



## Optimalisasi Induksi Kalus Tebu (*Saccharum officinarum* L.) pada Media Murashige and Skoog dengan Penambahan Pikloram dan Kinetin

<sup>1</sup>Rosyida Nafia, <sup>2</sup>Noor Aini Habibah

<sup>1,2</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Semarang, Indonesia

\*Corresponding Author e-mail: [nooraini@mail.unnes.ac.id](mailto:nooraini@mail.unnes.ac.id)

Received: June 2025; Revised: July 2025; Accepted: August 2025; Published: September 2025

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh kombinasi pikloram dan kinetin terhadap induksi kalus pada eksplan gulungan daun tebu varietas Bululawang. Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap satu faktor dengan 16 kombinasi perlakuan konsentrasi pikloram (0, 2, 4, 6 ppm) dan kinetin (0, 0,5, 1, 1,5 ppm). Parameter yang diamati meliputi waktu muncul kalus, persentase eksplan berkalus, berat basah, berat kering, serta morfologi kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan kombinasi pikloram dan kinetin tidak berpengaruh signifikan terhadap waktu muncul kalus, tetapi secara signifikan meningkatkan persentase eksplan berkalus (rata-rata 86,72%) dibanding kontrol (12,50%). Berat basah dan berat kering kalus tertinggi tercatat pada perlakuan 4 ppm pikloram + 1 ppm kinetin dengan bobot berat basah 0,4412 g dan bobot berat kering 0,0650 g. Morfologi kalus didominasi tekstur kompak berwarna kuning hingga kuning kemerahan. Kombinasi pikloram dan kinetin efektif dalam meningkatkan persentase induksi kalus, berat basah dan berat kering kalus pada tebu, sehingga potensial untuk aplikasi kultur jaringan dan produksi metabolit sekunder.

**Kata Kunci:** *In vitro*; kalus; kinetin; pikloram; tebu

**Abstract:** This study aimed to analyze the effect of combined picloram and kinetin treatments on callus induction from young leaf roll explants of sugarcane variety Bululawang. The experiment was conducted using a completely randomized design with one factor consisting of 16 treatment combinations of picloram (0, 2, 4, and 6 ppm) and kinetin (0, 0.5, 1, and 1.5 ppm). The observed parameters included the time of callus initiation, percentage of explants forming callus, fresh weight, dry weight, and callus morphology. The results showed that the addition of picloram and kinetin combinations did not significantly affect the time of callus initiation but significantly increased the percentage of explants forming callus (averaging 86.72%) compared to the control (12.50%). The highest fresh and dry weights of callus were recorded at the treatment of 4 ppm picloram + 1 ppm kinetin, with a fresh weight of 0.4412 g and a dry weight of 0.0650 g. Callus morphology was predominantly compact in texture with a yellow to yellow-reddish color. The combination of picloram and kinetin effectively increased the percentage of callus induction, fresh weight, and dry weight of callus in sugarcane, indicating its potential application in tissue culture and secondary metabolite production.

**Keywords:** *In vitro*; callus; kinetin; picloram; sugarcane

**How to Cite:** Nafia, R., & Habibah, N. A. (2025). Optimalisasi Induksi Kalus Tebu (*Saccharum officinarum* L.) pada Media Murashige and Skoog dengan Penambahan Pikloram dan Kinetin. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(3), 1790–1802. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i3.17030>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i3.17030>

Copyright© 2025, Nafia et al

This is an open-access article under the CC-BY-SA License.



### PENDAHULUAN

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan komoditas agrikultur bernilai ekonomi tinggi, terutama sebagai sumber utama sukrosa dalam industri pangan. Selain perannya sebagai bahan baku gula, tebu juga mengandung beragam metabolit sekunder didalamnya, termasuk flavonoid, fenilpropanoid, asam lemak, steroid, terpenoid, serta antosianin yang berpotensi digunakan sebagai antioksidan, antimikroba, dan agen antikanker (Singh *et al.*, 2015; Wibawa *et al.*, 2021; Yuan *et al.*, 2022). Produksi metabolit sekunder dapat dicapai melalui kultur kalus dari berbagai spesies tanaman (Kadapi *et al.*, 2024). Misalnya, keberhasilan kultur kalus dan peningkatan produksi metabolit sekunder di *Verbascum scamandri* Murb. dengan jumlah verbascoside, luteolin, dan aucubin yang lebih tinggi dibandingkan dengan

