

## Induksi dan Regenerasi Embrio Somatik Empat Jenis Ubi Kayu Menggunakan Beberapa Konsentrasi Pikloram

### *Induction and Somatic Embryo Regeneration of Four Types of Cassava using Several Concentrations of Picloram*

Nurhamidar Rahman<sup>1,2)</sup>, Alfia Annur Aini Azizi<sup>3)</sup>, N. Sri Hartati<sup>3\*)</sup>, Nonon Saribanon<sup>1)</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Biologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Nasional

<sup>2</sup>Pusat Riset Botani Terapan, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

<sup>3</sup>Pusat Riset Rekayasa Genetika, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

\*)Corresponding author: [nsri001@BRIN.go.id](mailto:nsri001@BRIN.go.id)

**Diajukan:** 24 Desember 2024 **Diterima:** 14 Februari 2025 **Dipublikasi:** 27 Februari 2025

#### ABSTRACT

*Cassava (Manihot esculenta Crantz) is an important staple crop in tropical countries. In Indonesia, it is a very popular food source and is widely used as a raw material for various processed and industrial food products. The production of embryogenic callus that can regenerate will be useful in biotechnological breeding programs for plant propagation. High frequency of embryogenic callus formation is a key step in cassava regeneration system especially to support modern breeding programs. This study aims to determine the effect of picloram concentration on callus formation and somatic embryo regeneration in four types of cassava. Leaf lobe derived from in vitro culture was used as an explant to induce embryogenic callus on MS base medium with four levels of picloram concentration: 3 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, and 12 mg/l. Evaluation of somatic embryogenesis production efficiency was carried out based on the percentage of embryogenic callus formed in each treatment. Somatic embryo callus was then transferred to MSN maturation media (MS+NAA 1 mg/ml + CuSO<sub>4</sub> mg/l.). After growing cotyledons on MSN media, they were transferred to MS media containing BAP at concentration of 1 mg/l. Maturation of shoots was carried out on MS media without growth regulator for 5-7 weeks. Acclimatisation was carried out on a growing medium consisting of soil:compost (1:1). The results showed that treatment with MS medium containing picloram at the concentration levels of 3 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, and 12 mg/l can induce callus formation from leaf lobe explants of Adira 4, Carvita 25, Manggu and Menti resulting in a percentage of 100% callus explants, while compared to the control medium (without picloram) which did not produce any callus. All four cassava varieties can form embryogenic callus At all concentrations of picloram tested. The highest percentage of embryogenic callus formation was 83.3%, which was obtained on MS media containing 5 mg/l of picloram for Carvita 25 and Menti. The time range of somatic embryo formation of four types of cassava tested, the fastest can be formed in 12 days and the longest is 51 days. The media formulation for cassava regeneration through the somatic embryogenesis pathway obtained from this study will be useful for cassava seedling production and can also be used for genetic transformation to improve cassava quality.*

**Keywords:** cassava, embryogenic callus, leaf lobe, pikloram

## ABSTRAK

Ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) merupakan tanaman pokok penting di negara tropis. Di Indonesia, komoditas ini merupakan bahan pangan yang sangat populer dan banyak digunakan sebagai bahan baku untuk berbagai produk pangan olahan dan industri. Produksi kalus embriogenik yang dapat beregenerasi akan berguna dalam program pemuliaan bioteknologi untuk memperbanyak tanaman. Frekuensi tinggi pada pembentukan kalus embriogenik merupakan langkah kunci dalam sistem regenerasi ubi kayu khususnya untuk mendukung program pemuliaan modern. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pikloram terhadap pembentukan kalus dan regenerasi embrio somatik pada empat jenis ubi kayu. Leaf lobe yang berasal dari kultur in vitro digunakan sebagai eksplan untuk menginduksi kalus embriogenik pada media dasar MS dengan empat tingkat konsentrasi pikloram yaitu 3 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, dan 12 mg/l. Evaluasi efisiensi produksi embrio somatik dilakukan berdasarkan persentase kalus embriogenik yang terbentuk dalam setiap perlakuan. Kalus embrio somatik selanjutnya dipindahkan ke media maturasi MSN (1 mg/ml MS+NAA +1 mg/l CuSO<sub>4</sub>.) Setelah tumbuh kotiledon pada media MSN, dipindahkan ke media MS yang mengandung 1 mg/l BAP. Pendewasaan tunas dilakukan pada media MS tanpa ZPT selama 5-7 minggu. Aklimatisasi dilakukan pada media tanam yang terdiri dari tanah:kompos (1:1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan media MS yang mengandung pikloram pada konsentrasi 3 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, dan 12 mg/l dapat menginduksi pembentukan kalus dari eksplan leaf lobe ubi kayu Adira 4, Carvita 25, Manggu dan Menti menghasilkan persentase eksplan berkalus 100 %, sedangkan pada media kontrol (tanpa pikloram) tidak menghasilkan kalus. Pada semua konsentrasi pikloram yang diuji, keempat jenis ubi kayu dapat membentuk kalus embriogenik. Persentase pembentukan kalus embriogenik tertinggi yaitu sebesar 83,3% diperoleh pada media MS yang mengandung 5 mg/l pikloram untuk Carvita 25 dan Menti. Waktu tercepat untuk pembentukan kalus embriogenik adalah 12 hari dan paling lama adalah 51 hari. Formulasi media untuk regenerasi ubi kayu melalui jalur embrio somatik yang diperoleh dari penelitian ini akan bermanfaat untuk produksi bibit ubi kayu dan juga bisa digunakan untuk transformasi genetik untuk perbaikan kualitas ubi kayu.

**Kata Kunci:** kalus embriogenik; *leaf lobe*; pikloram; ubi kayu

## PENDAHULUAN

Ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) termasuk dalam famili Euphorbiaceae, merupakan tanaman umbi-umbian yang memiliki nilai ekonomi dan gizi yang tinggi yang sudah lama dikenal dan dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia, baik untuk konsumsi maupun kebutuhan industri. Beberapa jenis ubi kayu juga dijadikan sebagai bahan makanan pengganti, atau bahkan dijadikan bahan makanan pokok. Hal ini membuktikan bahwa tanaman ubi kayu juga berperan penting dalam memenuhi kebutuhan bahan pangan masyarakat di Indonesia (Yusrizal *et al.*, 2022). Komoditas ini merupakan makanan sumber karbohidrat yang kaya akan nutrisi, sehingga digunakan sebagai bahan baku dalam industri makanan dan juga bisa

dimanfaatkan sebagai sumber pangan alternatif yang penting dalam situasi ketidakstabilan pangan atau bencana alam karena dapat diolah menjadi berbagai produk makanan (Imansyah *et al.*, 2016). Menurut laporan tahunan Direktorat Jenderal Tanaman Pangan 2023, produksi ubi kayu di Indonesia mengalami peningkatan pada tahun 2023, mencapai 16,76 juta ton. Pemerintah Indonesia mendorong pemanfaatan ubi kayu sebagai alternatif sumber karbohidrat. Hal ini penting untuk meningkatkan kemandirian pangan dan ketahanan pangan nasional. Upaya yang dilakukan untuk mencapai produktivitas tinggi diantaranya dapat dilakukan melalui memperbanyak bibit jenis ubi kayu yang memiliki daya hasil yang tinggi.

