

Induksi Kalus Embriogenik Pepaya (*Carica papaya* L.) Kultivar Caliso dan Callina

Embryogenic Callus Induction of Carica papaya L. cv. Caliso and Callina

Lolliani¹, Darda Efendi^{2,3*}, Dewi Sukma²

Diterima 06 Juni 2021/Disetujui 3 Desember 2021

ABSTRACT

Somatic embryogenesis papaya is an alternative way to produce true-to-type plants on a mass scale. The current study aimed to obtain a somatic embryogenesis protocol of Caliso and Callina cultivars in vitro with a combination of plant growth regulator 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) and sucrose. The research was conducted at the Tissue Culture Laboratory of the Center of Tropical Horticulture Studies, IPB University, from November 2018 to February 2020. The explant used were immature zygotic embryos of Caliso and Callina papaya. The experiment was arranged in a factorial in a completely randomized block design. This study was divided into two experiments: a) concentration optimization of 2,4-D and sucrose for callus induction. The first factor was concentration of 2,4-D consisted of 9.05; 22.6 and 45.2 μM . The second factor was concentration of sucrose consisted of 30 and 60 g L^{-1} . and b) concentration optimization of 2,4-D for the proliferation of embryogenic callus on solid and liquid medium. The first factor was concentration of 2,4-D consisted of 4.52; 6.78 and 9.04 μM . The second factor was culture system (solid and liquid). Papaya callus induction in addition with 2,4-D 9.05 μM and sucrose 30 g L^{-1} produced 92.50% of callus Caliso and 100% for Callina. The best treatment 2,4-D concentration for embryogenic callus proliferation was 6.87 μM in solid medium for Caliso cultivar, while Callina cultivar used 4.52 μM of 2,4-D in solid medium.

Keywords: 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, callus persentage, embryogenic callus, sucrose

ABSTRAK

Embriogenesis somatik pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu cara memproduksi tanaman *true to type* dalam skala massal. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan protokol embriogenesis somatik pepaya kultivar Caliso dan Callina pada media *in vitro* dengan kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) dan sukrosa. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat Kajian Hortikultura Tropika (PKHT) IPB, Bogor, dari November 2018 hingga Februari 2020. Eksplan yang digunakan adalah embrio zigotik muda (*immature zygotic embryo*) pepaya Caliso dan Callina. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial. Penelitian ini dibagi menjadi dua sub percobaan: a) optimalisasi konsentrasi 2,4-D dan sukrosa untuk induksi kalus embriogenik dengan faktor pertama 2,4-D yang terdiri dari 3 taraf (9.05; 22.6 dan 45.2 μM) dan faktor kedua sukrosa yang terdiri dari 2 taraf (30 dan 60 g L^{-1}) dan b) optimalisasi konsentrasi 2,4-D untuk proliferasi kalus embriogenik pada media kultur padat dan cair dengan faktor pertama 2,4-D yang terdiri dari 3 taraf (4.52; 6.78 dan 9.04 μM) dan faktor kedua yaitu media MS yang terdiri dari 2 taraf (padat dan cair). Induksi kalus pepaya dengan penambahan 2,4-D 9,05 μM dan sukrosa 30 g L^{-1} menghasilkan eksplan berkalus 92.5% (Caliso) dan 100% (Callina). Media terbaik untuk proliferasi kalus embriogenik direkomendasikan 2,4-D 6.78 μM dalam media padat pada kultivar Caliso dan 2,4-D 4.52 μM untuk kultivar Callina pada media padat.

Kata kunci: *2,4-dichlorophenoxy acetic acid*, kalus embriogenik, persentase kalus, sukrosa

¹Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

³Pusat Kajian Hortikultura Tropika, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Baranangsiang Jl. Raya Pajajaran, Bogor 16144
E-mail: dardaefendi@gmail.com (*penulis korespondensi)