tanaman *in vivo* (Cambaz & Çördük, 2023). Kultur kalus menawarkan sejumlah kelebihan dalam produksi metabolit sekunder, seperti kemampuan meningkatkan hasil, pengendalian kondisi lingkungan yang lebih baik, serta potensi manipulasi genetik sebagai metode alternatif dalam menghasilkan senyawa bioaktif (Ranade *et al.*, 2023). Penggunaan kultur kalus juga memungkinkan produksi metabolit sekunder dengan biaya rendah, menjadikannya metode hemat biaya untuk mendapatkan senyawa berharga.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) memainkan peran penting dalam perkembangan kultur kalus tanaman (Setiawati *et al.*, 2019). ZPT seperti sitokinin dan auksin digunakan untuk mengontrol dan mengatur pertumbuhan serta morfogenesis *in vitro*. Penggunaan auksin dapat memengaruhi pembelahan sel, pemanjangan sel, pembesaran jaringan, pembentukan akar, dan pembentukan kalus pada konsentrasi tinggi (Sarah *et al.*, 2023). Selain itu, diperlukan alternatif sitokinin yang berfungsi mendorong pertumbuhan sel dalam jaringan dan tunas daun (Widiastoety, 2014). Efektivitas ZPT bergantung pada interaksi dari konsentrasi hormon eksogen yang ditambahkan dengan hormon endogen (Indah & Ermavitalini, 2013; Wijawati *et al.*, 2019; Kadapi *et al.*, 2024). Induksi kalus umumnya menggunakan hormon auksin dengan aktivitas kuat dalam konsentrasi tinggi, seperti 2,4 Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D). Namun, penggunaan 2,4-D juga dapat menyebabkan perubahan epigenetik dan genetik dalam sel, seperti metilasi dan mutasi pada DNA serta menyebabkan penurunan kompetensi kalus embriogenik dari waktu ke waktu pada kultur kalus tebu (Fraga *et al.*, 2012; Fehér, 2015; Passamani *et al.*, 2020). Sehingga diperlukan alternatif auksin dalam induksi kalus dengan menggunakan auksin lain seperti pikloram (Ahmed Khan *et al.*, 2008; Sardar *et al.*, 2016). Sedangkan, kinetin sebagai sitokinin sintetik aktif dapat mendorong pembelahan sel jika dikombinasikan dengan auksin (Jacqmard *et al.*, 2019).

Kombinasi pikloram dengan kinetin belum banyak dipelajari untuk kultur kalus tanaman di beberapa penelitian. Salah satu penelitian mengevaluasi respons pengatur pertumbuhan tanaman yang berbeda pada induksi kalus dan regenerasi pada genotipe tebu, dan diamati bahwa respons kalus terbaik dicapai pada kombinasi 2,4-D dengan kinetin (Saleem *et al.*, 2022). Selain itu, sebuah studi tentang eksplan daun *Passiflora gibertii* menemukan bahwa induksi kalus sangat bergantung pada kombinasi pikloram dan kinetin, dalam konsentrasi yang lebih tinggi dapat menghasilkan peningkatan produksi senyawa sekunder dan vitamin (Azu *et al.*, 2022). Namun, hingga saat ini belum terdapat penelitian yang secara spesifik mengeksplorasi efek kombinasi pikloram dan kinetin pada kultur kalus tebu. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh berbagai kombinasi pikloram dan kinetin terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus tebu. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam optimasi media kultur kalus pada tanaman tebu.

## METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang yang dimulai pada bulan November 2024 hingga April 2025. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor dengan perlakuan jenis/konsentrasi ZPT pada konsentrasi pikloram 0 ppm, 2 ppm, 4 ppm, dan 6 ppm serta kinetin dengan konsentrasi 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, dan 1,5 ppm. Pada penelitian ini terdapat 16 kombinasi taraf perlakuan dengan 4 kali ulangan pada setiap perlakuan yang terdiri dari: (a) P0K0; (b) P0K0,5; (c) P0K1; (d) P0K1,5; (e) P2K0; (f) P2K0,5; (g) P2K1; (h)

P2K1,5; (i) P4K0; (j) P4K0,5; (k) P4K1; (l) P4K1,5; (m) P6K0; (n) P6K0,5; (o) P6K1; dan (p) P6K1,5.

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh konsentrasi pikloram dan kinetin terhadap induksi kalus pada tebu dengan parameter waktu terbentuknya kalus (HST), persentase tumbuh kalus (%), berat basah kalus (gram), berat kering kalus (gram), dan morfologi kalus yang terdiri dari warna dan tekstur kalus. Pengamatan warna kalus dilakukan dengan cara menentukan warna berdasarkan *Munsell Color Chart*. Tekstur kalus yang terbentuk diamati secara visual, yaitu terbentuk kalus yang remah (*friable*) atau kalus kompak (*nonfriable*). Waktu terbentuknya kalus dihitung sejak hari pertama penanaman eksplan (HST). Kalus yang muncul dihitung minimal berukuran 1 mm. Persentase eksplan yang berkalus, tekstur serta warna kalus diamati setelah 28 hari penanaman.

Populasi pada penelitian ini adalah tebu var. Bululawang yang berasal dari lahan budidaya tebu Dusun Karangturi, Kecamatan Gantiwarno, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah. Sampel penelitian menggunakan eksplan gulungan daun tanaman tebu varietas Bululawang berusia 4-6 bulan. Alat yang digunakan meliputi botol kultur, erlemeyer, gelas ukur, mikropipet, pengaduk, neraca analitik, autoklaf, LAF, bunsen, petridish, alat diseksi seperti scalpel, pinset, mata pisau, oven, dan pH meter. Sedangkan bahan yang digunakan terdiri dari gulungan daun tebu varietas Bululawang dengan diameter 1,5 cm dan panjang 25 cm dari tunas apikal, media MS, glukosa, agar, myoinositol, spiritus, detergen cair, bayclin, alkohol 70% dan 96%, pikloram, kinetin, dan aquades steril.

### Pembuatan media MS

Media kultur disiapkan dengan melarutkan 4,43 g/L media Murashige and Skoog, 30 g/L gula pasir dan 0,1 g/L myoinositol dengan 1 liter aquades. pH media disesuaikan hingga 5,8 menggunakan larutan NaOH 1N atau HCl 1N. Setelah itu, ditambahkan 6,5 g/L agar *plain* dan larutan stok pikloram serta kinetin sesuai perlakuan. Campuran media dipanaskan untuk melarutkan agar, kemudian dituangkan dalam botol kultur yang steril dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 20 menit.