Pada budidaya ubi kayu, salah satu hambatannya untuk mencapai produktivitas yang tinggi adalah karena faktor ketersediaan bibit yang terbatas. Untuk mengatasi hambatan ini, salah satu Langkah yang dapat diambil adalah bibit diperbanyak secara langsung menggunakan metode stek mini yang akan membantu meningkatkan ketersediaan bibit. Pada penanaman bibit secara langsung dengan stek ukuran biasa dan stek mini masing-masing ada kelemahannya dan juga ada kelebihanannya. Kelemahannya adalah, batang atau stek yang digunakan lebih banyak, sehingga dapat meningkatkan biaya dan usaha dalam perolehan bibit. Jika diterapkan dalam skala produksi besar, metode ini mungkin menjadi lebih sulit dan membutuhkan waktu lebih lama. Sementara kelebihanannya pada penanaman bibit cenderung lebih praktis dan sederhana (Hilman, et al., 2004). Oleh karena itu pengembangan teknik kultur jaringan, seperti induksi kalus dan regenerasinya, menjadi penting untuk perbanyak tanaman ubi kayu secara massal dan efisien, untuk meningkatkan ketersediaan bibit unggul sehingga dapat meningkatkan produktivitas ubi kayu untuk mendorong pertumbuhan sektor ubi kayu yang lebih berkembang dan berkelanjutan.

Terdapat beberapa varietas unggul ubi kayu sudah dikembangkan diantaranya adalah Adira 1, Adira 2, Adira 4 dan Darul Hidayah (Krisdiana, 2020). Beberapa varietas unggul ubi kayu lain yang juga memiliki keunggulan adalah Carvita 25, Menti dan Manggu. Manggu merupakan jenis ubi kayu lokal berumbi putih dan memiliki daya hasil tinggi serta kadar HCN rendah (Devy, et al., 2018). Menti dapat dikategorikan sebagai ubi kayu jenis genjah yang dapat dipanen pada umur cepat yaitu (6-8) bulan dengan tingkat pertumbuhan, penambahan berat umbi, jumlah umbi dan rendemen, pati yang tinggi. Adira 4 dan Menti memiliki sifat unggul yang sama yaitu produktivitasnya tinggi. Adira 4 masa panennya cukup singkat 6-8 bulan dan produktivitasnya tinggi hingga 34 ton/ha (Sundari, 2010). Carvita 25 merupakan varietas terdaftar yang memiliki kandungan beta karoten hingga 21ng/g, dan telah dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk pembuatan tepung mokaf

kaya beta karoten (Hartati et al., 2012). Jenis Carvita 25 berasal dari induk ubi kayu unggul Adira 4 (Hartati et al., 2020).

Salah satu cara untuk memperbaiki karakter tanaman adalah pemanfaatan teknik kultur jaringan melalui jalur embriogenesis somatik (Setiawan, et al., 2024). Regenerasi dalam kultur jaringan tanaman dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain melalui organogenesis dan embriogenesis somatik (Ikeuchi, et al., 2013). Selain itu, karena embrio somatik berasal dari sel tunggal maka akan lebih mudah untuk memonitor proses pertumbuhan setiap individu tanaman.

Embriogenesis somatik merupakan proses yang berlangsung secara bertahap dan pada awalnya sel somatik mengalami dedifferensiasi dan membentuk kalus, yang merupakan asal mula gumpalan embriogenik yang akhirnya berkembang menjadi embrio somatik (Patel et al., 2021). Dengan embriogenesis, tanaman dalam jumlah besar dapat dihasilkan dalam waktu yang relatif singkat. Embrio somatik lazimnya diperoleh dari sel tunggal yang optimal dan berkembang melalui berbagai tahap termasuk fase organ dan akhirnya bertransformasi menjadi bakal somatik yang siap berkembang menjadi individu baru (Andrea, 2024).

Perbanyak tanaman melalui embriogenesis dapat berhasil jika diperoleh persentase kalus embriogenik yang cukup tinggi dari eksplan yang dikulturkan dalam medium tertentu (Sari et al., 2014). Kalus embriogenik adalah kalus yang berpotensi untuk berkembang menjadi embrio somatik. Terbentuknya kalus embriogenik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti media dan zat pengatur tumbuh (Yelnitis, 2020). Induksi kalus merupakan tahap awal dalam kultur jaringan untuk menghasilkan massa sel yang dapat berkembang menjadi tanaman lengkap (Saripah et al., 2023). Kalus embriogenik merupakan sel yang mempunyai kemampuan pembelahan sel yang kuat dan potensi diferensiasi menjadi embrio somatik, yang dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu kalus embriogenik kompak dan kalus embriogenik remah (Sasmita, et al., 2022). Induksi embriogenesis ubi kayu sudah banyak dipublikasikan diantaranya pada jenis ubi kayu

Adira 4, Jame-jame, dan Gajah menggunakan zat pengatur tumbuh 2,4 D dan NAA (Nugroho, 2017). Embrio somatik ubi kayu India varietas H-226 dapat diinduksi menggunakan 0.2 mg/l BAP dan 0.01 mg/l NAA (Anuradha *et al.*, 2015). Menurut Mongomake *et al.*, (2015) induksi embrio somatik ubi kayu dengan beberapa jenis auksin yang telah dilaporkan adalah 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), Naphthaleneacetic acid (NAA), Dicamba, Thidiazuron (TDZ), Indole-3-acetic acid (IAA) dan Pikloram. Ubi kayu varietas Qulle dan Kello dapat menghasilkan embrio somatik pada media yang mengandung 2,4D (Berhanu & Feyissa, 2020).

