hasil pengamatan terhadap skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 3 msi berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel 2). Perlakuan picloram 8 mg/l, 12 mg/l, 15 mg/l, dan 2,4-D 8 mg/l merupakan konsentrasi terbaik dalam pembentukan kalus dengan skor 50-75% permukaan eksplan tertutupi kalus. Berbeda dengan perlakuan lainnya, perlakuan 2,4-D 12 mg/l dan 15 mg/l menunjukkan respon yang lebih rendah. Auksin picloram banyak digunakan untuk menginduksi kalus dengan lebih cepat. Penggunaan auksin 2,4-D 8 mg/l sama baiknya dengan penggunaan picloram pada ubi kayu klon SN terhadap skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 3 msi. Kecepatan pembentukan kalus dipengaruhi oleh faktor kecepatan sel membelah karena pemberian konsentrasi hormon auksin 2,4-D, kemudian didukung oleh kemampuan jaringan menyerap zat hara, kondisi genetis tanaman, umur jaringan, serta faktor eksternal lingkungan (Robles *et al.*, 2016).



Gambar 7. Pengaruh jenis dan konsentrasi picloram dan 2,4-D terhadap skoring persentase pembentukan kalus per eksplan 2 minggu setelah induksi.



Gambar 8. Pengaruh jenis dan konsentrasi picloram dan 2,4-D terhadap bobot kalus primer 3 minggu setelah induksi.

3.4 Bobot Kalus Primer 3 MSI

Berdasarkan hasil analisis ragam terhadap bobot kalus primer menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Rata-rata bobot kalus terbesar yaitu pada perlakuan 2,4-D 8 mg/l sebesar 0,091 g. Sedangkan, bobot kalus pada kontrol sebesar 0,090 g. Bobot kalus terendah ditunjukkan oleh perlakuan 2,4-D 15 mg/l sebesar 0,044 g (Gambar 8). Auksin 2,4-D yang digunakan berfungsi dalam merangsang pertumbuhan dan pembesaran kalus. Bobot kalus yang semakin tinggi dapat dilihat dari besarnya gumpalan massa kalus yang semakin besar. Hal ini dipengaruhi oleh pembelahan sel-sel kalus dan kandungan air dalam sel-sel kalus yang semakin membesar sehingga meningkatkan bobot kalus. Secara fisiologi, perubahan genetik sel tanaman akibat pemberian auksin akan mempengaruhi pembentukan kalus. Sel akan merespon kemudian mengalami dediferensiasi serta mendorong pembelahan sel (Damanik *et al.*, 2015). Auksin akan berperan sebagai inhibitor bila konsentrasi yang diberikan tidak tepat (Debitama, *et al.*, 2022).

3.5 Persentase Eksplan Berkalus

Persentase eksplan berkalus menunjukkan indikator respon eksplan terhadap jenis dan konsentrasi ZPT. Kalus berasal dari pembengkakan yang kemudian membentuk jaringan putih di daerah perlakuan eksplan (Tarigan *et al.*, 2023). Perlakuan Picloram 12 mg/l, 2,4-D 8 mg/l, dan 2,4-D 12 mg/l menunjukkan persentase eksplan berkalus sebesar $92 \pm 1,1$ % pada ubi kayu klon SN. Sedangkan, perlakuan 0, Picloram 8 mg/l, Picloram 15 mg/l, dan 2,4-D 15 mg/l menunjukkan persentase eksplan berkalus sebesar $83 \pm 2,1$ % (Tabel 3). Pemberian auksin picloram dan 2,4-D mempengaruhi proses pembentukan kalus karena auksin membantu menstimulus pembelahan sel sehingga dapat berkembang menjadi kalus. Penelitian oleh Tarigan *et al.* (2023) menunjukkan bahwa pemberian auksin pada eksplan tanaman bangle dengan perlakuan 1 ppm 2,4-D + 0.5 ppm kinetin memiliki persentase sebesar 100% dibandingkan persentase terendah pada 0 ppm 2,4-D + 0.5 ppm kinetin, serta 0 ppm 2,4-D + 1 ppm kinetin sebesar 20%. Eksplan yang tidak berikan penambahan ZPT tidak akan berkembang membentuk kalus. Persentase eksplan berkalus dipengaruhi oleh perbedaan kombinasi, jenis dan konsentrasi ZPT, serta jenis tanaman yang diinduksi.