### Sterilisasi Eksplan

Eksplan berupa selubung daun tebu bagian dalam var. Bululawang dibilas menggunakan air mengalir selama 30 menit, kemudian dibersihkan menggunakan detergen cair selama 10 menit dan dibilas hingga bebas sabun. Selanjutnya eksplan disterilkan permukaannya dalam LAF menggunakan larutan bakterisida dan fungisida (0,3%) selama 30 menit sambil dikocok perlahan, kemudian dibilas dengan aquades steril. Eksplan kemudian direndam selama 10 menit dalam larutan bayclin 75%, lalu dibilas kembali menggunakan aquades steril. Kemudian, lapisan daun terluar dikelupas hingga berdiameter 5-7 mm.

### Induksi kalus tebu

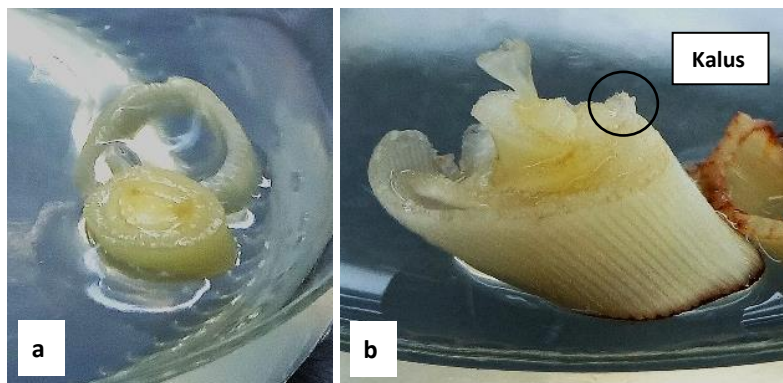
Penanaman eksplan dilakukan di dalam LAF. Eksplan steril diletakkan di atas petridish berisi media MS cair untuk menahan eksplan mengalami *browning*. Sepuluh potongan pertama dari tunas apikal eksplan gulungan daun tebu dipotong dengan ukuran diameter 5-7 mm dan tebal 4-6 mm kemudian dipindahkan serta ditanam ke dalam botol steril berisi media MS yang mengandung ZPT sesuai perlakuan. Eksplan diletakkan dalam kondisi gelap. Suhu di ruang inkubasi berkisar 25-26°C. Kalus yang berumur 28 hari dipanen untuk mendapatkan data persentase hidup, berat basah, berat kering, serta morfologi warna, dan tekstur kalus.

Data-data kuantitatif berupa persentase eksplan berkalus, waktu terbentuk kalus, berat basah kalus dan berat kering kalus dianalisis dengan menggunakan IBM SPSS Statistics 26 dengan taraf perlakuan  $p = 5\%$ . Data tersebut kemudian diuji normalitas melalui uji *Kolmogorov-Smirnov*. Data yang terdistribusi normal dan homogen berdasarkan uji *Levene*, selanjutnya dianalisis menggunakan uji *One-way ANOVA* dan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) ketika terdapat perbedaan signifikan. Sedangkan data yang tidak normal dan tidak homogen, dianalisis menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Post-Hoc Dunn* bila terdapat perbedaan yang signifikan. Parameter morfologi berupa warna dan tekstur kalus dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Waktu Muncul Kalus

Pembentukan kalus dimulai dengan adanya pembengkakan yang diikuti munculnya gumpalan kecil berwarna putih kekuningan seperti pada Gambar 1. Menurut Anggraito *et al.* (2023), bagian eksplan yang langsung bersentuhan dengan media berkemungkinan mengalami penyerapan nutrisi lebih cepat, sehingga menyebabkan pembengkakan dan pembentukan massa sel baru. Data waktu muncul kalus menunjukkan distribusi yang tidak normal dan homogen berdasarkan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene*, masing-masing dengan nilai signifikansi 0,00 dan 0,07. Sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menguji perbedaan antar perlakuan.



**Gambar 1.** (a) Eksplan gulungan daun tebu setelah tanam (0 HST); (b) Kalus mulai membentuk gumpalan kecil (7 HST).

Hasil uji *Kruskal-Wallis* pada parameter waktu muncul kalus menunjukkan tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada eksplan dengan penambahan kombinasi ZPT pikloram-kinetin dengan nilai signifikansi  $0,436 > 0,05$ . Berdasarkan hasil pengamatan parameter waktu muncul kalus pada Tabel 1, perlakuan 6 ppm pikloram + 1 ppm kinetin menunjukkan rata-rata waktu tercepat dalam pembentukan kalus, yaitu 4,25 HST, sedangkan waktu terlama terdapat pada perlakuan 2 ppm pikloram + 1 ppm kinetin, yaitu 9,25 HST. Namun seluruh perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, dengan rata-rata waktu pertumbuhan kalus 6,79 HST.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan ZPT pikloram dan kinetin tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap lama munculnya kalus tebu. Eksplan yang dikultur pada media kontrol tanpa penambahan ZPT juga dapat merangsang pembentukan kalus pada 7 HST. Kandungan auksin dan sitokinin endogen yang terdapat dalam eksplan dapat memicu pembelahan sel secara mandiri (Rahman *et al.*, 2021). Pada media kontrol, hormon-hormon tersebut tetap aktif dan mampu menginduksi kalus meski tanpa penambahan ZPT eksternal. Kemampuan jaringan

untuk menyerap nutrisi yang tersedia berpengaruh terhadap laju pertumbuhan setiap perlakuan.