Pikloram merupakan salah satu auksin yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman ubi kayu, untuk merangsang pembentukan embriogenesis somatik. Pikloram merupakan zat pengatur tumbuh terbaik yang digunakan untuk menginduksi embrio somatik pada ubi kayu genotip Uganda selain 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (Magambo *et al.*, 2024). Konsentrasi pikloram antara 3 mg/L dan 12 mg/L dapat menginduksi kalus embriogenik pada varietas singkong seperti Menti dan Adira-4, dengan hasil yang optimal pada 3 mg/L (Azizi *et al.*, 2023).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Saelim *et al.* (2006) dan Diantina (2014), konsentrasi pikloram untuk hasil terbaik induksi embrio somatik pada tanaman ubi kayu adalah sekitar 10-12 mg/L. Pemberian Cupper (Cu) dilaporkan dapat meningkatkan persentase induksi embrio somatik ubi kayu yang ditambahkan yaitu 2  $\mu$ M ke dalam media (Diantina, 2014; Zainuddin *et al.*, 2012). Untuk menghasilkan embrio somatik ubi kayu, media induksi dapat diperkaya dengan asam amino seperti glutamin, tirosin, dan threonine (Hapsoro & Yusnita, 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rossin & Rey (2011) jenis ubi kayu sangat berpengaruh nyata pada pembentukan embrio melalui induksi embriogenesis somatik, terutama pada komposisi media tertentu. Penggunaan pikloram dengan konsentrasi 8 dan 12 mg/L menghasilkan persentase kalus embriogenik lebih tertinggi pada kultivar TMS60444, T200, MTA16, CR25-4, dan CM523-7 jika dibandingkan dengan penggunaan 2,4-D

dengan konsentrasi yang sama (Fletcher *et al.*, 2011). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa efektivitas induksi embriogenesis somatik pada setiap jenis ubi kayu dapat berbeda-beda tergantung pada komposisi media yang digunakan. Oleh karena itu, setiap jenis ubi kayu memiliki respon yang berbeda terhadap komposisi media tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi pikloram pada induksi kalus dan regenerasi embrio somatik empat jenis ubi kayu (Adira 4, Carvita 25, Meti dan Manggu). Embrio somatik yang dihasilkan dari kultur jaringan dapat digunakan untuk memperbanyak vegetatif dan pemuliaan ubi kayu.

## BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan pada bulan Agustus 2023 sampai dengan April 2024. Lokasi Penelitian : Laboratorium Sentral dan Green House Riset – BRIN KST (Kawasan Sains Terpadu) Soekarno – Cibinong. Bagian tanaman yang digunakan adalah *leaf lobe* dari empat jenis ubi kayu yaitu Adira 4, Carvita 25, Menti dan Manggu yang berumur 1 bulan.

### *Induksi kalus embriogenik*

Percobaan disusun berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor percobaan. Faktor pertama yaitu *leaf lobe* dari 4 jenis ubi kayu (Adira 4, Carvita 25, Menti dan Manggu). *Leaf lobe* dari masing-masing jenis ubi kayu diletakkan pada cawan petri masing-masing petri sebanyak 6 *leaf lobe*. Faktor kedua yaitu komposisi media induksi kalus embriogenik terdiri atas lima tingkat konsentrasi pikloram dengan jumlah ulangan sebanyak tiga kali. Induksi kalus dengan menggunakan media dasar MS yang mengandung sukrosa 3%, 2  $\mu$ M CuSO<sub>4</sub>, 0,3% phytigel, dan berbagai konsentrasi pikloram. Terdapat lima tingkat konsentrasi pikloram yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 3 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 12 mg/l dan media MS tanpa pikloram sebagai kontrol. Sebanyak tiga cawan petri digunakan per jenis ubi kayu dan per perlakuan dengan masing-masing cawan petri terdiri dari 6 eksplan. Variabel yang diamati adalah saat pembentukan kalus dimulai, persentase eksplan yang membentuk kalus, dan jenis

kalus yang terbentuk. Kultur diinkubasi di tempat gelap, pada suhu 25°C. Subkultur dilakukan pada media yang sama setiap 2 minggu. Pengamatan dilakukan setiap dua minggu di bawah mikroskop stereo (Olympus SZX7). Data di analisis dengan menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dengan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT)  $\alpha$  5 %.

#### *Maturasi embrio somatik*

Kalus embriogenik dipindahkan ke media maturasi MSN (MS+1 mg/ml NAA + 1 mg/l CuSO<sub>4</sub>). Setelah tumbuh kotiledon pada media MSN, selanjutnya dipindahkan ke media MS yang mengandung 1 mg/l BAP. Setelah muncul tunas atau daun berjeri, maka dipindahkan ke media MS tanpa ZPT selama 5 -7 minggu.

#### *Aklimatisasi*

Pada umur 8 minggu kotiledon matang dan berkecambah pada media MS membentuk plantlet yang berakar. Selanjutnya proses aklimatisasi dilakukan dengan memindahkan plantlet ke pada media yang terdiri dari tanah:kompos (1:1) dalam polybag dan dipelihara di rumah kaca

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### **1. Pembentukan kalus empat jenis ubi kayu pada beberapa konsentrasi pikloram**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembentukan kalus dimulai setelah dua minggu eksplan ditanam dalam media perlakuan. Proses pembentukan kalus pada leaf lobe dimulai dengan pembengkakan massa jaringan di tepi daun yang dipotong, kemudian meluas ke seluruh permukaan daun. Karakter kalus yang terbentuk di media pertumbuhan kalus sebagian besar berupa kalus kompak yang tidak membentuk embrio somatik dan juga kalus remah. Pembentukan kalus dipengaruhi oleh zat-zat tertentu dalam media seperti zat pengatur tumbuh, dan jenis eksplan yang digunakan juga berperan penting dalam karakteristik kalus yang dihasilkan Rahayu et al (2002). Efisiensi produksi embriogenesis somatik ditentukan

berdasarkan persentase kalus yang terbentuk dalam setiap perlakuan. Persentase eksplan membentuk kalus dengan penggunaan zat pengatur tumbuh dengan dosis pikloram 3 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l dan 12 mg/l ditampilkan pada Tabel 1. Pada semua dosis pikloram yang dicoba, leaf lobe Adira 4, Carvita 25, Menti dan Manggu dapat membentuk kalus dengan persentase 100%, sedangkan pada media tanpa pikloram tidak membentuk kalus. Kalus kompak dan remah adalah jenis kalus yang umum terbentuk pada media pertumbuhan seperti pada media yang mengandung pikloram kalus yang terbentuk dapat memiliki karakteristik embriogenik yang berarti berpotensi membentuk embrio somatik (Groll *et al.*, 2002).

