

## EMBRIOGENESIS SOMATIK UBI KAYU (*Manihot esculenta* CRANTZ.) KLON WAXY PADA BEBERAPA JENIS DAN KONSENTRASI AUKSIN 2,4-D ATAU PICLORAM DAN NAA

### SOMATIC EMBRYOGENESIS OF WAXY CASSAVA CLONE AT SEVERAL TYPES AND CONCENTRATIONS OF 2,4-D OR PICLORAM AND NAA

Wahyu Erlangga<sup>1</sup>, Fitri Yelli<sup>1\*</sup>, Yusnita<sup>2</sup> dan Setyo Dwi Utomo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia

<sup>2</sup> Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia.

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

#### PERKEMBANGAN ARTIKEL:

Diterima: 25-1-2025

Direvisi: 18-2-2025

Disetujui: 18-2-2025

#### KEYWORDS:

Cassava, In vitro, Picloram, Somatic embryogenesis, 2,4-D.

#### ABSTRACT

*Indonesia is one of the largest cassava producing countries in the world with various types and advantages. The starch content in cassava can be used for various derivative products. Waxy clones have a high starch content and therefore they can be used as a food substitute for rice. Tissue culture through somatic embryogenesis is an effective technique for rapid and mass seedling propagation. This research aimed to determine the effect of the type and concentration of auxin 2,4-D or picloram and the addition of NAA on the formation of Waxy cassava clone somatic embryos. This research used a completely randomized design (CRD) which was arranged in a non-factorial. Auxin 2,4-D and picloram were used at four concentration levels: 0 mg.l<sup>-1</sup>, 8 mg.l<sup>-1</sup>, 10 mg.l<sup>-1</sup>, 12 mg.l<sup>-1</sup>, and additional NAA treatment of 6 mg.l<sup>-1</sup> each. Results showed that MS + 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA treatment produced the highest callus weight. Meanwhile, the percentage of embryonic callus and number of embryo was higher in the treatment of MS + picloram 12 mg.l<sup>-1</sup> and NAA 6 mg.l<sup>-1</sup> (19.05 ± 5.82 %) and MS + 8 mg.l<sup>-1</sup> 2,4-D + 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA (11.11 ± 3.17 %) with 5.48 ± 3.56 and 4.93 ± 1.95 embryos, respectively. Thus, auxin picloram 12 mg.l<sup>-1</sup> + NAA 6 mg.l<sup>-1</sup> were the most effective in inducing the formation of somatic embryos on waxy cassava clone.*

#### ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil ubi kayu terbesar di dunia dengan berbagai jenis dan keunggulannya. Kandungan pati ubi kayu dapat dimanfaatkan untuk berbagai produk turunannya. Ubi kayu klon Waxy memiliki kandungan kadar pati yang tinggi dan dapat digunakan sebagai bahan pangan pengganti beras. Ketersediaan bibit untuk jenis klon ini masih terbatas. Kultur jaringan merupakan teknik yang efektif digunakan untuk memperbanyak bibit tanaman dengan kuantitas yang lebih banyak, kualitas yang lebih bagus serta waktu yang dibutuhkan relatif singkat. Salah satu cara yang digunakan dalam kultur jaringan adalah embriogenesist somatik. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh jenis dan konsentrasi auksin 2,4-D atau picloram serta penambahan NAA terhadap pembentukan embrio somatik ubi kayu klon Waxy secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial. Penggunaan auksin 2,4-D dan picloram diaplikasikan pada 4 taraf konsentrasi yaitu (0, 8, 10, 12) mg.l<sup>-1</sup> serta penambahan 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA pada setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bobot kalus primer tertinggi dihasilkan pada perlakuan MS + 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA. Persentase kalus berembrio dan jumlah embrio tertinggi berturut-turut diperoleh pada perlakuan MS + picloram 12 mg.l<sup>-1</sup> serta 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA (19,05 ± 5,82 %) dan MS + 8 mg.l<sup>-1</sup> 2,4-D + 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA (11,11 ± 3,17 %) dengan jumlah embrio 5,48 ± 3,56 dan 4,93 ± 1,95 embrio. Dengan demikian jenis dan konsentrasi auksin terbaik untuk induksi embrio somatik ubi kayu klon waxy adalah picloram 12 mg.l<sup>-1</sup> + NAA 6 mg.l<sup>-1</sup>.

KATA KUNCI:  
Embriogenesis somatik, In vitro, NAA, Picloram, Singkong, 2,4-D.

## 1. PENDAHULUAN

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) merupakan tanaman tropis yang berasal dari Brasil dan terdiri atas dua jenis utama, yaitu ubi kayu manis (*Manihot aipi*) dan ubi kayu pahit (*Manihot esculenta* Crantz. / *Manihot utilissima*) (Eliong et al., 2014). Tanaman ini banyak dibudidayakan oleh masyarakat untuk kebutuhan konsumsi pribadi maupun dijual. Pada tahun 2022, produksi ubi kayu di Indonesia mencapai sekitar 14.951.350 ton, dengan Provinsi Lampung sebagai penghasil terbesar, yaitu sebesar 5.941.823 ton (Ditjen Tanaman Pangan, 2022). Ubi kayu banyak dikonsumsi karena kandungan karbohidratnya yang tinggi, yakni 34,7 gram per 100 gram, yang memberikan 146 kalori, sehingga cocok sebagai sumber kalori alternatif pengganti beras (Bantacut, 2011). Di Indonesia, konsumsi beras mencapai 140 kg/kapita per tahun (Juhardi, 2023), sehingga diperlukan alternatif pangan seperti ubi kayu untuk mendukung diversifikasi pangan.