**Tabel 1.** Rata-rata muncul kalus (HST) dan persentase eksplan berkalus (%)

| ZPT (ppm)        |     | Waktu Muncul Kalus (HST)  | Persentase Eksplan Berkalus (%) |
|------------------|-----|---------------------------|---------------------------------|
| Pik              | Kin |                           |                                 |
| 0                | 0   | 7,00 ± 0,00 <sup>ns</sup> | 12,50 ± 25,00 <sup>b</sup>      |
|                  | 0,5 | 7,50 ± 3,31 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 1   | 6,25 ± 2,87 <sup>ns</sup> | 75,00 ± 28,87 <sup>a</sup>      |
|                  | 1,5 | 6,50 ± 1,73 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
| 2                | 0   | 7,00 ± 4,32 <sup>ns</sup> | 87,50 ± 25,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 0,5 | 6,00 ± 1,15 <sup>ns</sup> | 75,00 ± 28,87 <sup>a</sup>      |
|                  | 1   | 9,25 ± 2,21 <sup>ns</sup> | 87,50 ± 25,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 1,5 | 8,00 ± 2,16 <sup>ns</sup> | 87,50 ± 25,00 <sup>a</sup>      |
| 4                | 0   | 7,25 ± 0,50 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 0,5 | 6,25 ± 0,95 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 1   | 6,25 ± 0,95 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 1,5 | 6,75 ± 2,75 <sup>ns</sup> | 75,00 ± 28,87 <sup>a</sup>      |
| 6                | 0   | 7,50 ± 2,88 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 0,5 | 7,50 ± 4,12 <sup>ns</sup> | 87,50 ± 25,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 1   | 4,25 ± 0,50 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
|                  | 1,5 | 5,50 ± 1,73 <sup>ns</sup> | 100,00 ± 0,00 <sup>a</sup>      |
| <b>Rata-rata</b> |     | <b>6,79 ± 2,40</b>        | <b>86,72 ± 27,08</b>            |

Ket: Huruf superskrip dengan notasi yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan sedangkan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan. Notasi *not significant* (ns) menunjukkan tidak ada pengaruh.

### Persentase Eksplan Berkalus

Pertumbuhan kalus dikatakan berhasil apabila memiliki persentase tumbuh kalus yang tinggi. Pengukuran parameter persentase pertumbuhan kalus dilakukan pada 28 HST. Data persentase tumbuh kalus menunjukkan distribusi yang tidak normal dan homogen berdasarkan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene*, masing-masing dengan nilai signifikansi 0,00. Sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menguji perbedaan antar perlakuan. Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* diketahui bahwa perlakuan kombinasi pikloram-kinetin terhadap parameter persentase eksplan berkalus menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ( $0,007 < 0,05$ ). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi pikloram dan kinetin yang ditambahkan ke dalam media perlakuan mampu menginduksi kalus pada eksplan gulungan daun tebu.

Analisis lebih lanjut menggunakan uji *Dunn* mengungkapkan bahwa perlakuan pada media kontrol memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan seluruh perlakuan persentase tumbuh kalus. Persentase eksplan yang tumbuh pada media kontrol hanya 12,50% dengan kalus yang dihasilkan tidak optimal. Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa rata-rata persentase eksplan gulungan daun tebu membentuk kalus sebesar 86,72%. Seluruh kombinasi menunjukkan hasil terbaik dalam membentuk kalus selain perlakuan kontrol 0 ppm pikloram + 0 ppm kinetin. Pemberian ZPT pada induksi kalus tebu penting dilakukan untuk mendapatkan hasil kalus yang lebih optimal. Ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan pada tanaman binahong, dimana media kontrol juga dapat menginduksi pembentukan kalus, tetapi dengan hasil yang kurang optimal (Aulia & Habibah, 2024).



Induksi kalus dimulai pada bagian eksplan yang mengalami luka atau pemotongan. Adanya perlukaan pada eksplan dapat memicu jalur dediferensiasi seluler yang ditandai dengan aktivasi gen-gen *Wound Induced Dedifferentiation* (WIND). WIND1, WIND2, WIND3, dan WIND4 merupakan regulator utama yang merespon rangsangan luka dan meningkatkan respon jalur pensinyalan sitokinin untuk memicu pembentukan kalus (Ma *et al.*, 2024). WIND 1 akan diekspresikan di lokasi perlukaan ketika proses inkubasi awal pada media pertumbuhan yang mengandung auksin dan sitokinin kemudian akan memengaruhi regenerasi sel (Iwase *et al.*, 2021).