Perbanyakan tanaman melalui embriogenesis secara signifikan dipengaruhi oleh persentase kalus embriogenik yang diperoleh dari eksplan yang dikulturkan. Persentase kalus embriogenik yang tinggi sangat penting untuk keberhasilan embriogenesis somatik, karena secara langsung berkorelasi dengan efisiensi regenerasi tanaman. Persentase eksplan membentuk kalus embriogenik ditampilkan pada Tabel 2. Carvita 25, Menti, dan Manggu yang diberi konsentrasi pikloram 3 mg/l menghasilkan persentase pembentukan kalus yang lebih rendah dibandingkan varietas Adira 4 yang menghasilkan persentase kalus embriogenik sebesar 66,7%, namun secara statistik tidak berbeda nyata. Pada konsentrasi 5 mg/l pikloram, Manggu memiliki persentase pembentukan kalus embriogenik paling rendah yaitu hanya sebesar 9,7 % diikuti oleh Adira 4 sebesar 16,7 %, sedangkan Carvita 25 dan Menti menunjukkan pembentukan kalus tertinggi yaitu 83,3. Varietas Adira 4 pada konsentrasi pikloram sebesar 10 mg/l menunjukkan respon pembentukan kalus embriogenik yang berbeda dibandingkan jenis ubi kayu lainnya yaitu Adira 4 sebesar 27,8 %, Carvita sebesar 25 sebesar 64,7 %, Menti sebesar 16,7%, dan Manggu sebesar 11,1%. Pada konsentarasasi 12 mg/l pikloram, varietas Manggu, memiliki kemampuan membentuk kalus embriogenik terendah yaitu yaitu sebesar 27,8%. sedangkan yang tertinggi adalah Adira 4 sebesar 58,8%.

Tabel 1. Persentase eksplan membentuk kalus (%) pada empat jenis ubi kayu

Jenis Ubi Kayu	Persentase eksplan membentuk kalus (%)				
	0 mg/l	3 mg/l	5 mg/l	10 mg/l	12 mg/l
Adira 4	100	100	100	100	100
Carvita 25	100	100	100	100	100
Manggu	100	100	100	100	100
Menti	100	100	100	100	100

Tabel 2. Persentase eksplan membentuk kalus embriogenik empat jenis ubi kayu pada beberapa konsentrasi pikloram.

Konsentrasi pikloram (mg/l)	Jenis ubi kayu	Persentase kalus embriogenik (%)
0	Adira 4	0,0 b
	Carvita 25	0,0 b
	Manggu	0,0 b
	Menti	0,0 b
3	Adira 4	66,7 ab
	Carvita 25	46,3 ab
	Manggu	22,2 ab
	Menti	44,4 ab
5	Adira 4	16,7 ab
	Carvita 25	83,3 a
	Manggu	9,7 b
	Menti	83,3 a
10	Adira 4	27,8 ab
	Carvita 25	64,7 ab
	Manggu	11,1 b
	Menti	16,7 ab
12	Adira 4	58,8 ab
	Carvita 25	47,2 ab
	Manggu	27,8 ab
	Menti	61,1 ab

Keterangan: berdasarkan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT)  $\alpha$  5 %.

Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Mongomake et al. (2015) menyatakan bahwa persentase kalus embriogenik ubi kayu dari Cameeron yang mencapai persentase tertinggi yaitu 80% pada pikloram 33  $\mu$ M. Pada konsentrasi pikloram yang hampir sama yaitu 12,5 mg/l persentase kalus yang terbentuk lebih tinggi mencapai 96,3 % untuk jenis ubi kayu BW 1 (Yelli et al., 2023). Pengaruh pikloram terhadap induksi kalus embriogenik ubi kayu juga dikemukakan oleh Saelim (2006) dan Diantina (2014) yang menyatakan frekuensi total embrio somatik Adira 4 pada media MS dan vitamin yang disuplemen dengan sukrosa 2%, pikloram 12 mg/l, dan CuSO<sub>4</sub> 2  $\mu$ M adalah 37,5%. Peran pikloram

pada embriogenesis somatik telah diidentifikasi sebagai auksin yang efektif dalam tanaman *Lycium barbarum*, pada penelitian ini diketahui bahwa induksi kalus menggunakan pikloram hasilnya lebih baik dibandingkan dengan 2,4-D (Khatir & Joshee, 2024). Pada *Picea abies*, pikloram dapat menginduksi pembentukan embrio somatik dengan persentase lebih tinggi dibanding dengan penggunaan 2,4-D dan NAA (Hazubska-Przybył et al., 2020). Pada tanaman kakao, penggunaan 3 mg/l pikloram dapat menginduksi pembentukan embrio somatik hingga 80% (Zuyasna et al., 2012). Demikian pula pada ubi kayu, penggunaan 12 mg/l pikloram dapat menginduksi kalus embriogenik

dan perbanyak *friable embryogenic callus* (FEC) pada media yang mengandung pikloram volumenya lebih besar dibanding pada media yang mengandung 2,4-D (Simamora, *et al.*, 2024).

Pemilihan eksplan merupakan faktor penting dalam induksi embriogenesis somatik. Kompetensi embriogenik dari berbagai jenis eksplan ubi kayu yaitu *leaf lobe* dan batang, ditemukan lebih tinggi pada eksplan *leaf lobe*, terutama pada media yang mengandung pikloram (Syombua *et al.*, 2019). Efektivitas pikloram untuk menginduksi kalus embriogenik ubi kayu bervariasi berdasarkan genotipe, misalnya pada genotipe BW-1 menunjukkan pembentukan kalus yang lebih unggul dan produksi embrio somatik dibandingkan dengan UJ-3 ketika dikultur pada media yang mengandung picloram (Yelli *et al.*, 2023). Ubi kayu kultivar TME 14 dapat menghasilkan kalus embriogenik (80 – 90%) dengan pikloram 12mg/l (Nyaboga *et al.*, 2015).

Genotipe, usia eksplan, dan sumber eksplan dapat mempengaruhi induksi embriogenesis somatik pada tanaman *Lycium barbarum* (Khatri & Joshee, 2024). Selain faktor zat pengatur tumbuh yang mampu menginduksi menjadi embriogenik somatik. Tidak semua kultivar atau genotipe ubi kayu responsif terhadap pembentukan embriogenesis somatik (Slameto *et al.*, 2023).

## **2. Rentang waktu pembentukan kalus embriogenik (hari) empat jenis ubi kayu pada beberapa konsentrasi pikloram**

Tabel 3 menunjukkan rentang waktu yang dibutuhkan oleh empat jenis ubi kayu (Adira 4, Carvita 25, Manggu, dan Menti) untuk membentuk kalus embriogenik pada berbagai konsentrasi pikloram (3 mg/l, 5mg/l, 10 mg/l, dan 12 mg/l). Satuan waktu yang digunakan adalah hari setelah tanam (HST). Waktu yang dibutuhkan untuk membentuk kalus embriogenik bervariasi antar jenis ubi kayu dan antar konsentrasi pikloram. Rentang waktu pembentukan kalus embriogenik yang tercepat adalah 12 HST dan yang paling lama adalah 51 HST. Pada semua jenis ubi kayu dan

pada semua konsentrasi pikloram yang dicoba menunjukkan waktu mulainya pembentukan kalus embriogenik yang tidak serempak yaitu sekitar 12 – 18 HST. Rentang waktu pembentukan kalus embriogenik terpendek adalah Menti pada perlakuan 3 mg/l pikloram dengan rentang waktu 12 HST hingga 25 HST. sementara rentang waktu terpanjang adalah 14 hingga 51 HST yang diperoleh pada varietas yang sama dengan konsentrasi pikloram berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa respon yang ditimbulkan meskipun varietas sama tetapi konsentrasi pikloram yang diberikan yang berbeda menyebabkan waktu pembentukan embrio somatik yang berbeda.