PENDAHULUAN

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan buah tropika yang sangat digemari di Indonesia. Pepaya menjadi salah satu buah unggulan yang banyak dikembangkan karena memiliki banyak manfaat sebagai sumber gizi seperti vitamin A, vitamin C, tinggi gula dan mineral serta enzim proteolitik (Bhattacharya *et al.* 2002). Permintaan buah pepaya meningkat sejalan dengan peningkatan kesejahteraan dan kesadaran masyarakat akan pentingnya kandungan nutrisi buah pepaya terhadap kesehatan. Pepaya memiliki 3 variasi tipe seks yaitu betina, jantan dan hermaprodit (Rimberia *et al.* 2018). Perbanyakan pepaya pada umumnya dilakukan secara generatif melalui biji. Kendala dalam perbanyakan melalui biji adalah sulit memprediksi tipe seks tanaman pepaya sehingga harus menunggu sekitar 5-6 bulan sampai tanaman berbunga. Petani pepaya biasanya menanam setidaknya 2-3 biji per lubang. Setelah tanaman berbunga dilakukan seleksi tanaman, pepaya hermaprodit dipertahankan, sedangkan pepaya jantan dan betina dibuang. Hal tersebut menyebabkan perbanyakan melalui biji tidak efisien dari segi biaya dan proses budidaya. Selain itu perbanyakan ini menyebabkan terjadinya segregasi sehingga sifat yang diwariskan ke generasi berikutnya tidak sama dengan induknya (Al-Shara *et al.* 2018). Tanaman yang dihasilkan memiliki variasi tinggi baik ukuran dan kualitas buah maupun ketahanan terhadap patogen (Anandan *et al.*, 2011).

Perbanyakan *in vitro* dapat menjadi solusi alternatif yang tepat dalam mengatasi kendala penyediaan bibit seragam dan *true to type*. Induksi embriogenesis somatik merupakan salah satu teknik yang dapat digunakan untuk menghasilkan embrio somatik dalam jumlah banyak, seragam, *true to type* dan bebas patogen serta dimanfaatkan juga dalam pemuliaan *in vitro* untuk perbaikan genetik tanaman (Dhekney *et al.*, 2016). Perbanyakan melalui embriogenesis somatik masih memiliki beberapa kendala diantaranya persentase embrio somatik yang dihasilkan masih rendah serta gagalnya embrio somatik beregenerasi menjadi planlet normal (Kabir *et al.*, 2016). Keberhasilan embrio somatik pada pepaya dipengaruhi oleh jenis eksplan, komposisi media dan zat pengatur tumbuh (Malabadi *et al.*, 2011).

Pusat Kajian Hortikultura Tropika (PKHT) IPB telah mengembangkan varietas unggul tanaman pepaya antara lain pepaya Caliso dan Callina. Pepaya Caliso merupakan kultivar unggul lokal yang berasal dari Kalimantan dengan kategori buah berukuran kecil (panjang 19.5-21.4 cm) dan Callina merupakan varietas unggul nasional dengan kategori buah berukuran sedang (panjang 23-24 cm) (Fajri *et al.*, 2021). Tujuan dari penelitian ini yaitu mendapatkan media induksi dan proliferasi kalus embriogenik dalam pengembangan protokol perbanyakan massal pepaya Caliso dan Callina melalui embriogenesis somatik.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai Februari 2020 di Laboratorium Pusat Kajian Hortikultura Tropika (PKHT) Institut Pertanian Bogor. Bahan tanam yang digunakan adalah embrio zigotik yang memiliki ukuran panjang ± 3 mm dan diameter ± 2 mm (Gambar 1C) dari buah pepaya yang berumur ± 90 hari setelah antesis dengan ciri-ciri warna kulit buah hijau (Gambar 1A) dan biji berwarna putih (Gambar 1B) pada pepaya kultivar Callina dan Caliso. Sterilisasi dilakukan dengan merendam biji pepaya dalam larutan Bakterisida *Agrept* 20WP (bahan aktif streptomisin sulfat 20%) dan Fungisida *Benlate* T-20WP (bahan aktif Benomyl 20% dan Tiram 20%) konsentrasi 0.5 mg L⁻¹ selama 60 menit, kemudian direndam dalam larutan alkohol 70% selama 10 menit. Biji kemudian dibilas dengan *aquadest* steril, lalu direndam dengan larutan 20% dan 10% NaOCl masing-masing 20 menit dan 30 menit, seterusnya dibilas hingga bersih dengan *aquadest* steril dan ditiriskan di kertas saring. Pemisahan embrio zigotik dari biji dilakukan dengan cara menjepit biji menggunakan pinset dan pisau hingga embrio keluar lalu ditanam pada media ½ MS padat.

Induksi Kalus Embriogenik Pepaya

Percobaan dilaksanakan secara terpisah pada dua kultivar pepaya yaitu Caliso dan Callina. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial, dengan faktor pertama yaitu konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 3 taraf (9.05, 22.6 dan 45.2 μ M) dan faktor kedua yaitu konsentrasi sukrosa 2 taraf (30 dan 60 g L⁻¹). Terdapat 6 kombinasi perlakuan yang setiap perlakuan diulang 10 kali, setiap ulangan terdiri dari 3 botol kultur, sehingga didapatkan 180 botol unit percobaan pada masing-masing kultivar pepaya. Setiap satu botol kultur ditanam 4 eksplan embrio zigotik. Setiap eksplan sebagai satuan amatan. Eksplan diinkubasi pada ruangan gelap dengan suhu 25 °C selama 8 minggu. Variabel yang diamati adalah persentase eksplan berkalus, waktu muncul kalus dan tipe kalus.