Pembentukan kalus dikendalikan melalui mekanisme pengaturan siklus sel yang kompleks, melibatkan tahap induksi dan pembelahan sel yang dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin. Pikloram sebagai auksin sintetis dalam proses pembentukan kalus akan mengaktifkan jalur transduksi sinyal melalui faktor transkripsi *Auxin Response Factor* (ARF) dengan mengikat kompleks reseptor TIR1/AFB, selanjutnya protein Aux/IAA dipotong dan diuraikan sehingga memungkinkan pelepasan ARF7 dan ARF19. Setelah aktif, ARF7 dan ARF19 berasosiasi dengan elemen DNA pada promotor gen-gen target untuk mendorong ekspresi serangkaian gen *Lateral Organ Boundaries Domain* (LBD), termasuk LBD16, LBD17, LBD18, dan LBD29. Induksi LBD tidak hanya memicu ekspresi faktor transkripsi sekunder, tetapi juga merekrut remodeler kromatin. Dalam hal ini, LBD membentuk dimer dan mengenali motif E2F untuk mengaktifkan promotor E2Fa-DP, sehingga meningkatkan transkripsi gen *cyclin-D* dan regulator G1-S seperti CDKA;1 dan RBR. Aktivasi E2Fa-DP mempercepat transisi fase G1-S (replikasi DNA) dan fase M (mitosis) yang memacu dediferensiasi sel somatik menjadi kalus (Pereira *et al.*, 2012; Ikeuchi *et al.*, 2013).

Efektivitas pikloram sering dipengaruhi oleh rasio dengan sitokinin dalam media kultur. Kinetin sebagai sitokinin yang ditambahkan ke media diubah dalam sel menjadi bentuk aktif (kinetin trifosfat) melalui reaksi fosforilasi oleh adenine-nucleotide kinase. Kinetin trifosfat kemudian mengikat reseptor histidin-kinase (AHK), ikatan ini akan memicu auto-fosforilasi transfer fosfat ke protein histidin fosfatase (AHP), sehingga menyebabkan fosforilasi dan aktivasi faktor transkripsi ARR-B di nukleus. ARR-B yang telah teraktivasi dapat meningkatkan ekspresi gen *CYCD3;1* dan mengatur faktor AP2/ERF (termasuk ESR1 dan ESR2) di mana ESR2 akan memicu gen *CYCD1;1* serta DOF-OBP1. OBP1 selanjutnya mengaktifkan *CYCD3;3* dan pengatur siklus sel lainnya untuk membentuk kompleks siklin-CDK yang mendorong transisi G1-S dan G2-M. Proliferasi sel yang terstimulasi ini akhirnya menghasilkan massa kalus yang tak berdiferensiasi (Ikeuchi *et al.*, 2013; Wang & Ruan, 2013).

Secara fisiologi, pembentukan kalus juga dipengaruhi interaksi hormon auksin dan sitokinin alami dalam eksplan dengan penambahan hormon eksogen pada media kultur (Wahyuni *et al.*, 2020). Adanya penambahan hormon auksin merangsang aktivitas pompa proton ATPase yang mengakibatkan ruang dinding sel mengalami pengasaman akibat perpindahan ion H<sup>+</sup> dari sitoplasma. Penurunan pH ini menyebabkan terputusnya ikatan silang antar polimer penyusun dinding sel, sehingga struktur dinding sel menjadi lebih longgar. Selanjutnya air dan zat organik dapat masuk ke dalam sel melalui proses osmosis dan transportasi membran, sehingga memungkinkan sel berkembang dan tumbuh. Auksin dan sitokinin, pada konsentrasi yang sesuai, akan mendorong pembesaran dan pembelahan sel (Merthaningsih *et al.*, 2018). Pelepasan ion H<sup>+</sup> ke dinding sel oleh auksin meningkatkan plastisitas dinding sel dan meningkatkan ukuran sel (Lin *et al.*, 2021). Sedangkan, sitokinin berperan penting untuk merangsang pembelahan jaringan tanaman (Taiz & Zeiger, 2010). Selain itu, kondisi pencahayaan gelap selama inkubasi kalus tebu juga memengaruhi

hasil kalus yang terbentuk. Induksi kalus paling efektif dilakukan dalam kondisi gelap, dengan frekuensi pembentukan tertinggi mencapai 59,4% pada varietas CoS 99259 dan 55,3% pada CoS 96258 (Sengar *et al.*, 2011).

### Berat Basah Kalus

Berat basah kalus ditimbang dengan menggunakan neraca analitik yang memiliki tingkat ketelitian hingga 0,0001 gram. Data berat basah kalus menunjukkan distribusi yang normal dan tidak homogen berdasarkan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene*, masing-masing dengan nilai signifikansi 0,200 dan 0,020. Sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk menguji perbedaan antar perlakuan. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa penambahan kombinasi ZPT pikloram-kinetin pada media memiliki pengaruh yang signifikan (nilai signifikansi  $0,002 < 0,05$ ). Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan kombinasi ZPT pikloram-kinetin dalam media mampu memengaruhi berat basah kalus pada eksplan gulungan daun tebu. Hasil uji *Dunn* mengenai pengaruh penambahan hormon terhadap berat basah kalus disajikan dalam Tabel 2.

Rata-rata berat basah kalus tertinggi terdapat pada eksplan dengan media 4 ppm pikloram + 1 ppm kinetin, yaitu 0,4412 gram. Namun, hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan beberapa perlakuan lainnya. Pertambahan berat kalus bergantung pada kecepatan sel dalam melakukan pembelahan. Ketersediaan hormon endogen dan adanya penambahan hormon eksogen juga berpengaruh terhadap proses pembelahan sel. Penambahan hormon auksin dan sitokinin dalam induksi kalus penting dilakukan untuk mendapatkan berat basah kalus yang lebih optimal.