Pengembangan ubi kayu menghadapi tantangan, salah satunya adalah keterbatasan benih unggul berkualitas. Varietas unggul yang dihasilkan melalui proses pemuliaan memerlukan waktu lama untuk dapat tersedia dalam jumlah besar bagi petani. Sebagai contoh, untuk menanam ubi kayu monokultur di lahan satu hektar diperlukan sekitar 10.000 bibit (Waro et al., 2020). Ubi kayu klon Waxy muncul sebagai alternatif yang potensial. Peneliti dari Universitas Lampung (Unila) telah mengembangkan beras siger yang berasal dari ubi kayu (klon Waxy). Keunggulan dari beras siger ini adalah memiliki ciri-ciri beras yang berwarna putih dengan aroma yang normal dan banyak disukai oleh panelis karena nasinya yang bertekstur pulen (Al Rasyid et al., 2019). Kandungan amilosa pada klon Waxy adalah 0% sedangkan pada ubi kayu manis kandungan amilosanya lebih tinggi yaitu sebesar 19,5%. Rendahnya kandungan amilosa yang dihasilkan oleh beras siger dan kandungan amilopektin tinggi menjadikan beras ini lebih bersifat pulen (Ceballos et al., 2007). Beras dengan kandungan amilosa rendah dan amilopektin tinggi menghasilkan nasi yang lebih pulen (Sasmataloka et al., 2020). Namun, untuk mendapatkan bibit klon Waxy masih terbatas dan belum banyak tersedia di masyarakat.

Perbanyakan konvensional pada ubi kayu biasanya dilakukan melalui stek batang. Metode ini cukup sederhana dan mudah dilakukan oleh petani. Namun, teknik ini memiliki beberapa kelemahan, seperti kebutuhan jumlah batang cukup banyak untuk memperbanyak tanaman dalam skala besar. Selain itu, proses ini juga rentan terhadap penyebaran penyakit karena tetua yang digunakan sebagai sumber bibit atau bahan tanam merupakan tanaman yang sudah terserang penyakit. Perbanyakan konvensional juga memerlukan waktu yang cukup lama untuk menghasilkan tanaman yang siap dipanen (Waro et al., 2020). Sebaliknya, kultur jaringan menawarkan sejumlah keunggulan. Teknologi Kultur jaringan telah diketahui keunggulannya dalam perbanyakan tanaman. Teknik ini dapat mengurangi risiko penyebaran penyakit karena dilakukan dalam kondisi steril. Selain itu, tanaman hasil kultur jaringan lebih seragam karena diperbanyak secara vegetatif sehingga sifat genetik tanaman keturunannya sama dengan sifat induknya. Hal ini sangat penting untuk mempertahankan kualitas dan karakteristik varietas unggul (Prakash & Hoque, 2004).

Kultur jaringan merupakan kegiatan memperbanyak tanaman dalam kondisi steril dengan cara menumbuhkan bagian tanaman yang telah diisolasi pada media steril dengan kandungan nutrisi yang lengkap sehingga dapat tumbuh menjadi individu yang baru (Budisantoso et al., 2019). Teknik yang dilakukan pada kultur jaringan ini adalah dengan menumbuhkan jaringan tanaman pada media yang diperkaya dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) tertentu sehingga jaringan tersebut dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang utuh (Yustisia et al., 2019). Dalam pelaksanaan kultur jaringan sangat dibutuhkan

lingkungan yang aseptik atau lingkungan yang bebas dari sumber kontaminasi seperti jamur dan atau bakteri. (Samanhudi et al., 2020). Tanaman baru hasil kultur in vitro memiliki sifat yang sama dengan induknya (Habibah et al., 2021). Beberapa teknik perbanyakan yang dapat dilakukan melalui kultur jaringan adalah perbanyakan tunas aksilar, sistem regenerasi organogenesis, dan embriogenesis somatik. Pada penelitian ini sistem regenerasi in vitro yang dilakukan menggunakan teknik embriogenesis somatik yaitu suatu proses menggunakan bagian somatik tanaman untuk pembentukan embrio yang akan berkembang menjadi individu baru dengan tujuan untuk perbanyakan klonal dan pemuliaan varietas unggul melalui mutasi, dan rekayasa genetika (Hapsoro & Yusnita, 2022).