Proliferasi Kalus Embriogenik Pepaya

Tahap proliferasi kalus embriogenik menggunakan bahan tanaman berupa kalus tipe 3 (kalus embriogenik) dari percobaan 1. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 3 taraf yaitu: 4.52, 6.78 dan 9.04 μ M. Faktor kedua adalah media MS yang terdiri dari 2 taraf yaitu: MS padat dan MS cair. Terdapat 6 kombinasi perlakuan dengan 10 kali ulangan, setiap ulangan terdiri dari 3 botol kultur, sehingga didapatkan 180 botol unit percobaan. Setiap satu botol kultur ditanam sebanyak 0.030 g kalus remah tipe 3 (kalus remah, putih kekuningan dan agak berair). Kultur media padat diinkubasi pada ruangan gelap dan kultur media cair ditempatkan di atas *orbital shaker* dengan kece-

patan 80 rpm dan dishaker terus menerus dengan suhu 25°C. Kultur diinkubasi selama 8 minggu dengan periode subkultur dengan interval dua minggu. Peubah yang diamati adalah bobot segar kalus embriogenik dan persentase kalus embriogenik yang membentuk embrio somatik.

Data diolah dengan *microsoft excel 2010* dan keragaman menggunakan uji F dengan menggunakan (ANOVA) dengan program *Statistical Analysis Software (SAS)* versi 9.1. Perlakuan yang berpengaruh nyata berdasarkan ANOVA diuji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test (DMRT)*. Data non parametrik diuji berdasarkan *K-Proportion test* menggunakan uji *Chi Square*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus Embriogenik Pepaya Kultivar Caliso dan Callina

Eksplan pada 3 sampai 6 hari setelah inisiasi belum membentuk kalus, namun terjadi pembengkakan pada eksplan (Gambar 2A), kemudian eksplan tumbuh dan berkembang membentuk kalus hingga pada 6 minggu setelah tanam (Gambar 2B, C, dan D).

Pepaya kultivar Caliso tidak menunjukkan respon waktu inisiasi kalus yang berbeda terhadap perlakuan 2,4-D maupun sukrosa. Inisiasi kalus terjadi 13-15 hari setelah tanam (Gambar 3A), dengan persentase eksplan berkalus 57.5-92.5%. Inisiasi kalus pepaya kultivar Callina, terjadi pada 12-16 hari setelah tanam (Gambar 3B), dengan persentase eksplan berkalus 50-100%.

Interaksi 2,4-D dan sukrosa tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan berkalus pada pepaya kultivar Caliso (Gambar 4A). Pada pepaya Callina pemberian konsentrasi 2,4-D dan sukrosa 30 g L⁻¹ secara signifikan menghasilkan persentase eksplan berkalus lebih tinggi yaitu antara 87.5-92.5%, sedangkan pemberian 2,4-D dan sukrosa 60 g L⁻¹ menunjukkan persentase eksplan berkalus lebih rendah yaitu antara 57.5-72.5% (Gambar 4B). Sukrosa berperan sebagai sumber energi dan menjaga potensial osmotik serta konservasi air di dalam sel. Vale *et al.* (2018) menyatakan media MS yang mengandung sukrosa 30 g L⁻¹ menginduksi kalus embriogenik, namun sukrosa 60 g L⁻¹ efektif dalam pendewasaan embrio somatik disebabkan karena adanya cekaman tekanan osmotik dalam media kultur. Peningkatan konsentrasi sukrosa dari 3%-6% meningkatkan jumlah embrio somatik, namun menurunkan laju proliferasi embrio somatik pada pepaya (Roy *et al.* 2016). Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Soloronzo-cascente *et al.* (2018) yang menggunakan sukrosa dengan konsentrasi 30 g L⁻¹ dalam media induksi menghasilkan persentase eksplan berkalus lebih tinggi pada pepaya hibrida F1 University of Costa Rica.