3.6 Persentase Kalus Berembrio dan Jumlah Embrio

Berdasarkan hasil pengamatan persentase kalus berembrio pada ubi kayu klon SN (Tabel 4), perlakuan 2,4-D 8 mg/l menghasilkan persentase kalus berembrio sebesar $44 \pm 1,8$ % dan picloram 12 mg/l sebesar $17 \pm 1,8$ %. Berdasarkan hasil pengamatan jumlah embrio, perlakuan 2,4-D 8 mg/l memperoleh 35 embrio dengan rerata jumlah embrio $8,75 \pm 10,9$. Perlakuan picloram 12 mg/l menghasilkan jumlah embrio sebanyak 8 embrio dengan rerata jumlah embrio $8 \pm 2,4$ (Tabel 5). Kalus yang berasal dari auksin 2,4-D menghasilkan embrio per rumpun yang lebih banyak dibandingkan picloram (Danso *et al.*, 2010).

Tabel 3. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Persentase Eksplan Berkalus 3 Minggu Setelah Induksi (%).

Perlakuan	Jumlah eksplan berkalus	Jumlah eksplan	Persentase eksplan berkalus $\pm$ SE
Kontrol	30	36	$83 \pm 2,1$
Picloram 8 mg/l	30	36	$83 \pm 2,1$
Picloram 12 mg/l	33	36	$92 \pm 1,1$
Picloram 15 mg/l	30	36	$83 \pm 2,1$
2,4-D 8 mg/l	33	36	$92 \pm 1,1$
2,4-D 12 mg/l	33	36	$92 \pm 1,1$
2,4-D 15 mg/l	30	36	$83 \pm 2,1$

Tabel 4. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Persentase Kalus Berembrio (%).

Perlakuan	Jumlah kalus embriogenik	Jumlah kalus berembrio	Persentase kalus berembrio $\pm$ SE
Kontrol	0	0	0 $\pm$ 0,0
Picloram 8 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0
Picloram 12 mg/l	6	1	17 $\pm$ 1,8
Picloram 15 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0
2,4-D 8 mg/l	9	4	44 $\pm$ 1,8
2,4-D 12 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0
2,4-D 15 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0

Tabel 5. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Picloram dan 2,4-D terhadap Jumlah Embrio.

Perlakuan	Jumlah kalus berembrio	Jumlah embrio	Rerata jumlah embrio $\pm$ SE
Kontrol	0	0	0 $\pm$ 0,0
Picloram 8 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0
Picloram 12 mg/l	1	8	8 $\pm$ 2,4
Picloram 15 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0
2,4-D 8 mg/l	4	35	8,75 $\pm$ 10,9
2,4-D 12 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0
2,4-D 15 mg/l	0	0	0 $\pm$ 0,0

Faktor seperti sifat kalus yang lebih lembut dan mudah hancur pada perlakuan picloram, membuat kalus dengan perlakuan 2,4-D menghasilkan embrio dan persentase embrio yang lebih tinggi dibandingkan picloram (Danso *et al.*, 2010). Penggunaan ZPT dengan konsentrasi 2,4-D yang tepat akan menghasilkan kalus yang embriogenik pada fase induksi kalus dan proliferasi (Mardiana *et al.*, 2023).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kedua jenis ZPT auksin yang digunakan mampu menginduksi pembentukan kalus dan embrio somatik pada konsentrasi yang berbeda. Kalus primer terbentuk lebih awal yaitu 9,79 hsi pada media yang diinduksi dengan auksin 2,4-D 8 mg/l sedangkan penambahan picloram menghasilkan kalus berkisar antara 10-11 hari setelah induksi. Skoring pembentukan kalus pereksplan 3 msi pada picloram 12 mg/l sebesar 2,94 (25-50% kalus menutupi eksplan) dengan persentase eksplan berkalus 92 $\pm$ 1,1% dan menghasilkan embrio sebanyak 8 embrio dengan persentase kalus berembrio 17%. Skoring pembentukan kalus pereksplan 3 msi pada 2,4-D 8 mg/l sebesar 2,87 (25-50% kalus menutupi eksplan), persentase eksplan berkalus sebesar 92 $\pm$ 1,1%, persentase eksplan berembrio sebesar 44% dengan jumlah embrio per eksplan sebesar 8,75 embrio.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Afiyah, N.N., M.I. Surya, L. Ismaini, E. Azizah, N.W. Saputro. 2022. Inisiasi kalus secara *in vitro* dari daun *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. *Buletin Kebun Raya*. 23(5): 121-130.
- Afza, Higa, dan K. Dwiatmini. 2021. *Analisa Kandungan Pati 50 Aksesori Plasma Nutfah Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz.) Koleksi Bank Gen Balitbangtan*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Bogor.
- Ariani, L.N., T. Estiasih, dan E. Martati. 2017. Physicochemical characteristic of cassava (*Manihot utilisima*) with different cyanide level. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 18(2): 119-128.