**Tabel 2.** Berat basah dan berat kering tebu

| ZPT (ppm) |         | Berat Basah Kalus<br>(gram)         | Berat Kering Kalus<br>(gram)        |
|-----------|---------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Pikloram  | Kinetin |                                     |                                     |
| 0         | 0       | $0,0487 \pm 0,10^d$                 | $0,0044 \pm 0,01^c$                 |
|           | 0,5     | $0,2328 \pm 0,01^c$                 | $0,0289 \pm 0,00^{bc}$              |
|           | 1       | $0,2301 \pm 0,09^c$                 | $0,0342 \pm 0,02^b$                 |
|           | 1,5     | $0,2545 \pm 0,03^{bc}$              | $0,0347 \pm 0,00^b$                 |
| 2         | 0       | $0,2932 \pm 0,09^{abc}$             | $0,0363 \pm 0,00^{ab}$              |
|           | 0,5     | $0,3916 \pm 0,16^{ab}$              | $0,0497 \pm 0,03^{ab}$              |
|           | 1       | $0,2205 \pm 0,10^c$                 | $0,0339 \pm 0,00^b$                 |
|           | 1,5     | $0,3685 \pm 0,08^{abc}$             | $0,0516 \pm 0,02^{ab}$              |
| 4         | 0       | $0,4192 \pm 0,07^a$                 | $0,0526 \pm 0,02^{ab}$              |
|           | 0,5     | $0,3683 \pm 0,13^{abc}$             | $0,0542 \pm 0,02^{ab}$              |
|           | 1       | $0,4412 \pm 0,11^a$                 | $0,0650 \pm 0,01^a$                 |
|           | 1,5     | $0,2585 \pm 0,06^{bc}$              | $0,0341 \pm 0,01^b$                 |
| 6         | 0       | $0,3164 \pm 0,06^{abc}$             | $0,0447 \pm 0,01^{ab}$              |
|           | 0,5     | $0,3552 \pm 0,13^{abc}$             | $0,0442 \pm 0,03^{ab}$              |
|           | 1       | $0,3775 \pm 0,06^{abc}$             | $0,0450 \pm 0,02^{ab}$              |
|           | 1,5     | $0,3527 \pm 0,10^{abc}$             | $0,0394 \pm 0,02^{ab}$              |
| Rata-rata |         | <b><math>0,3080 \pm 0,13</math></b> | <b><math>0,0408 \pm 0,02</math></b> |

Ket: Huruf superskrip dengan notasi yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan sedangkan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan. Notasi *not significant* (ns) menunjukkan tidak ada pengaruh.

Aplikasi ZPT yang tepat serta interaksi yang efektif dengan hormon endogen dalam eksplan dapat mengoptimalkan pertumbuhan kalus. Penambahan hormon auksin dan sitokinin memberikan pengaruh besar terhadap berat kalus yang

dihasilkan. Pemberian pikloram dengan konsentrasi tinggi mampu memberikan respon pembengkakan, sehingga perlu penambahan sitokinin agar mampu memicu pembelahan sel lebih cepat. Bertambahnya berat kalus tergantung pada kecepatan sel-sel dalam memperbanyak diri, membelah diri, serta membesarnya kalus (Indah & Ermavitalini, 2013; Satria *et al.*, 2019). Bobot segar kalus berhubungan dengan tekstur kalus. Secara fisiologi, berat segar kalus terdiri dari dua komponen utama, yaitu karbohidrat dan air (Ruswaningsih, 2007).

### Berat Kering Kalus

Pertumbuhan kalus juga dapat diukur melalui berat kering. Berat kering diperoleh dari penimbangan kalus yang telah dikeringkan menggunakan oven hingga beratnya konstan. Data berat kering kalus menunjukkan distribusi yang tidak normal dan homogen berdasarkan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene*, masing-masing dengan nilai signifikansi 0,004 dan 0.014. Sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menguji perbedaan antar perlakuan. Hasil uji *Kruskal-Wallis* parameter berat kering kalus menunjukkan terdapat pengaruh signifikan pada berat kering eksplan dengan penambahan kombinasi ZPT pikloram-kinetin dengan nilai signifikansi  $0,045 < 0,05$ . Nilai tersebut menunjukkan kombinasi pikloram dan kinetin yang ditambahkan ke dalam media perlakuan berpengaruh terhadap hasil berat kering kalus tebu.

Hasil pengukuran berat kering pada Tabel 2, menunjukkan bahwa berat kering tertinggi terdapat pada perlakuan 4 ppm pikloram + 1 ppm kinetin, yaitu 0,0650 gram. Namun, hasil ini kurang menunjukkan perbedaan nyata dengan beberapa perlakuan lainnya. Pengukuran berat kering menghasilkan nilai yang lebih rendah dibandingkan berat basah, karena kalus dalam kondisi basah masih mengandung kadar air yang tinggi. Berat segar kalus yang besar disebabkan kandungan air yang tinggi (Indah & Ermavitalini, 2013).