Pada pepaya kultivar Callina, 2,4-D dan sukrosa berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan membentuk kalus (Gambar 4B). Penggunaan 2,4-D dalam konsentrasi rendah 9.05 µM dengan sukrosa 30 g L⁻¹ menghasilkan persentase eksplan berkalus yang lebih tinggi pada pepaya Callina den-

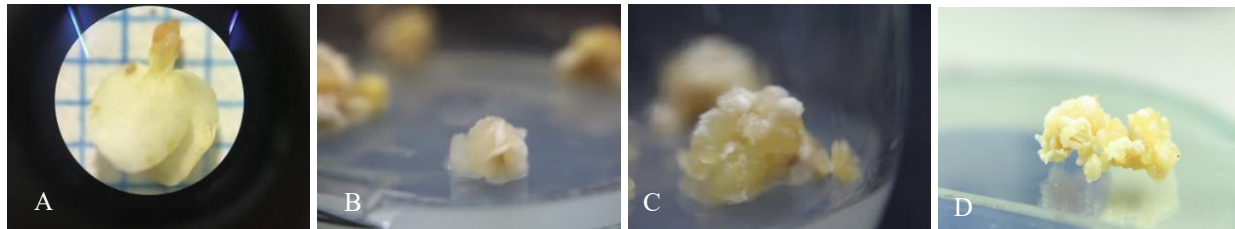
gan rerata 100% dibandingkan pada perlakuan 2,4-D dalam konsentrasi tinggi 45.2 µM dan sukrosa 60 g L⁻¹ yaitu rerata 50.8%. Demikian juga dalam penelitian Rajesh *et al.* (2020), media MS yang mengandung 2,4-D 3 mg L⁻¹ menghasilkan eksplan berkalus 83.33% pada pepaya kultivar TNAU CO.8. Aplikasi auksin 2,4-D dengan konsentrasi rendah pada induksi kalus embriogenik pepaya sangat penting, dibandingkan dengan konsentrasi tinggi yang dapat menyebabkan perubahan genetik, variasi somaklonal dan embrio somatik yang dihasilkan tumbuh abnormal sehingga tidak mampu berkembang menjadi tanaman normal (Anandan *et al.* 2012).

Pemberian 2,4-D yang dikombinasikan dengan sukrosa 30 g L⁻¹ secara signifikan membentuk eksplan berkalus pada kultivar Caliso dan Callina. Chaudhary and Prakash (2019) menyatakan bahwa, penambahan 2,4-D efektif menginduksi eksplan membentuk kalus pada pepaya kultivar P-7-9. Pemberian auksin 2,4-D dalam media berperan dalam menginduksi gen yang respon terhadap stres yang berkontribusi mengaktivasi sinyal transduksi sehingga sel dapat melakukan pemrograman kembali ekspresi gen yang diperlukan untuk menginduksi kalus embriogenik (Feher 2015). Hal tersebut didukung oleh penelitian tanaman Arabidopsis, bahwa setengah dari faktor transkripsi diinduksi dari 2,4-D selama inisiasi embriogenesis somatik (Gliwicka *et al.* 2013). Ekspresi banyak gen yang respon terhadap stres pada kalus pepaya mendukung dalam menginduksi embriogenesis somatik (Jamaluddin *et al.* 2017).

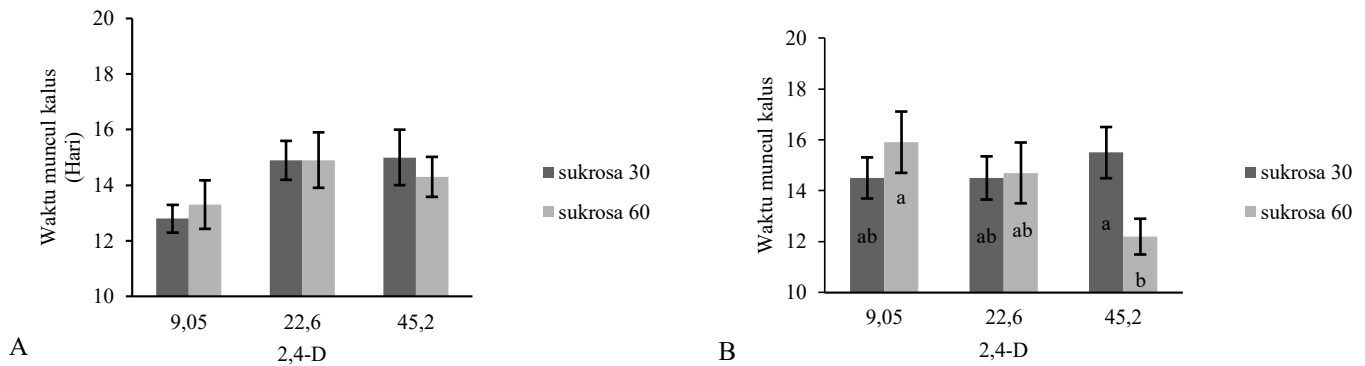
Pepaya kultivar Caliso dan Callina membentuk 4 tipe kalus (Tabel 1) yaitu: tipe 1: kalus kompak dan kuning kecoklatan, tipe 2: kalus kompak dan putih seperti kapas, tipe 3: kalus remah, putih kekuningan dan agak berair, tipe 4: kalus remah, kuning kecoklatan dan agak berair. Kalus tipe 3 dan tipe 4 merupakan kalus embriogenik. Kalus tipe 3 memiliki struktur remah, agak berair pada kalus, mudah dipisahkan serta sebagian kalus berstruktur globular (Gambar 5C). Sel-sel embriogenik memiliki ciri-ciri sitoplasma berukuran kecil serta padat, nukleus berukuran besar, vakuola berukuran kecil, mengandung beberapa lipid dan pati. Sedangkan kalus non-embriogenik selnya berukuran besar, vakuola memanjang dengan sitoplasma sedikit dan beberapa butir pati (Malabadi *et al.* 2011). Heringer *et al.* (2013) menyatakan morfologi kalus embriogenik pada pepaya memiliki struktur kalus remah, warna kuning dan laju pertumbuhan kalus lebih rendah dibandingkan pada kalus yang non-embriogenik. Estrella-Maldonado *et al.* (2017), kalus embriogenik ditandai dengan kalus globular, dinding sel tebal, sitoplasma padat, nukleus menonjol dan karakteristik sel-sel meristematik serta pro-embriogenik.