Penelitian kultur jaringan tanaman ubi kayu yang telah dilaporkan sebelumnya yaitu menggunakan berbagai jenis auksin termasuk 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D), asam naftalenasetat (NAA), dicamba, thidiazuron (TDZ), asam indole-3-asetat (IAA), dan picloram (Mongomake et al., 2015). Auksin seperti 2,4-D berperan dalam meningkatkan tekanan osmotik, permeabilitas sel, perkembangan dinding sel, serta meningkatkan sintesis protein (Widiastoety, 2014). Yelnititis (2020) menunjukkan bahwa induksi kalus dengan 2,4-D konsentrasi  $3,0 - 12,0 \text{ mg.l}^{-1}$  dikombinasikan dengan NAA  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  menghasilkan rata-rata 7,8 embrio. Picloram juga efektif menginduksi embrio somatik pada kultivar ubi kayu Afrika (Hankoua et al., 2006). Yelli et al. (2023), menemukan bahwa induksi kalus primer pada dua klon ubi kayu BW1 dan UJ3 pada berbagai konsentrasi picloram ( $0 - 15 \text{ mg.l}^{-1}$ ) dan dikombinasikan dengan NAA  $6 \text{ mg.l}^{-1}$  menghasilkan persentase embrio somatik 85,19% hingga 96,30%. Berdasarkan hasil penelitian embriogenesis somatik yang telah dilakukan tersebut diketahui bahwa kemampuan eksplan dalam menghasilkan embrio sangat tergantung pada genotip tanaman yang digunakan. Masing-masing genotip memiliki respon yang berbeda terhadap kemampuan sel dalam menghasilkan embrio. Dengan demikian penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis auksin 2,4-D atau picloram terhadap pembentukan embrio somatik ubi kayu klon Waxy, dan menentukan konsentrasi optimal yang ditambahkan ke media MS +  $6 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA untuk hasil terbaik.

## 2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2023 hingga Agustus 2023 di Laboratorium Lapang Terpadu dan Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Alat yang digunakan yaitu *laminar air flow cabine* (LAFC), alat-alat diseksi (pinset, *scapel*, dan *blade*), *magnetic stirrer*, bak/ember, *hot plate*, kompor gas, plastik *wrapping*, botol *schott*, pipet tetes, box, *show case*, mikroskop binokuler, cawan petri, sendok pengaduk, kamera, gelas ukur, gelas beaker, destilator, botol kultur, timbangan analitik  $> 0,01$  gram dan  $< 0,0001$  gram, pH meter, autoklaf, panci, erlenmeyer, *hand sprayer*, bunsen. Bahan tanaman ubi kayu klon Waxy, formulasi media MS, picloram, 2,4-D, *naphthalene acetic acid* (NAA), CuSO<sub>4</sub>, benziladenin (BA), agar-agar, sukrosa, air akuades, KOH 1 N, dan HCl 1 N larutan pemutih komersial (NaOCl), sabun cuci piring cair, alkohol 70%, larutan tweens- 20.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan perlakuan yaitu jenis auksin yang ditambahkan pada media MS +  $6 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA, yaitu 2,4-D dan Picloram pada 4 taraf konsentrasi ( $0,8, 10, 12 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Dengan demikian diperoleh 7 perlakuan (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6) dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 7 kali sehingga keseluruhan didapatkan 49 satuan percobaan, setiap ulangan terdiri atas 3 botol, kemudian setiap botol diisi 3 eksplan. dengan total jumlah eksplan sebanyak 441 eksplan.

Pelaksanaan penelitian terdiri atas beberapa tahapan yaitu pertama melakukan sterilisasi pada alat – alat seperti botol kultur, alat diseksi (*scalpel*, pinset), cawan petri, keramik, botol *schott*, kapas, dan gelas ukur, menggunakan autoklaf selama 30 menit pada suhu 121° C dan tekanan 1 atmosfer. Setelah dilakukan sterilisasi alat dilanjutkan dengan pembuatan media induksi kalus primer yaitu menggunakan media dasar MS dengan penambahan 2,4-D atau picloram pada 4 taraf konsentrasi (0, 8, 10, 12 mg.l<sup>-1</sup>) serta 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA. Selanjutnya dilakukan penanaman eksplan daun pucuk berukuran 5 x 2 mm yang berasal dari kultur steril ubi kayu pada media induksi kalus primer. Setiap botol kultur berisi tiga eksplan dengan bagian bawah daun kontak dengan media. Setelah itu, eksplan yang telah ditanam diinkubasi di dalam ruang kultur pada kondisi gelap dengan suhu 25± 2 °C selama 4 minggu. Tahapan berikutnya adalah induksi embrio somatik dilakukan dengan menginduksi kalus pada media MS0 yang ditambahkan 2,4-D atau picloram 2 mg.l<sup>-1</sup> dan NAA 0,5 mg.l<sup>-1</sup>. Kalus diinduksi selama ± 4 minggu pada kondisi gelap 24 jam dengan suhu 25 ± 2 °C. Setelah inkubasi maka selanjutnya dilakukan pengamatan pada variabel berikut; visualisasi kalus embriogenik, bobot kalus primer 3 minggu setelah tanam (MST), persentase eksplan berembrio, dan jumlah embrio. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan uji Analysis of Variance dengan pemisahan nilai tengah menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Pengamatan Visual

Eksplan daun pucuk yang berasal dari tunas aksilar hasil sterilisasi tunas ditanam pada media induksi kalus primer berukuran 5 x 2 mm (Gambar 1a). Berdasarkan pengamatan visual, diketahui bahwa daun yang telah diinduksi mulai menunjukkan perubahan pada 4 hari setelah induksi (HSI) yaitu daun tampak menggulung dan menebal, kemudian terjadi pembengkakan pada bagian tulang daun (*midribid*) dan tepi sayatan. Akibat pelukaan pada jaringan dapat mengaktifkan pensinyalan ZPT endogen yang merupakan salah satu *feedback* dari tanaman untuk perlindungan diri dengan membentuk jaringan yang baru. Menurut Rosmaina et al. (2015), kalus dapat terbentuk pada bagian tanaman sebagai respon terhadap pelukaan dan ketersediaan hormon dapat memacu pembelahan sel.