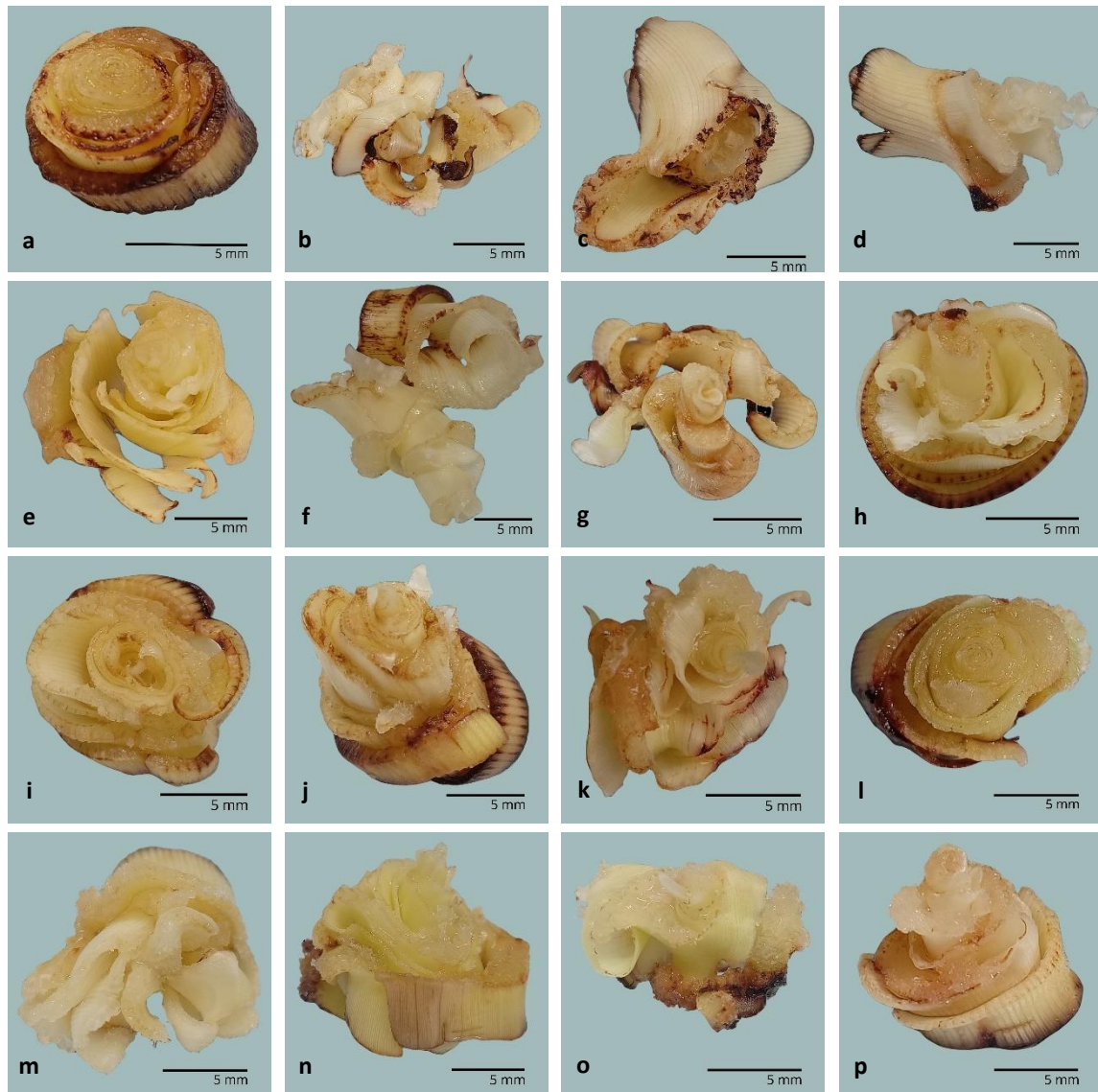
**Tabel 3.** Morfologi tekstur dan warna kalus tebu

| ZPT (ppm) |     | Tekstur | Warna dan kode<br>( <i>Munsell Color Chart</i> ) |
|-----------|-----|---------|--------------------------------------------------|
| Pik       | Kin |         |                                                  |
| 0         | 0   | Kompak  | Kuning - 2.5Y 7/6                                |
|           | 0,5 | Remah   | Kuning kemerahan - 10YR 7/4                      |
|           | 1   | Kompak  | Kuning - 2.5Y 7/4                                |
|           | 1,5 | Kompak  | Kuning kemerahan - 10YR 7/4                      |
| 2         | 0   | Kompak  | Kuning - 2.5Y 8/4                                |
|           | 0,5 | Kompak  | Kuning - 2.5Y 8/2                                |
|           | 1   | Remah   | Kuning - 2.5Y 8/4                                |
|           | 1,5 | Kompak  | Kuning - 2.5Y 8/4                                |
| 4         | 0   | Kompak  | Kuning - 2.5Y 8/4                                |
|           | 0,5 | Kompak  | Kuning - 2.5Y 8/4                                |
|           | 1   | Kompak  | Kuning kemerahan - 10YR 7/6                      |
|           | 1,5 | Kompak  | Kuning - 2.5Y 7/4                                |
| 6         | 0   | Remah   | Kuning - 2.5Y 8/2                                |
|           | 0,5 | Kompak  | Kuning - 2.5Y 8/4                                |
|           | 1   | Kompak  | Kuning - 2.5Y 8/4                                |
|           | 1,5 | Kompak  | Kuning kemerahan - 10YR 8/2                      |



### Morfologi Kalus

Hasil pengamatan kalus gulungan daun tebu yang dikultur pada media dengan penambahan ZPT pikloram dan kinetin, disajikan pada Gambar 2. Berdasarkan hasil pengamatan, hampir seluruh perlakuan kombinasi ZPT pikloram dan kinetin menghasilkan kalus dengan tekstur kompak, hanya perlakuan 0 ppm pikloram + 0,5 ppm kinetin, 2 ppm pikloram + 1 ppm kinetin, dan 6 ppm pikloram + 0 ppm kinetin yang menghasilkan kalus remah. Tekstur kalus dapat digunakan sebagai indikator dalam menilai kualitasnya dan memastikan bahwa sel-sel tersebut masih dalam kondisi aktif membelah.