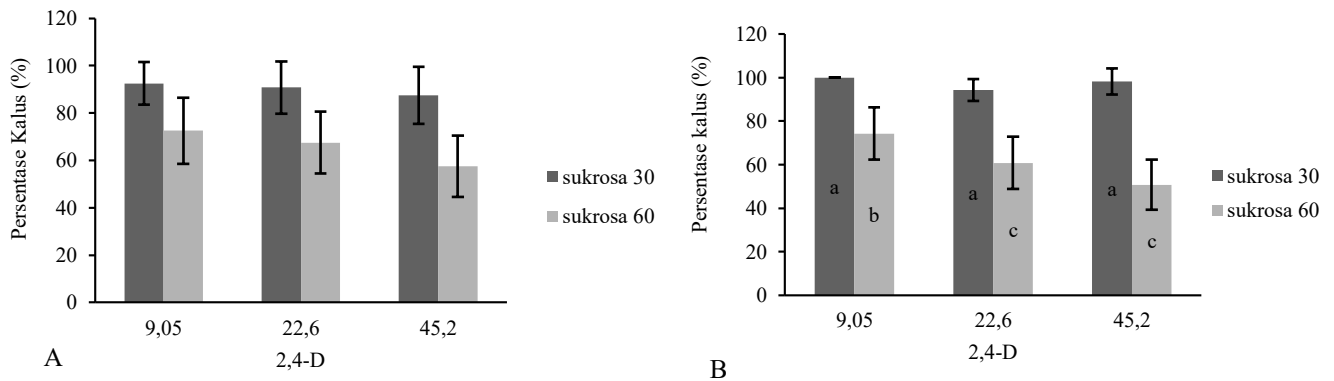
Gambar 1. Buah, benih, dan embrio pepaya. A) pepaya muda umur ± 3 bulan setelah antesis, B) Biji pepaya berwarna putih dan C) Panjang embrio zigotik ± 3 mm, diameter embrio zigotik ± 2 mm.



Gambar 2. Pertumbuhan dan perkembangan kalus. A) eksplan embrio zigotik 3 hari setelah tanam, B) 2 minggu setelah tanam (Bar 2 mm), C) 4 minggu setelah tanam (Bar 2 mm), dan D) 6 minggu setelah tanam (globular) (Bar 2 mm).



Gambar 3. Waktu kemunculan kalus pada pepaya A) Caliso dan B) Callina karena pengaruh 2,4-D dan sukrosa. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada grafik batang yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT ($\alpha = 0.05$). Bar±S.E.