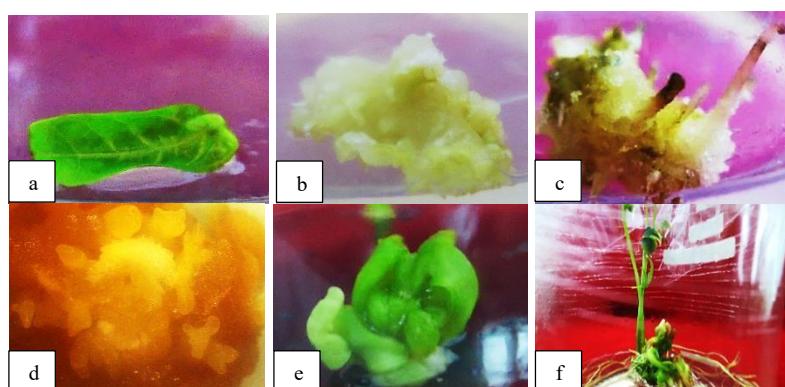
Pembentukan kalus diinduksi oleh hormon auksin yang berdifusi ke dalam jaringan tanaman melalui bagian daun atau bagian tanaman yang dilukai. Pemberian hormon dari luar (eksogen) akan menginduksi kerja hormon yang dihasilkan tanaman itu sendiri (hormon endogen) yang akan memacu terjadinya pembelahan sel terutama sel-sel pada bagian yang sudah luka sehingga terbentuk kalus. Sedangkan menurut Ulva et al (2019), mekanisme kerja auksin dalam menginisiasi pertumbuhan dan perkembangan sel dengan mempengaruhi fleksibilitas dinding sel.

Eksplan yang telah membentuk kalus selanjutnya akan mengalami beberapa perubahan warna diantaranya perubahan warna putih setelah diinkubasi beberapa hari berubah menjadi warna putih kekuningan, dan bahkan jika terlalu lama dalam media kultur dan tidak dilakukan sub kultur pada media baru maka kalus-kalus yang terbentuk akan berubah warna menjadi coklat dan sebagian ada yang berwarna hitam (Gambar 1b,c). Terjadinya perubahan warna pada kalus selama masa inkubasi dilaporkan oleh Rasud dan Bustaman (2020), bahwa warna putih pada kalus mencirikan fase dimana sel-sel sedang aktif membelah, selanjutnya perubahan menjadi putih kekuningan menandakan bahwa pembelahan sel sudah memasuki fase akhir pembelahan aktif, sedangkan kalus yang telah

berubah warna menjadi coklat atau hitam menunjukkan bahwa sel sudah memasuki fase penuaan (*senescence*).

Tekstur yang terbentuk pada kalus primer atau kalus yang terbentuk beberapa hari setelah induksi kalus yaitu remah dan kompak. Menurut Kristanto dan Setyorini (2017) tekstur kalus terbagi menjadi 3 yaitu kompak (*non friable*), *intermediate* dan remah (*friable*). Ciri-ciri kalus kompak adalah memiliki tekstur yang keras, padat dan tidak mudah hancur. Berbeda dengan kalus remah, kalus ini mempunyai tekstur yang lunak dan memiliki banyak ruang antar sel. Menurut Sari *et al.* (2018), pertumbuhan sel-sel yang berukuran kecil dan longgar yang disebabkan oleh auksin menyebabkan pembentukan kalus dengan tekstur remah.

Hormon auksin memiliki kemampuan untuk merangsang pemanjangan sel dan meningkatkan plastisitas dinding sel menjadi lebih longgar. Hal ini dapat menyebabkan aliran air ke dalam sel menjadi lebih mudah melalui proses osmosis. Disamping itu, karena sel belum mengalami lignifikasi sehingga kelompok sel yang terbentuk dapat dengan mudah dipisahkan yang menyebabkan kalus menjadi remah dan mengandung banyak air. Kalus seperti ini sangat bagus diperbanyak dengan cara kultur suspensi (Rasud dan Bustam, 2020).



Gambar 1. Visualisasi perkembangan eksplan ubi kayu klon waxy. (a) Eksplan daun pucuk, (b) Kalus embriogenik, (c) Kalus yang membentuk akar, (d) Berbagai fase embrio, (e) *green cotyledon*, (f) Planlet.

Kalus yang diinduksi pada media induksi kalus primer menghasilkan 2 tipe kalus yaitu kalus embriogenik dan non-embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang berpotensi untuk menjadi embrio dan mempunyai ciri-ciri tekstur remah dan berwarna kekuningan (*Yellowish friable callus*). Sedangkan kalus non-embriogenik memiliki tekstur berongga dengan warna kalus putih. Pada perlakuan kontrol yaitu media MS dengan penambahan NAA  $6 \text{ mg.l}^{-1}$ , kalus yang dihasilkan adalah kalus non-embriogenik dimana kalus tumbuh bersama dengan pertumbuhan akar (Gambar 1c).