Berdasarkan data rentang waktu pembentukan kalus embriogenik, setiap varietas ubi kayu memiliki respon yang berbeda-beda dalam membentuk kalus embriogenik, yang terlihat tidak saja dari persentase kalus embriogenik tetapi juga dari rentang waktu pembentukan kalus yang bervariasi antara satu varietas dengan varietas lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan pembentukan kalus dari eksplan mengindikasikan terjadi efek interaksi antara genotip dan auksin yang diaplikasikan, pikloram mampu menginduksi kalus sebab telah terjadi sinergi antara genotip dan kerja pikloram (Ahmad *et al.*, 2021). Perbedaan konsentrasi pikloram dapat menyebabkan perbedaan dalam rentang waktu pembentukan kalus. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi pikloram merupakan faktor yang mempengaruhi proses pembentukan kalus. Rentang waktu yang diperlukan untuk membentuk kalus embriogenik 12 HST lebih lama dibanding waktu induksi kalus yang dibutuhkan untuk Adira 1, Jame-jame dan Gajah menggunakan pikloram yang hanya membutuhkan waktu 5 hari (Nugroho, 2017). Demikian pula laporan yang dikemukakan oleh Fletcher *et al.* (2011), waktu induksi kalus lebih cepat yaitu 7 hari. Namun demikian induksi kalus embriogenik pada jenis ubi kayu yang lain UJ-3, BW-3, Adira 4 membutuhkan waktu induksi kalus embriogenik lebih dari 9 hari bahkan bisa mencapai 14 hari (Susanti *et al.*, 2017; Yelli *et al.*, 2023).

Tabel 3. Rentang Waktu pembentukan embriosomatik (hari) empat jenis ubi kayu pada beberapa konsentrasi pikloram

Jenis ubi kayu	Konsentrasi pikloram (mg/l)	Hari Setelah Tanam (HST)
Adira 4	3	14 -42
Adira 4	5	15 -32
Adira 4	10	14- 38
Adira 4	12	14- 43
Carvita 25	3	14 -43
Carvita 25	5	14 - 40
Carvita 25	10	12 -35
Carvita 25	12	14 - 42
Manggu	3	18- 35
Manggu	5	15 - 34
Manggu	10	14 - 36
Manggu	12	12 - 45
Menti	3	12 - 25
Menti	5	14 - 40
Menti	10	14 - 51
Menti	12	12 - 31

Tahapan perkembangan embrio somatik empat jenis ubi kayu yang dicoba pada media induksi kalus terdiri dari embrio globular, *heart-shaped* dan *torpedo-shaped* (Gambar 1 – 4). Embrio somatik ubi kayu mengalami pematangan setelah ditransfer pada media MS yang mengandung 1 mg/ml NAA + 1 mg/l CuSO<sub>4</sub>. Embrio somatik ubi kayu yang telah matang beregenerasi menjadi memiliki kotiledon melalui proses organogenesis (Rossin & Rey, 2011).

Secara umum, pada Adira 4, Carvita 25, Manggu dan Menti, menunjukkan perubahan bentuk dan warna eksplan dari semula tipis dan berwarna hijau menjadi membengkak dan berwarna kuning. Kalus yang terbentuk jika berupa kalus embriogenik, dicirikan memiliki penampilan kompak, permukaan halus dan warna kuning-hijau-krem (Artigas, & Fernández, 2018). Selanjutnya eksplan semakin membesar setelah lima minggu kultur

pada media induksi kalus embriogenik. Pada umur kultur yang lebih tua sekitar 6 minggu, warna kalus menjadi lebih pucat dan penurunan pertumbuhan. Hal ini sejalan dengan laporan (Yelli *et al.*, 2023) yang menunjukkan kalus ubi kayu yang berwarna putih pada minggu pertama yang kemudian berubah menjadi kuning tua dan penurunan pertumbuhan pada minggu ke enam (Yelli *et al.*, 2023). Penurunan pertumbuhan ini disebabkan oleh kalus yang mencapai pembelahan sel optimal, degradasi fisiologisnya dan/atau kekurangan nutrisi (Mahadi *et al.*, 2016).

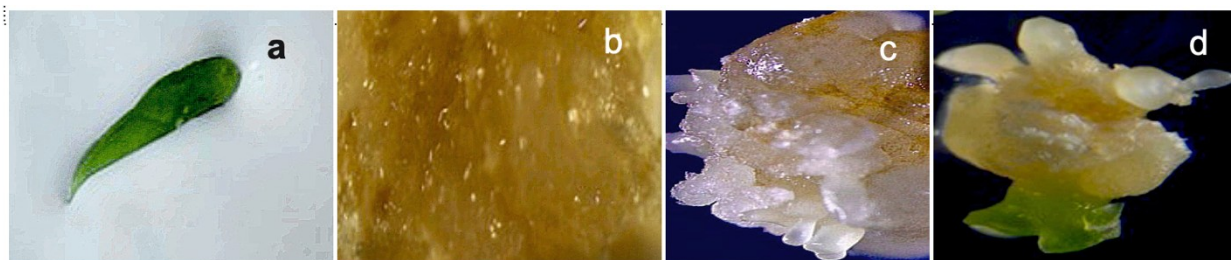
Pada tahapan kultur lebih lanjut embrio somatik yang mulai matang dan berkembang menjadi berwarna hijau muda seperti tabung yang bengkak setelah dipindahkan pada media MSN (MS yang mengandung 1 mg/l NAA dan 1 mg/l CuSO<sub>4</sub>) (Gambar. 5). Pada media MSN terjadi pembentukan kotiledon, selanjutnya dipindahkan ke media MS yang