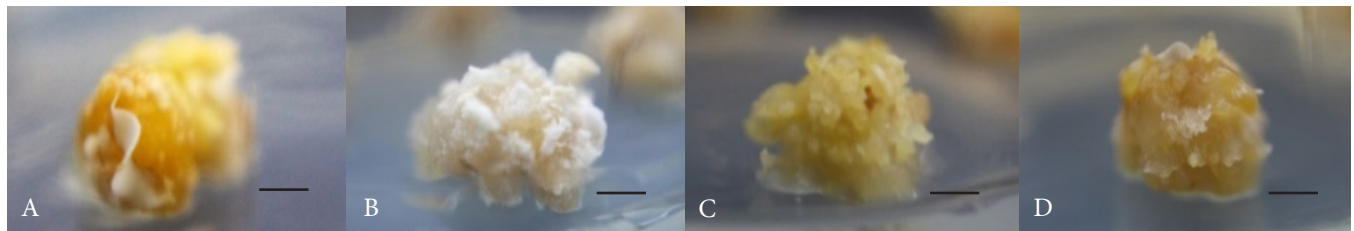


Gambar 4. Persentase eksplan berkalus pepaya Caliso (A) dan Callina (B) karena pengaruh 2,4-D dan sukrosa. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada grafik batang yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT ($\alpha = 0.05$). Bar±S.E.

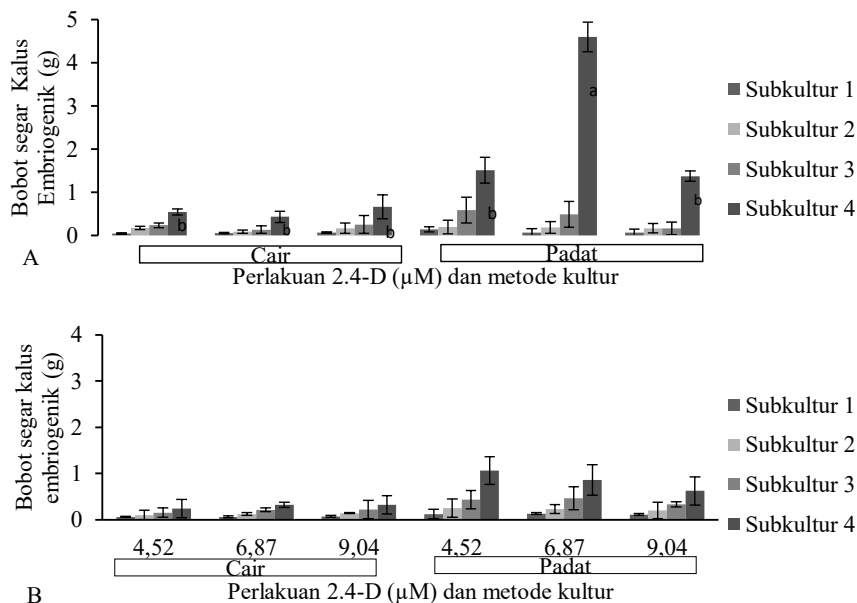
Tabel 1. Pengaruh komposisi media terhadap tipe kalus pada eksplan embrio zigotik pepaya kultivar Caliso dan Callina

2,4-D	Sukrosa	Persentase Tipe Kalus (%)							
		Caliso				Callina			
		Tipe 1	Tipe 2	Tipe 3	Tipe 4	Tipe 1	Tipe 2	Tipe 3	Tipe 4
22.6 μM	30 g L ⁻¹	20,2	9,17	61,5	9,2	32,7	15,9	45,1	6,2
22.6 μM	60 g L ⁻¹	44,4	23,4	16	16	57,5	6,8	28,8	6,8
45.2 μM	30 g L ⁻¹	37,1	13,3	37,1	12,4	22	5,9	66,9	5,1
45.2 μM	60 g L ⁻¹	56,5	17,4	13	13	73,8	1,6	21,3	3,3
9.05 μM	30 g L ⁻¹	35,1	7,2	45	12,6	39,2	15,8	41,7	3,3
9.05 μM	60 g L ⁻¹	36,8	12,6	29,9	20,7	67,4	1,1	28,1	3,4
P-value		<0.0001**				<0.0001**			

Keterangan: Hasil analisis dengan uji Chi-Square, *berbeda nyata pada P<0.05, **berbeda sangat nyata pada P<0.01, tn= tidak nyata. Tipe 1: kalus kompak dan kuning kecoklatan, b) Tipe 2: kalus kompak dan putih seperti kapas, c) Tipe 3: kalus remah, putih kekuningan dan agak berair dan d) Tipe 4: kalus remah, kuning kecoklatan dan agak berair.



Gambar 5. Tipe-tipe kalus pepaya. A) Tipe 1: kalus kompak dan kuning kecoklatan (Bar 5 mm), B) Tipe 2: kalus kompak dan putih seperti kapas (Bar 5 mm), C) Tipe 3: kalus remah, putih kekuningan dan agak berair (Bar 5 mm) dan D) Tipe 4: kalus remah, kuning kecoklatan dan agak berair (Bar 5 mm).