Pengamatan visual pada kalus embriogenik menunjukkan bahwa embrio fase globular sudah mulai terbentuk pada minggu ke-4 pada media induksi kalus primer, dan setelah disubkultur ke media induksi embrio somatik menunjukkan bahwa kalus telah berkembang memasuki fase embrio hati, torpedo dan kotiledon (Gambar 1d). Perkembangan ini sesuai dengan hasil penelitian Hartati *et al.* (2018), dimana kalus embriogenik kemudian akan memasuki perkembangan ke fase embrio berbentuk globular, hati, torpedo dan kotiledon. Kotiledon yang telah terbentuk kemudian tumbuh menjadi tunas yang berwarna hijau (Gambar 1e) setelah dipindah ke media yang mengandung Benzylidenin  $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$  dan dinkubasi selama 2 minggu dalam kondisi terang. Kotiledon yang telah tumbuh menjadi tunas kemudian disubkultur ke media MS0 untuk pembesaran tunas dan pemantapan pertumbuhan akar sehingga siap untuk dilakukan aklimatisasi ke lapangan (Gambar 1f).

### 3.2 Bobot Kalus Primer

Tabel 1 menunjukkan bahwa analisis ragam pada variabel bobot kalus primer menunjukkan perbedaan jenis dan konsentrasi auksin berpengaruh sangat nyata terhadap bobot kalus primer umur 3 minggu setelah induksi kalus. Hasil uji BNT 5% menyatakan bahwa bobot kalus primer terbesar yaitu  $0,21 \pm 0,03$  g pada eksplan perlakuan media picloram  $0 \text{ mg.l}^{-1} + 6 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA. Bobot kalus terendah sebesar  $0,09 \pm 0,01$  diperoleh pada perlakuan media 2,4-D  $10 \text{ mg.l}^{-1} + 6 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA.

Besarnya bobot kalus yang diperoleh menunjukkan tingkat pertumbuhan kalus pada suatu eksplan. Secara fisiologis kalus terdiri atas karbohidrat dan air (Ruswaningsih, 2007). NAA memiliki peranan yang penting dalam proses masuknya air kedalam sel kalus. Menurut Wiraatmaja (2017) NAA mampu meningkatkan difusi masuknya air ke dalam sel dan mendukung permeabilitasnya sehingga berpengaruh terhadap perkembangan sel. Oleh karena itu, penambahan jenis auksin pada konsentrasi yang sesuai dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus pada suatu eksplan.

Tabel 1. Pengaruh jenis dan konsentrasi auksin terhadap bobot kalus primer ubi kayu klon Waxy pada 3 MST.

Perlakuan	Auksin ( $\text{mg.l}^{-1}$ )			Bobot kalus (g)
	2,4-D	Picloram	NAA	
M0	0	0	6	$0,21 \pm 0,03$ a
M1	8	0	6	$0,11 \pm 0,02$ c
M2	10	0	6	$0,09 \pm 0,01$ c
M3	12	0	6	$0,12 \pm 0,02$ bc
M4	0	8	6	$0,18 \pm 0,03$ a
M5	0	10	6	$0,15 \pm 0,02$ ab
M6	0	12	6	$0,14 \pm 0,02$ b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Pada perlakuan M0 diketahui bahwa kalus yang terbentuk disertai dengan pembentukan akar pada kalus. Pertumbuhan kalus didominasi oleh pertumbuhan akar, sehingga bobot kalus menjadi lebih tinggi. Pharmawati dan Delfiani (2021), menyatakan bahwa penambahan NAA pada media MS akan menginduksi pembentukan akar pada eksplan yang dikultur pada media in vitro. Menurut Nurana *et al.* (2017), NAA merupakan jenis auksin yang berfungsi menstimulasi pertumbuhan dan perpanjangan akar. Selain itu, Millenia *et al.* (2022), menyatakan bahwa NAA merupakan zat pengatur tumbuh sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan dimana jika diaplikasikan dalam konsentrasi tinggi dapat memicu terbentuknya kalus.

### 3.3 Persentase Kalus Berembrio

Berdasarkan analisis ragam diketahui bahwa persentase kalus berembrio dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi auksin yang diberikan. Persentase kalus berembrio tertinggi yaitu  $19,05 \pm 5,82$  % pada perlakuan pikloram  $12 \text{ mg.l}^{-1} + 6 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA (Tabel 2). Pada perlakuan 2,4-D  $10 \text{ mg.l}^{-1} + 6 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA menghasilkan persentase kalus berembrio terendah yaitu  $1,59 \pm 1,47$  % (Tabel 2). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa picloram  $12 \text{ mg.l}^{-1}$  dan 2,4-D  $8 \text{ mg.l}^{-1}$  mampu menginduksi kalus embriogenik dengan sama baik pada klon waxy. Persentase kalus berembrio

menunjukkan tingkat responsivitas eksplan kultur in vitro terhadap jenis dan konsentrasi auksin yang diberikan.