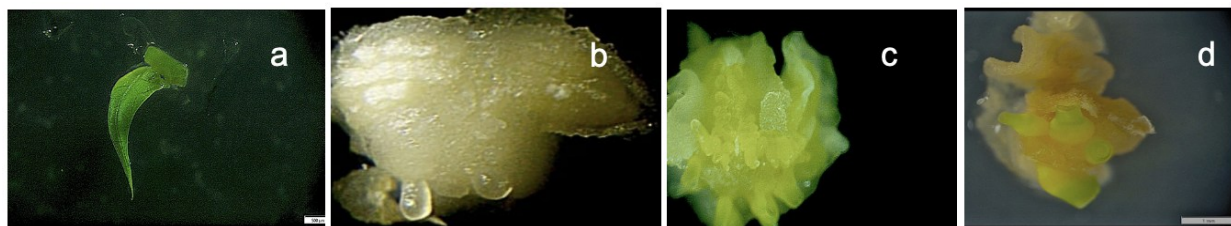
mengandung 1 mg/l BAP. Setelah disubkultur ke media yang sama sekitar selama periode 5-7 minggu mulai membentuk akar. Pembentukan akar dimulai dengan terjadinya metabolisme cadangan nutrisi yaitu karbohidrat sehingga menghasilkan energi dan memicu terjadinya pembentukan jaringan baru (Pratiwi, D.R. et al., 2020). Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pathak, et al., (2019) bahwa regenerasi dari daun *Portulaca quadrifida* L terbentuk dengan cepat membentuk tunas pada media yang diperkaya dengan kombinasi BAP (8  $\mu$ M) dan NAA (1  $\mu$ M) yang memberikan respon 100%. Demikian pula, peranan penting BAP dalam penelitian yang dilakukan oleh Martin (2004), Patel et al. (2021) dan Salma et al. (2019) yang menyatakan bahwa dalam pengembangan dan pematangan embrio somatik pada daun *Leptadenia reticulata* beberapa plantlet

abnormal terbentuk bersamaan dengan plantlet normal. Hal ini mungkin disebabkan paparan jangka panjang untuk eksplan ke tingkat konsentrasi auksin yang tinggi yang menyebabkan induksi variasi somaklonal dan kondisi ini mempengaruhi perkembangan embrio somatik menjadi plantlet (Ngugi et al., 2015). Zat pengatur tumbuh menembus jaringan tanaman dan dapat memacu aktifitas auksin yang terdapat dalam tanaman (Qomariyah & Dewanti, 2019).

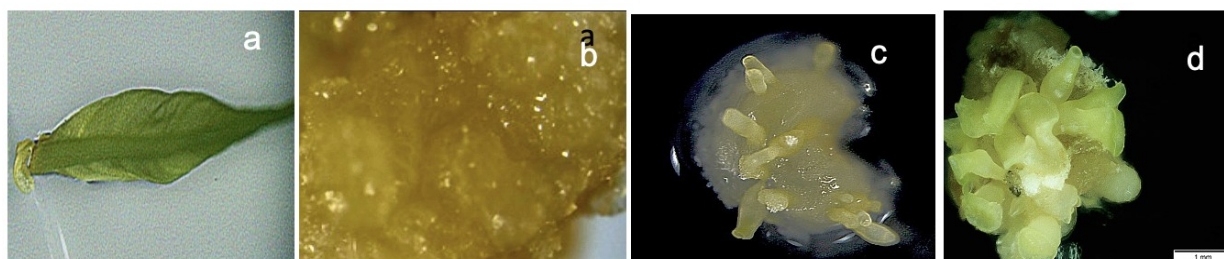
Tahapan selanjutnya adalah aklimatisasi plantlet dalam polybag berisi tanah:kompos (1:1). Plantlet ubi kayu yang berasal dari regenerasi embrio somatik memiliki daun dan batang berwarna hijau muda. Tanaman ubi kayu yang berasal dari regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik menunjukkan pertumbuhan yang baik (Gambar 6).



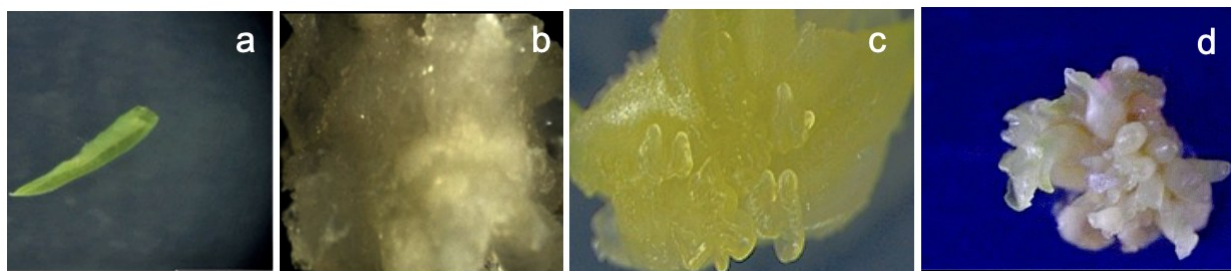
Gambar 1. Perkembangan embriogenesis Adira 4 pada media pikloram. A. Eksplan leaf lobe, B. Globular, C. Topedo, D. Kotiledon Hijau



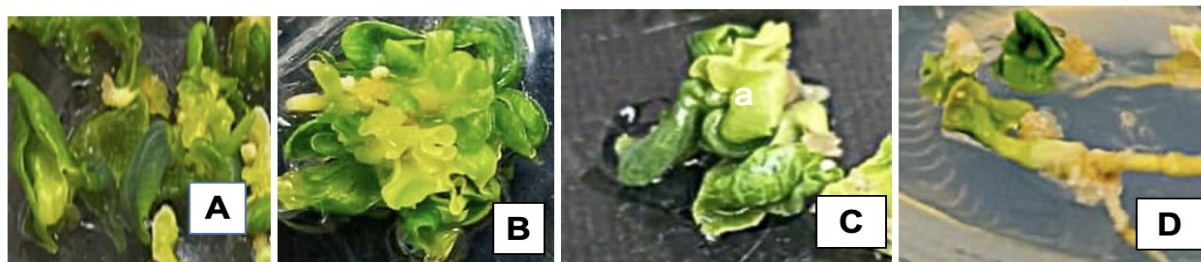
Gambar 2. Perkembangan embriogenesis Carvita 25 pada media pikloram. A. Eksplan leaf lobe, B. Globular, C. Topedo, D. Kotiledon Hijau



Gambar 3. Perkembangan embriogenesis Menti pada media picloram A. Eksplan leaf lobe, B. Globular, C. Torpedo, D. Kotiledon Hijau



Gambar 4. Perkembangan embriogenesis Manggu pada media picloram A. Eksplan leaf lobe, B. Globular, C. Topedo, D. Kotiledon Hijau



Gambar 5. Regenerasi embriosomatik empat jenis ubi kayu pada media MSN (1mg/l NAA +1 mg/l BAP). A. Adira 4, B. Carvita 25, C. Menti, D. Manggu



Gambar 6. Aklimatisasi eksplan di rumah kaca. Adira 4 (A) dan Manggu (B).