Gambar 6. Bobot segar kalus embriogenik pepaya. A) Caliso dan B) Callina pada perlakuan 2,4-D dan media kultur. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada grafik batang yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT ($\alpha = 0.05$). Bar \pm S.E.

Hasil analisis *Chi-Square* pada kultivar Caliso dan Callina menunjukkan 2,4-D dan sukrosa berpengaruh nyata terhadap persentase tipe kalus. Persentase maksimum kalus tipe 3 pada pepaya kultivar Caliso diperoleh pada 2,4-D 22.6 μM dan sukrosa 30 g L⁻¹ sebesar 61.5%. Pada Callina kalus tipe 3 terbanyak diperoleh pada perlakuan 2,4-D 4.5 μM dan sukrosa 30 g L⁻¹ dengan 66.9% (Tabel 1). Aplikasi 2,4-D dan sukrosa 30 g L⁻¹ secara signifikan menghasilkan rata-rata kalus tipe 3 yang merupakan kalus embriogenik dengan beberapa membentuk struktur globular (Gambar 5c).

Proliferasi Kalus Embriogenik Pepaya Kultivar Caliso Dan Callina

Secara umum semua perlakuan menunjukkan pertumbuhan dan perkembangan biomassa kalus embriogenik meningkat dari subkultur 1 sampai subkultur 4 pada pepaya kultivar Caliso dan Callina. Interaksi 2,4-D dan media kultur pada pepaya kultivar Caliso tidak berpengaruh nyata terhadap bobot segar kalus embriogenik pada subkultur 1-3, namun berpengaruh nyata pada subkultur 4. Pada Subkultur 4 bobot segar kalus tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan 2,4-D 6.87 μM dan media padat yaitu 4.60 g per kultur (Gambar 6a).

Interaksi 2,4-D dan media kultur pada pepaya Callina tidak pengaruh nyata terhadap bobot segar kalus embriogenik (Gambar 6b). Gambar 6b memperlihatkan bobot segar kalus embriogenik pada media padat dengan rerata maksimal hanya mencapai 1.06 g per kultur. Hasil pengamatan menunjukkan media padat cenderung menghasilkan bobot segar kalus lebih tinggi dibandingkan media cair.

Pengamatan visual pada proliferasi kalus embriogenik pada pepaya kultivar Caliso dan Callina menunjukkan pada semua konsentrasi 2,4-D dalam media padat menghasilkan embrio somatik fase globular yang juga dapat berkembang membentuk embrio somatik fase jantung, torpedo dan kotiledon. Embrio somatik yang terbentuk berbeda-beda jumlah dan kualitasnya pada setiap kombinasi perlakuan pada pepaya kultivar Caliso dan Callina. Pengamatan visual menunjukkan perbedaan respon pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik disebabkan karena perbedaan genotipe dan eksplan kalus embriogenik yang tidak seragam. Media padat lebih banyak menghasilkan bobot basah kalus yang membentuk embrio somatik pada fase globular. Pada media cair lebih sedikit proliferasi kalus, hal tersebut disebabkan kalus embriogenik lebih banyak mengalami proses pendewasaan menjadi embrio somatik pada subkultur pertama. Peneliti sebelumnya menyatakan media cair lebih tepat diaplikasikan pada tahapan pendewasaan kalus embriogenik menjadi embrio somatik pada pepaya Maradol Roja (Soloranzo-cascente *et al.* 2018).

KESIMPULAN

Dari penelitian ini didapatkan protokol induksi kalus embriogenik dari eksplan embrio muda (*immature zygotic embryo*) yang sama antara pepaya Caliso dan Callina, yaitu dengan menggunakan media dasar MS yang diperkaya den-