Tabel 2. Pengaruh jenis dan konsentrasi auksin terhadap persentase kalus berembrio pada ubi kayu klon Waxy umur 2 minggu pada media induksi embrio somatik

Perlakuan	Auksin ( $\text{mg.l}^{-1}$ )			Jumlah kalus berembrio	Rata-Rata Kalus Berembrio (%)
	2,4-D	Picloram	NAA		
M1	8	0	6	5/61	11,11 ± 3,17 ab
M2	10	0	6	1/52	1,59 ± 1,47 b
M3	12	0	6	3/57	4,76 ± 3,06 cb
M4	0	8	6	3/61	3,17 ± 1,90 bc
M5	0	10	6	7/59	7,94 ± 2,94 b
M6	0	12	6	10/62	19,05 ± 5,82 a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Menurut Sukmara *et al.* (2014), respon pembentukan kalus pada media yang diinduksi dengan picloram 12  $\text{mg.l}^{-1}$  mampu menghasilkan persentase kalus berembrio yang lebih tinggi dibandingkan dengan kalus yang diinduksi dengan 2,4-D 8  $\text{mg.l}^{-1}$ . Syoumbua *et al.* (2019), menyatakan bahwa persentase embrio somatik ubi kayu meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi picloram. Menurut Azizi *et al.* (2023), induksi kalus pada media dengan picloram 12  $\text{mg.l}^{-1}$  dapat membentuk kalus embriogenik secara optimum. Hapsoro dan Yusnita (2018), menyatakan bahwa auksin berperan penting pada embriogenesis somatik. Auksin yang diberikan secara eksogen akan menginduksi pembentukan embrio. Selain itu, pemilihan eksplan yang tepat berpotensi lebih tinggi dalam menghasilkan kalus dan embrio (Ramadhan, 2023).

Berbeda dengan picloram, penggunaan media 2,4-D menunjukkan hasil persentase kalus berembrio tertinggi pada media 8  $\text{mg.l}^{-1}$  2,4-D + NAA 6  $\text{mg.l}^{-1}$  (Tabel 2). Perbedaan respon pembentukan embrio ini dipengaruhi oleh konsentrasi auksin yang diberikan pada media pembentukan embrio tersebut. Ngugi *et al.* (2015), menyatakan bahwa eksplan daun yang diinduksi pada media mengandung 8  $\text{mg.l}^{-1}$  2,4-D mampu menghasilkan kalus berembrio dengan persentase tertinggi pada ubi kayu. Induksi kalus akan lebih baik pada media dengan konsentrasi 2,4-D lebih rendah jika dibanding dengan konsentrasi tinggi karena konsentrasi 2,4-D yang tinggi menyebabkan pertumbuhan kalus terhambat karena sifat fitotoksisitas senyawa 2,4-D (Purba *et al.* 2017). Penambahan 2,4-D pada konsentrasi yang tepat mampu merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus.

### 3.4 Jumlah Embrio

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis dan konsentrasi auksin, tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah embrio. Berdasarkan data yang diperoleh diketahui bahwa penambahan auksin 2,4-D 8  $\text{mg.l}^{-1}$  dan pikloram 12  $\text{mg.l}^{-1}$  menghasilkan jumlah embrio lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya secara berturut-turut sebesar 4,93 ± 1,95 dan 5,48 ± 3,56 embrio (Tabel 3). Peran dari kedua ZPT ini pada tanaman *Carica papaya* var.p-7-9 ini dilaporkan oleh Chaudhary dan Prakash (2019) yaitu mampu menginduksi eksplan menjadi kalus embriogenik.

Tabel 3. Pengaruh jenis auksin dan konsentrasi terhadap jumlah embrio pada kalus ubi kayu klon Waxy.

Perlakuan	Auksin (mg.l <sup>-1</sup> )			Rata-rata jumlah embrio perkalus
	2,4-D	Picloram	NAA	
M1	8	0	6	4,93 ± 1,95
M2	10	0	6	1,14 ± 1,06
M3	12	0	6	2,79 ± 1,76
M4	0	8	6	1,71 ± 1,44
M5	0	10	6	1,29 ± 0,44
M6	0	12	6	5,48 ± 3,56

Eksplan yang diinduksi pada media yang dikombinasikan dengan picloram memiliki tingkat respons yang lebih tinggi pada pertumbuhan embrio (Hasan et al., 2021). Picloram mampu meningkatkan responsivitas eksplan *Lycium barbarum* L. yang lebih baik dibandingkan dengan 2,4-D untuk induksi embrio somatik (Khatri dan Joshee, 2024). Perbedaan respons pertumbuhan embrio dimungkinkan karena pertumbuhan embrio somatik ubi kayu dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sumber eksplan, komposisi nutrisi pada media, dan jenis zat pengatur tumbuh (Yuniardi, 2023)