### KESIMPULAN

Produksi kalus embriogenik telah diuji pada tanaman ubi kayu Adira 4, Carvita 25, Manggu dan Menti. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi pikloram yang berbeda berpengaruh terhadap persentase kalus embriogenik yang terbentuk. Konsentrasi pikloram 5 mg/l dapat secara efektif menginduksi pembentukan kalus

embriogenik untuk menghasilkan kalus embriogenik yang tertinggi yaitu sebesar 83.3% pada Carvita 25 dan Menti. Rentang waktu pembentukan embrio somatik (hari setelah tanam / HST) ubi kayu Adira 4, Carvita 25, Manggu dan Menti menunjukkan waktu berbeda dengan pembentukan kalus embriogenik tercepat adalah 12 HST untuk

Menti (3 mg/l dan 12 mg/l pikloram), Carvita 25 dan Manggu pada 12 mg/l pikloram, serta paling lama adalah 51 HST pada Menti (10 mg/l pikloram). Kalus embriogenik dapat beregenerasi pada media MS yang mengandung 1mg/l NAA dan 1 mg/l CuSO<sub>4</sub>. Formulasi media untuk regenerasi ubi kayu melalui jalur embriogenesis somatik yang diperoleh dari penelitian ini akan bermanfaat untuk produksi bibit ubi kayu dan juga bisa digunakan untuk transformasi genetik untuk perbaikan kualitas ubi kayu.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Rumah Program ORPP (Organisasi Riset Pertanian dan Pangan) - Pengembangan Ubi Kayu Toleran Kekeringan Unggul dengan Kadar Fe dan Zn Tinggi Menggunakan Sistem CRISPR/Cas9 Tahun 2024 dengan Nomor 6/III.11/HK/2024. Terimakasih diucapkan kepada Dr. Sri Koerniati sebagai koordinator kegiatan. Ucapan terimakasih disampaikan pula kepada Bapak Nawawi untuk penyediaan bahan tanaman dan pemeliharaan tanaman di rumah kaca.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., ul Qamar, M. T., Shoukat, A., Aslam, M. M., Tariq, M., Hakimian, M., & 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, e11464. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.7717/peerj.11464>.
- Andrea, V. 2024. The Effect Of Various Combinations Of Growth Regulatory Substances (ZPT) In Emryogenic Callus Induction. *Journal Pharmacy Of Tanjungpura*, 2(1): 1-14. Retrieved from: <<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/JPOP/article/view/87147/75676603629>>.
- Anuradha T, Kumar KK, Balasubramanian. 2015. Cyclic somatic embryogenetia of elite Indian cassava variety H-226. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol 14: 559 – 565.
- Artigas Ramirez, M. D. and Fernández Da Silva, R. 2018. Morpho-anatomical characterization of secondary somatic embryogenesis in *Azadirachta indica* (*Meliaceae*). *Acta botánica mexicana*, 122: 7–20.
- Azizi AAA, Rahman N, Hartati NS, Koerniati S, Hastilestari BR, Sukmadjaja D .2023. Embryogenic callus induction of Indonesian Cassava (Menti and Adira 4) on different picloram concentrations. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* 1255 012053. DOI 10.1088/1755-1315/1255/1/012053.
- Berhanu R., & Feyissa T. 2020. Factors influencing micropropagation and somatic embryogenesis of two cassava varieties, Kello and Qulle. *Cell Biology & Development*. 4(2): 71 – 81. DOI: 10.13057/cellbioldev/v040205.
- Devy, N. F., Syarif, A. A., & Aryawaita. (2018). Identifikasi Penciri Morfologi dan Kualitas Plasma Nutfah Lokal Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz ) Sumatra Barat. *Buletin Plasma Nutfah*, 24(1): 53-62.
- Diantina, S. 2014. Konservasi tunas in vitro dan populasi sel embriogenik ubi kayu secara pertumbuhan minimal dan kriopreservasi. *Bogor Agricultural University*. Available at: URI: <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/118177> (Accessed: 22 December 2024).
- Fletcher, E. K. A., Amoako, T. N. E., and Twumasi. P. 2011. Effect of 2,4-D, explants type and cultivar on the callogenesis expression of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) in Ghana. *African Journal of Biotechnology*. 10(46): 9396 – 940.

- Groll, J., Mycock, D.J., and Gray, V.M. 2002. Effect of medium salt concentration on differentiation and maturation of somatic embryos of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). *Annals of Botany*. 89:645-648.
- Hapsoro, D. and Yusnita, Y. 2018. *Kultur Jaringan: Teori dan Praktik. Edited by Arie Pramesta. Yogyakarta.*
- Hartati NS, Fitriani H, Supatmi & Sudarnonowati E. 2012. Karakter umbi dan nutrisi tujuh genotip ubi kayu (*Manihot esculenta*). *Jurnal Agricola*. 2(2): 101-110.
- Hartati, H., Ramadanti, N. A., Putri, D. H., & Hartati, N. S. 2020. Molecular Characteristics of Cassava Carvita 25 Somaclonal Variant Using SSR Marker. *Jurnal Ilmu Dasar* 21(2): 87- 96.
- Hazubska-Przybył T, Ratajczak E, Obarska A, Pers-Kamczyc E. 2020. Different Roles of Auxins in Somatic Embryogenesis Efficiency in Two Picea Species. *International Journal of Molecular Sciences*. 21: 3394. doi:10.3390/ijms21093394.
- Hilman, Y., A. Kasno, dan N. Saleh. 2004. Kacang-kacangan dan Umbi-umbian: Kontribusi terhadap Ketahanan pangan dan Perkembangan Teknologinya. Dalam: Makrim, dkk (penyunting). *Inovasi Pertanian Tanaman Pangan. Puslitbangtan Bogor*, 95-132 hlm.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. 2013. Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The plant cell*, 25(9): 3159-3173.
- Imansyah, F., Syalsyabilah, P., Hasrolita, W., Kurniawan, I., & Adhytia, M. 2016. Pemanfaatan Singkong (*Manihot esculenta*) sebagai Bahan Utama dalam Pembuatan Nasi Tiwul di Desa Sukoharjo. *Ilmiah Sain Dan Teknologi*, 1(3): 128–138.
- Khatri, P., & Joshee, N. 2024. Effect of Picloram and Desiccation on the Somatic Embryogenesis of *Lycium barbarum* L. *Plants*, 13(2): 151.
- Magambo, S., Nabatanzi, A., Alicai, T., Wembabazi, E., Oketcho, K., Nakalembe, I., & Wagaba, H. 2024. Somatic embryo production and GFP genetic transformation in elite Ugandan cassava genotypes. *Scientific African*, 23, e02039.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2023. *Peta Jalan Kemandirian Pangan 2024*. Jakarta: Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Krisdiana, R. 2020. Preferensi Petani dan Penyebaran Varietas Unggul Ubi Kayu di Indonesia. *Buletin Palawija*. 18(1): 52-60.
- Magambo, S., Nabatanzi, A., Alicai, T., Wembabazi, E., Oketcho, K., Nakalembe, I., & Wagaba, H. 2024. Somatic embryo production and GFP genetic transformation in elite Ugandan cassava genotypes. *Scientific African*, 23, e02039.
- Mahadi, I., Syafi'i, W., & 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.
- Martin, K. P. 2004. Benzyladenine Induced Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration of *Leptadenia reticulata*. *Biologia plantarum*, 48(2): 285–288. doi: 10.1023/B:BIOP.0000033457.09115.f3.
- Mongomake, K., Doungous, O., Khatabi, B., & Fondong, V. N. 2015. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *Springer Plus*, 4: 1-12.