gan 2,4-D 9.05 μM dan sukrosa 30 g L⁻¹. Protokol proliferasi kalus embriogenik berbeda antara pepaya Caliso dan Callina, yaitu pada media MS padat yang diperkaya dengan 2,4-D 6.78 μM untuk kultivar Caliso dan 2,4-D 4.52 μM untuk kultivar Callina.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Shara, B., R.M. Taha, K. Rashid. 2018. Biotechnological methods and limitations of micropropagation in papaya (*Carica papaya* L.) production: A review. *J. Anim Plant Sci.* 28(5): 1208-1226.
- Anandan, R., D. Sudhakar, P. Balasubramanian, A. Gutierrez-Mora. 2012. In vitro somatic embryogenesis from suspension cultures of *Carica papaya* L. *Sci. Hort.* 136: 43-49. Doi: 10.1016/j.svienta.2012.01.003.
- Anandan, R., S. Thirugnanakumar, D. Sudhakar, P. 2011. In vitro organogenesis and plantlet regeneration of (*Carica papaya* L.). *J. Agric. Sci. Technol.* 7(5): 1339-1348.
- Bhattacharya, J., S.S. Khuspe, N.N. Renukdas, S.K. Rawal. 2002. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo explant of papaya (*Carica papaya* L. Washington and Honey Dew). *Indian J. Exp. Biol.* 40: 624-627.
- Chaudhary, K., J. Prakash 2019. Effect of 2,4-D and picloram on somatic embryogenesis in *Carica papaya* var. P-7-9. *Plant Tissue Cult Biotechnol.* 29(1): 25-32.
- Dhekney, S.A., R. Kandel, D.R. Bergey, V. Sittler, K. Soorinathasundaram, R.E. Litz. 2016. Advances in papaya biotechnology. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* Doi: 10.1016/j.bcab.2016.01.004.
- Estrella-Maldonado, H., L. Posada-Perez, M.C. Talavera, P.F. Barredo, R. Gomez-Kosky, J.M. Santamaria. 2017. The expression of CpAUX1/LAXs and most of the Long-distance CpPINs genes increases as the somatic embryogenesis process develops in *C. papaya* cv. "Red Maradol". *J. Plant Growth Regul.*
- Fajri, R., D. Efendi, D. Dinarty. 2021. Sterilisasi dan pertumbuhan *in vitro* tunas aksilar pepaya kultivar Callina dan Caliso. *J. Agron. Indonesia.* 49(1):75-81.
- Feher, A. 2015. Somatic embryogenesis. Stress-induced remodeling of plant cell fate. *Biochim. Biophys. Acta - Gene Regul. Mech.* 1849(4), 385-402. Doi: 10.1016/j.bbagr.2014.07.005.
- Gliwicka, M., K. Nowak, S. Balazadeh, B. Mueller-Roeber,

- M.D. Gaj. 2017. Extensive modulation of the transcription factor transcriptome during somatic embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. PLoS One. 8(7): e69261. Doi: 10.1371/journal.pone.0069261
- Heringer, A.S., E.M. Vale, T. Barroso, C. Santa-Catarina, V. Silveira. 2013. Polyethylene glycol effects on somatic embryogenesis of papaya hybrid UENF/CALIMAN 01 seeds. Theor. Exp. Plant Physiol. 25(2): 116-124.
- Jamaluddin, N. D., N.M. Noor, Hoe-Han, Goh. 2017. Genome-wide transcriptome profiling of *Carica papaya* L. embryogenic callus. Physiol. Mol. Biol. Plants. 23(2):357–368. Doi: 10.1007/s 12298-017-0429-8.
- Kabir, Md.H., Md.Z. Rahman, A.N.K. Mamun. 2016. Somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo in *Carica papaya* L., cv. Red Lady. Science publishing group. 4(6): 45-50.
- Malabadi, R.B., S.V. Kumar, G.S. Mulgund, K. Nataraja. 2011. Induction of somatic embryogenesis in Papaya (*C. papaya*). Res. J. Biotechnol. 2(5): 40-55.
- Rajesh, C.K., D. Sudhakar, K.K., Kumar, C. Kavitha, G. Karthikeyan, K. Soorianathasundaram. 2020. Somatic embryogenesis in papaya (*Carica papaya* L. cv. TNAU Papaya CO.8). Article no. CCAST.55158. 39(3): 18-26. Doi:10.9734/CCAST/2020/v39i33051.
- Rimberia, F.K., F.K. Ombwara, N.N. Mumo, E.M. Ateka. 2018. Genetic improvement of papaya (*Carica papaya* L.). Advances in Plant Breeding Strategies: Fruits. Doi: 10.1007/978-3-319-91944-7_21.
- Roy, P.K., S.K. Roy, L. Hakim, A.N.K. Mamun. 2016. Somatic Embryogenesis and plant regeneration of papaya (*Carica papaya* L. cv. Shahi). J. Nucl Sci Technol. 25: 1-2.
- Solorzano-Cascante, P., N. Shanches-Chiang, V.M. Jimenez. 2018. Explant type, culture system, 6-Benziladenine, Meta-Topolin and encapsulation affect indirect somatic embryogenesis and regeneration in *Carica papaya* L. Frontiers Plant Sci. 9: 1769. Doi: 10.3389/fpls.2018.01769.
- Vale E., M. Reis., R.S. Passamani, L.Z.C. Santa-Catarina, V. Silveira. 2018. Morphological analyses and variation in carbohydrate content during the maturation of somatic embryos of *Carica papaya*. Physiol. Mol. Biol. Plants. 24: 295–305. Doi: 10.1007/s12298-017-0501-4.