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka diperoleh kesimpulan yaitu auksin picloram dan 2,4-D mampu memberikan respon yang sama baiknya terhadap pembentukan embrio somatik ubi kayu klon Waxy dalam media MS dengan penambahan 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA pada variabel persentase eksplan berembrio. Konsentrasi auksin yang memberikan respon terbaik terhadap pembentukan embrio somatik ubi kayu klon Waxy pada media MS dengan penambahan 6 mg.l<sup>-1</sup> NAA adalah picloram 12 mg.l<sup>-1</sup> dan 2,4-D 8 mg.l<sup>-1</sup>. Picloram 12 mg.l<sup>-1</sup> menghasilkan persentase kalus berembrio sebesar 19,5 ± 5,82% dan jumlah rata-rata embrio per kalus sebesar 5,48 ± 3,56, sedangkan 2,4-D 8 mg.l<sup>-1</sup> menghasilkan persentase kalus berembrio sebesar 11,11 ± 3,17% dan jumlah rata-rata embrio per kalus sebesar 4,93 ± 1,95.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- 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. *Semnas Tektan Polinela*. 1-16.
- Azizi, A.A.A., Rahman, N., Hartati, N. S., Hastilestari, B. R., Sukmadjaja, D., and Witjaksono. (2023). Embryogenic callus induction of Indonesian Cassava (Menti and Adira 4) on different picloram concentrations. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 1-5.
- Bantacut, T. 2011. Penelitian dan pengembangan untuk industri berbasis cassava. *J. Teknologi Industri Pertanian*, 19 (3), 191-202.
- Budisantoso, I., Hardiyati, T., Dwiyati, M., & Kamsinah. (2019). Teknologi kultur invitro anggrek untuk meningkatkan keragaman tanaman di agrowisata Serang. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan IX"14- 15 November 2019 Purwokerto. 9, 294-303.
- Ceballos, H., Sanchez, T., Tofino, A. P., Rosero, A., Dufour, D., Smith, A., Denyer, K., Perez, J.C., Morante, N., Calle, F., Lentini, Z., Fregene, M., and Mestres, C. (2007). Development and Identification of Cassava Clones with Special Starch Characteristics. *Proceedings. The 4<sup>th</sup> International Conference on Starch Technology*. Bangkok. 13 p.

- Chaudhary, K., and Prakash, J. (2019). Effect of 2, 4-D and Picloram on Somatic Embryogenesis in *Carica papaya* var. P-7-9. *Plant Tissue Cult. & Biotech.* 29(1), 25-32.
- Ditjen Tanaman Pangan. (2022). *Laporan Kinerja Direktorat Jendral Tanaman Pangan 2022*. Kementerian Pertanian. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan.
- Elliong, N. E., Billiard, C., Adenet, S. (2014). Physicochemical, organoleptic and nutritional characteristics of four sweet cassava (*Manihot opis*) varieties. *African Journal of Biotechnology*, 13(50), 4547–4556.
- Habibah, N.A. Rahayu, E.S., dan Aggraito, Y.U. (2021). *Kultur Jaringan Tumbuhan*. Depublish. 112 hlm.
- Hankoua, B.B., N.J. Taylor, S.Y.C. Ng, I. Fawole, J. Puonti-Kaerlas, C. Padmanabhan, J.S. Yadav, C.M. Fauquet, A.G.O. Dixon, V.N. Fondong. (2006). Production of the first transgenic cassava in Africa via direct shoot organogenesis from friable embryogenic calli and germination of maturing somatic embryos. *Afr J Biotechnol.* 5(19), 1700-1712.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. (2018). *Kultur Jaringan Teori dan Praktik*. CV Andi Offset. Yogyakarta.
- Hapsoro, D. dan Yusnita. (2022). *Embriogenesis Somatik In Vitro untuk Perbanyak Klonal dan Pemuliaan Tanaman*. AURA, CV. Anugrah Utama Raharja, dan Anggota IKAPI. Bandar Lampung.
- Hartati, N. S., Agani, H., Sudarmonowati, E. (2018). Kecepatan regenerasi kalus somatik embriogenik terung pada beberapa media maturasi. *Jurnal Ilmu Dasar*, 19 (2), 125-134.
- Hassan, M. M., Allam, M. A., Din, I. M. S. E., Malhat, M. H., dan Taha, R. H. (2021). High-frequency direct somatic embryogenesis and plantlet regeneration from date palm immature inflorescences using picloram. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(3), 1-11.
- Jiuhardi. (2023). Analisis kebijakan impor beras terhadap peningkatan kesejahteraan petani di Indonesia. *Jurnal Ekonomi, Keuangan dan Manajemen*, 19 (1), 98-110.
- Kathri, P., dan Joshee, M. (2024). Effect of Picloram and Desiccation on the Somatic Embryogenesis of *Lycium barbarum* L. *Plants*, 13(2), 151.
- Kristianto, D. A., dan Setyorini, T. (2021). Induksi kalus eksplan daun lada (*Piper nigrum* L.) pada modifikasi media MS dengan penambahan hormon NAA dan BAP. *Jurnal Agritech*, 23 (2), 160-166.
- Millenia, F. K., Suminar, S. E., Nuraini, A., Pitaloka, G. G. (2022). Induksi kalus eksplan daun stroberi (*Fragaria x ananassa* Duch) dengan pemberian NAA dan CaP secara in vitro. *Jurnal Galung Tropika*, 11(3), 317 – 329.
- Mongomake, K., Doungous, O., Khatabi., B., Fondong, V. N. (2015). Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *SpringerPlus*, 477(4), 1-12.
- Ngugi, M.P., Odour, R.O., Omwoyo, R. O., Njagi, J. M., Mgutu, A. J., Cheruiyot, R. C. (2015). Regeneration of Kenyan cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) genotypes. *J Plant Biochem Physiol.* 3(2), 1-7.
- Nurana, A. R., Wijana, G. dan Dwiyani, R. (2017). Pengaruh 2-iP dan NAA terhadap pertumbuhan plantlet anggrek *Dendrobium* hibrida pada tahap subkultur. *Agrotrop*. 7 (2), 139 – 146.
- Pharmawati, M., dan Delfiani, M. R. (2021). Pembentukan kalus, tunas, dan akar pada kultur anggur bali (*Vitis vinifera* cv Alphonse Lavallee) dengan pemberian NAA dan BAP. *Jurnal Biologi dan Konservasi*, 3 (1), 1- 10.
- Prakash S., Hoque M.I., B. T. (2004). Culture media and containers. *Low-Cost Options for Tissue Culture Technology in Developing Countries*. p29–40.