- Ngugi, M. P., Okoth, O. R., Ombori, O. R., Murugi, N. J., & Jalemba, M. A. 2015. Plant Regeneration of Kenyan Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) Genotypes. *Adv Crop Sci Tech*, 3(183): 2.
- Nugroho, C. C. 2017. Induksi kalus embriogenik beberapa genotipe ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.). *Jurnal Magrobis*, 17(1): 1–15.
- Nyaboga EN, Njiru JM, Tripathi L. 2015. Factors influencing somatic embryogenesis, regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivar ME14. *Frontiers in Plant Science*. 6(11). doi: 10.3389/fpls.2015.00411.
- Patel, S. R., Joshi, A. G., Pathak, A. R., Shrivastava, N., & Sharma, S. 2021. Somatic embryogenesis in *Leptadenia reticulata* (Retz.) Wight and Arn along with assessment of shoot and callus cultures for HPTLC fingerprint and quantification of p-Coumaric acid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 145: 173-189.
- Pathak A, Joshi, A., & Sharma, A. (2019). Development of Shoot Cultures from leaf Explant of *Portulaca quadrifida* L. *Notulae Scientia Biologicae*, 11(1):45-50.
- Pratiwi, B. I., Nugrahani, P., & Augustien K., N. 2023. Pengaruh Nutrisi AB Mix dan Benzyl Amino Purine (BAP) terhadap Pertumbuhan Pisang (*Musa acuminata*) Var. Cavendish *In Vitro*. *Agro Bali : Agricultural Journal*, 6(1): 231–240. <https://doi.org/10.37637/ab.v6i1.1163>.
- Qomariyah, F. L., & Dewanti, P. 2019. Pertumbuhan Planlet Angrek *Dendrobium* sp. pada Media Tahap III secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Inovasi*, 19(1).
- Rossin, C. B., & Rey, M. E. C. 2011. Effect of explant source and auxins on somatic embryogenesis of selected cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivars. *South African Journal of Botany*, 77(1): 59-65.
- Saelim, L., Salak, Phansiri, Netrphan, S., Suksangpanomrung, M., & Narangajavana J. 2006. Optimization of In vitro Cyclic Somatic Embryogenesis and Regeneration of the Asian Cultivars of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) for Genetic Manipulation System. *Global J. of Biotechnol and Biochem*. 1 (1): 07- 15.
- Salma, U., Kundu, S., Ali, M. N., & Mandal, N. 2019. Somatic embryogenesis-mediated plant regeneration of *Eclipta alba* (L.) Hassk. and its conservation through synthetic seed technology. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41: 1-10.
- Sari N, Suwarsi E, Sumadi. 2014. Optimasi Jenis dan Konsentrasi ZPT dalam Induksi Kalus Embriogenik dan Regenerasi menjadi Planlet pada *Carica pubescens* (Lenne & K.Koch). *Biosaintifika* 6(1): 51 – 59.
- Saripah, Susiyanti, Sulastri Isminingsih & Zahratul Millah. 2023. Efektivitas Penyinaran dan ZPT (2,4-D dengan BAP) terhadap Induksi Kalus Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) var. Cincalo Weha secara *in Vitro*. *Spizaetus: Jurnal Biologi & Pendidikan Biologi*. p- ISSN: 2716-151X. e-ISSN: 2722-869X.
- Sasmita, H. D., Dewanti, P., & Alfian, F. N. 2022. Somatic Embryogenesis of *Dendrobium lasianthera* X *Dendrobium antennatum* with the Addition of BA and NAA. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 50(2): 202-208.

- Setiawan, R. B., Khumaida, N., & Dinarti, D. 2024. Proliferasi Kalus Embriogenik dan Embrio Somatik Tanaman Gandum (*Triticum aestivum* L.). *Jurnal Sains Agro*, 9(1): 61-67.
- Simamora EC, Slameto, Restanto DP. 2024. Induksi dan Kultur Suspensi *Friable Embryogenic Callus* Ubi Kayu Menggunakan Kultivar Lokal dan Jenis Auksin yang berbeda. *Agro Bali: Agricultural Journal*. 7(1): 167-178. <https://doi.org/10.37637/ab.v7i1.1535>.
- Slameto, Fariroh, I., Kriswanto, B., Restanto, D. P., & Hariyono, K. 2023. Somatic embryogenesis induction in four cassava landraces in East Java, Indonesia. *Journal of Plant Biotechnology*, 50: 11–18. <https://doi.org/10.5010/JPB.2023.50.02.011>.
- Sundari, T. 2010. Pengenalan Varietas Unggul dan Teknik Budidaya Ubi Kayu. *Malang: Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*.
- Susanti, I., Suharsono, W. U., Siregar, U. J., & Tjahjoleksono, A. 2017. Optimization of somatic embryogenesis induction of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). In *Annales Bogorienses* 21(2): 45-51. Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The plant cell*, 25(9), 3159-3173.
- Syombua ED, Wanyonyi N, Adero MO, Mbinda WM, Ngugi MP, Alakonya AE, Oduor RO. 2019. Explant type and hormone regime influences somatic embryogenesis and regeneration in cassava. *African Journal of Biotechnology*. 18(25): 532 -539.
- Yelli, F., Titin, A., Utomo, S.D., Pathak, A. 2023. Somatic embryogenesis in two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* Volume 51, Issue 1, Article number 13039.
- Yelnititis, Y. 2020. Induksi kalus embriogenik dan embrio somatik dari eksplan daun kulim (*Scorodacarpus borneensis* Becc.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 14(2): 73-81.
- Yusrizal, Y., Mawadda, S., Purba, P. S., Maulida, L., Hasibuan, M., & Harahap, S. M. 2022. Pengaruh Pengelolaan Nilai Turunan Ekonomi Sumber Daya Alam Ubi Kayu di Indonesia. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 6(2): 14446-14452.
- Zainuddin, I. M., Schlegel, K., Gruissem, W., and Vander schuren, H. 2012. Robust transformation procedure for the production of transgenic farmer-preferred cassava landraces. *Plant Methods*. 8 : 24
- Zuyasna, Z., Hafsah, S., Fajri, R., Syahputra, M. O., & Ramadhan, G. 2012. The effect of picloram concentrations and explants types on the induction of somatic embryo on North Aceh Cocoa genotype. In *2nd Syiah Kuala University Annual International Conference 2012*. Syiah Kuala University.