- Budaya, M.S., E. Mursyanti, dan P. Yuda. 2022. Transformasi genetik pada kalus embriogenik tanaman suku rubiaceae. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 7(2): 94–107.
- Damanik, I.R., E. Kumianjani, dan L.A.M. Siregar. 2015. Pengaruh pemberian N 2,4-D terhadap pertumbuhan dan metabolisme kalus kedelai pada kondisi hipoksida secara *in vitro*. *Jurnal Agroekoteknologi*. 4(1): 1673-1680.
- Danso, K.E., W. Elegba, V. Oduro, and P. Kpentey. 2010. Comparative study of 2,4-D and Picloram on friable embryogenic calli and somatic embryos development in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *International Journal of Integrative Biology*. 10(2): 94–100.
- Debitama, A.M.N.H., I.A. Mawarni, dan U. Hasanah. 2022. Pengaruh hormon auksin sebagai zat pengatur tumbuh pada beberapa jenis tumbuhan *monocotyledoneae* dan *dicotyledoneae*. *Biodidaktika: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*. 17(1): 120-130.
- Herlina, E., dan F. Nuraeni. 2014. Pengembangan produk pangan fungsional berbasis ubi kayu (*Manihot esculenta*) dalam menunjang ketahanan pangan. *Jurnal Sains Dasar*. 3(2): 142–148.
- Hidayah, V.N., dan P. Dewanti. 2023. Pengaruh kombinasi BAP (6- benzylaminopurine) dan 2,4-D (*Dichlorophenoxy Acetic Acid*) untuk pembentukan kalus tebu (*Saccharum officinarum* L.) melalui metode Thun. *Jurnal Agrotek Tropika*. 11(1): 89–95.
- Hidayatun dan Nurul. 2021. *Prosiding Seminar Nasional Komisi Nasional Sumber Daya Genetik: Peran Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik dalam Mendukung Pertanian Maju, Mandiri, dan Modern*. Penerbit Deepublish. Bogor. 813 hlm.
- Julianti, R.F., Y. Nurchayati, dan N. Setiari. 2021. Pengaruh konsentrasi sukrosa dalam medium MA terhadap kandungan flavonoid kalus tomat (*Solanum lycopersicum syn Lycopersicon esculentum*). *Jurnal Metamorfosa*. 8(1): 141-149.
- Koetle, M.J., J.F. Finnie, E. Balázs, dan J. Van Staden. 2015. A review on factors affecting the Agrobacterium-mediated genetic transformation in ornamental monocotyledonous geophytes. *South African Journal of Botany*. 98: 37–44.
- Mardiana, A.R.W., P. Dewanti, dan F.N. Alfian. 2023. Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin pada induksi dan regenerasi tebu melalui metode *Thin Cell Layer*. *Jurnal Vegetalika*. 12(3): 356–371.
- Ningtiyas, W.N., P. Dewanti, and B. Sugiharto. 2016. Preservation effect of peg (polyethylene glycol) on synthetic seed of sugarcane (*Saccharum officinarum* l.) var. Nxi 1,3. *Annales Bogorienses*. 20(2): 63-68.
- Nintania, R., K. Setiawan, E. Yuliadi, dan M.S. Hadi. 2021. Evaluasi pertumbuhan dan kadar pati beberapa klon ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Tropical Upland Resources*. 3(1): 36–44.
- Oktafiana, N., S. Ummayah, W.N. Ningtyas, dan B. Sugiharto. 2022. Regenerasi kalus embriogenik Sorgum (*Sorghum bicolor*) menggunakan kombinasi ZPT dan mikronutrien. *Agriprima*. 6(1): 54-61.
- Rahman, N., A.A.A. Azizi, N.S. Hartati, N. Saribanon. 2025. Induksi dan regenerasi embrio somatik empat jenis ubi kayu menggunakan beberapa konsentrasi pikloram. *Vegetalika*. 14(1): 46-59.
- Robles. M., B. Rosa, dan F. Gueroud. 2016. Establishment of callus and cell suspensions of wild and domesticated opuntia species: study on their potencial as a source of metabolite production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 124(1): 181 – 189.
- Rokhmah dan Fatkhiyatul. 2020. Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh air kelapa muda terhadap pertumbuhan beberapa varietas jahe (*Zingiber officinale* rosc.). *Jurnal Ilmiah Pertanian*. 15(2): 65-70.
- Saida dan D. Maidiah. 2023. *Analisis Kinerja Perdagangan Ubi Kayu*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian. Jakarta. 65 hlm.