- Purba, V. R., Yuswanti, H., dan Astawa, I, N. G. (2017). Induksi Kalus Eksplan daun Tanaman Anggur (*Vitis vinifera L.*) dengan Aplikasi 2,4-D Secara *in Vitro*. *E-Jurnal Agroteknologi Tropika*, 6(2), 218-228.
- Ramadhan, T. R., dan Habibah, N. A. (2023). Induksi Kalus dari Eksplan Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum L.* var. Bima Brebes) Dengan Penambahan BAP dan Pikloram. *Indones. J. Math. Nat. Sci.* 46(2), 53-60.
- Rasud, Y., dan Bustaman. (2020). Induksi kalus secara *in vitro* dari daun cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) dalam media dengan berbagai konsentrasi auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIP)*, 25(1), 67–72.
- Rosmaina., Zulfahmi., P. Sutejo., Ulfiatun dan Maisupratina. (2015). Induksi kalus pasak bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) melalui eksplan daun dan petol. *Jurnal Agroteknologi*, 6(1), 33-40.
- Ruswaningsih, F. (2007). *Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk Artemisia annua L. pada Kultur In Vitro*. Skripsi. Surakarta : Fakultas Pertanian UNS.
- Samanhudi, S., Widijanto, H., & Yunus, A. (2020). Sosialisasi dan penyuluhan budidaya pisang dengan bibit hasil kultur jaringan di Desa Lempong, Kecamatan Jenawi, Kabupaten Karanganyar. PRIMA: *Journal of Community Empowering and Services*, 4(2), 59-63.
- Sari, Y. P., Kusumawati, E., Saleh, C., Kustiawan, W., & Sukartingsih, S. (2018). Effect of sucrose and plant growth regulators on callogenesis and preliminary secondary metabolic of different explant *Myrmecodia tuberosa*. *Nusantara Bioscience*, 10(3), 183–192.
- Sasmataloka, K. S., Widowati, S., dan Sukasih, E. 2020. Karakterisasi sifat fisikokimia, sensori, dan fungsional nasi instan dari beras amilosa rendah. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 17(1), 1-14.
- Satria, T. M., 2017. *Pengaruh zat pengatur tumbuh 2,4-D(Dichlorophenoxyacetid acid) dan Kinetin terhadap induksi kalus dari eksplan daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*)*. Skripsi Fakultas Pertanian, Universitas Jambi.
- Sukmara, E., Sukamto, L. A., dan Bintang, M. (2014). Induksi dan pertumbuhan kalus triploid dari endosperma avokad. *Current Biochemistry*, 1(1), 20-28.
- Syombua E, D., Christine, N.W., Adero, M. O., Mbinda, W.M., Ngugi, M. P., Alakonya, A. E., Oduor, R.O. (2019). Explant type and hormone regime influences somatic embryogenesis and regeneration in cassava. *African Journal of Biotechnology*, 18(25), 532-539.
- Ulva Maria., Yulita Nurchayati, Erma Prihastanti, Nintya Setiari,.2019. Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum Mill.*) Varietas Permata F1 dari Jenis Eksplan dan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda secara *In Vitro*. *UNNES Journal: Life Science*, 8(2), 160-169
- Waro, N. T., Dan, A., & Sumiati, A. (2020). Multiplikasi meristem ubi kayu (*Manihot esculenta*) dalam media Murashige and Skoog (MS) modifikasi NAA (*Naphthalene acetic acid*) dan BA (*Benzyl adenine*). *In Buana Sains*, 20(2), 121-130.
- Widiastoety, D. (2014). Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan planlet anggrek mokara. *J. Hortikultura*, 24(3), 230-238.
- Wiraatmaja, I. W. 2017. *Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Cara Penggunaannya dalam Bidang Pertanian (E - book)*. Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Denpasar.
- Yelli, F., Titin, A., Utomo, S. D., Pathak, A. (2023). Somatic embryogenesis in two cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) genotypes. *Not Bot Horti Agrobo*. 51(1), 2-13.
- Yelnititis. (2020). induksi kalus embriogenik dan embrio somatik dari eksplan daun kulim (*Scorodocarpus borneensis becc.*). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 14(2), 75-84.

Yuniardi, F., Dewi, R., dan Wahyudi, A. (2023). Propagation of gembili (*Dioscorea esculenta*. L) accession from West Papua by in-vitro callus induction. *E3S Web of Conferences*, 444, 1-7.

Yustisia, D., Arsyad, M., Wahid, A., & Asri, J. (2019). Pengaruh pemberian ZPT alami (air kelapa) pada media MS 0 terhadap pertumbuhan planlet tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Jurnal Agrominansia*, 3(2), 130–140.