- Setiawati, T., A.L. Astuti, M. Nurzaman, dan N. Ratningsih. 2021. Analisis pertumbuhan dan kandungan total flavonoid kultur kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) dengan Pemberian Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Air Kelapa. *J. Pro-Life*. 8(1): 32-44.
- Silalahi, K.J.A., S.D. Utomo, A. Edy, dan N. Sa'diyah. 2019. Evaluasi karakter morfologi dan agronomi ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) 13 populasi F1 di Bandar Lampung. *Jurnal Agrotek Tropika*. 7(1): 281-289.
- Sitinjak, M.A., M.N. Isda, dan S. Fatonah. 2015. Induksi kalus dari eksplan daun *in vitro* keladi tikus (*Typhonium* sp.) Dengan perlakuan 2,4-D dan kinetin. *Jurnal Biologi*. 8(1): 32-39.
- Sualang, H.K.C., E.F. Lengkong, dan P. Tumewu. 2023. Induction of direct somatic embriogenesis of chrysanthemum in MS and NAA media combined with some cytokinin concentrations. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*. 4(1): 182-190.
- Sutoro, I.H. Somantri, T.S. Silitonga. 2010. *Katalog Data Paspor Plasma Nutfah Tanaman Pangan*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. 282 hlm.
- Syombua, E., C. Wanyonyi, M. Adero, W. Mbinda, M. Ngugi, A.E. Alakonya, and R. Oduor. 2019. Explant type and hormone regime influences somatic embryogenesis and regeneration in cassava. *African Journal of Biotechnology*. 18 (25): 532-539.
- Tarigan, S.D.S., I.A. Astarin, dan N.P.A. Astiti. 2023. Inisiasi kalus bangle (*Zingiber purpureum* Roscoe) pada beberapa kombinasi 2,4-D dan Kinetin. *Jurnal Hort. Indonesia*. 14(2): 93-99.
- Wardani, D.K. 2020. Induksi kalus tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) dengan pemberian konsentrasi auksin jenis 2,4-D (*dichlorophenoxyacetic acid*) dan picloram. *Jurnal Indonesia Sosial Sains*. 1(5): 397-401.
- Yelli, F., A. Titin, S.D. Utomo, dan A. Pathak. 2023. Somatic embryogenesis in two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 5(1): 1-13.
- Yelli, F., S.D. Utomo, dan Ardian. 2022. Pengaruh BA dan NAA terhadap multiplikasi tunas ubi kayu secara *in vitro*. *Jurnal AGRO*. 9(2): 193-207.
- Yuniardi, F. 2019. Aplikasi dimmer switch pada rak kultur sebagai pengatur kebutuhan intensitas cahaya optimum bagi tanaman *in vitro*. *Indonesian Journal of Laboratory*. 2(1): 8-13.