**Gambar 2.** Morfologi kalus gulungan daun tebu varietas Bululawang (a) P<sub>0</sub>K<sub>0</sub>; (b) P<sub>0</sub>K<sub>0,5</sub>; (c) P<sub>0</sub>K<sub>1</sub>; (d) P<sub>0</sub>K<sub>1,5</sub>; (e) P<sub>2</sub>K<sub>0</sub>; (f) P<sub>2</sub>K<sub>0,5</sub>; (g) P<sub>2</sub>K<sub>1</sub>; (h) P<sub>2</sub>K<sub>1,5</sub>; (i) P<sub>4</sub>K<sub>0</sub>; (j) P<sub>4</sub>K<sub>0,5</sub>; (k) P<sub>4</sub>K<sub>1</sub>; (l) P<sub>4</sub>K<sub>1,5</sub>; (m) P<sub>6</sub>K<sub>0</sub>; (n) P<sub>6</sub>K<sub>0,5</sub>; (o) P<sub>6</sub>K<sub>1</sub>; (p) P<sub>6</sub>K<sub>1,5</sub>.

Kalus dengan struktur yang kompak memiliki kemungkinan lebih besar untuk dikembangkan dan ditumbuhkan menjadi tanaman utuh (*planlet*) secara langsung (Nadeak *et al.*, 2012; Girsang *et al.*, 2023). Kalus kompak memiliki tekstur keras dan padat dengan susunan sel-sel kecil yang rapat, sedangkan tekstur kalus remah bersifat lunak karena sel-selnya longgar dan berjarak (Ulva *et al.*, 2019). Menurut

Mahadi *et al.* (2016), terbentuknya tekstur kalus kompak berkaitan dengan proses lignifikasi, yaitu penebalan pada dinding kalus yang dipicu oleh aktivitas sitokinin dalam distribusi zat hara. Hormon auksin berperan dalam pelonggaran serat dinding sel, sehingga dinding sel menjadi lebih elastis (Ulva *et al.*, 2019). Nutrisi yang terdapat pada media akan berdifusi ke dalam sel dan bertahan hingga tekanan osmotik dan potensial air seimbang hingga sel menjadi turgid. Ketika sel dalam kondisi turgid, penambahan sitokinin akan merangsang pembelahan sel, sehingga mengakibatkan pembentukan dinding sel berlangsung lebih cepat dan kalus menjadi kompak. Kalus dengan tekstur kompak merupakan kalus yang baik digunakan sebagai penghasil metabolit sekunder, karena mengandung lebih banyak metabolit sekunder 1,9-2,4 kali dibandingkan dengan kalus remah (Daulay *et al.*, 2025). Sedangkan kalus yang mempunyai tekstur remah memiliki keunggulan, yaitu dapat digunakan untuk kultur suspensi sel dalam proses peningkatan massa sel (Negoro *et al.*, 2024).

Pengamatan warna kalus didasarkan pada aplikasi *Munsell Color Chart*, dimana masing-masing perlakuan menghasilkan warna kalus yang berbeda. Warna kalus yang dihasilkan pada penelitian ini terdiri dari kuning dan kuning kemerahan. Eksplan yang telah membentuk kalus akan mengalami beberapa perubahan warna, kalus berwarna putih terlihat setelah diinkubasi beberapa hari dan kemudian berubah menjadi warna putih kekuningan. Warna putih pada kalus disebabkan karena adanya kandungan plastid, tetapi tidak terdapat kandungan kloroplas (Rosyidah & Habibah, 2023).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa penambahan kombinasi ZPT pikloram dan kinetin pada media kultur eksplan gulungan daun tebu tidak berpengaruh signifikan terhadap waktu muncul kalus, tetapi memberikan pengaruh nyata dalam meningkatkan persentase eksplan yang berhasil membentuk kalus dibandingkan dengan perlakuan kontrol tanpa penambahan ZPT. Rata-rata persentase kalus mencapai 86,72% dan waktu rata-rata pembentukan kalus 6,79 hari setelah tanam. Data berat basah dan berat kering tertinggi kalus tebu diperoleh pada kombinasi 4 ppm pikloram + 1 ppm kinetin dengan berat basah 0,4412 g dan berat kering kalus yaitu 0,0650 g. Morfologi kalus yang dihasilkan didominasi tekstur kompak berwarna kuning hingga kuning kemerahan.

## REKOMENDASI

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat mengevaluasi kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan dari kalus tebu dengan menggunakan analisis kuantitatif, seperti uji kromatografi atau spektrofotometri. Selain itu, perlu dilakukan penelitian guna memperluas jenis eksplan yang digunakan, seperti akar atau batang muda untuk membandingkan respons terhadap kombinasi ZPT pikloram-kinetin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed Khan, I., Umar Dahot, M., Seema, N., Sajida, B., & Khatri, A. (2008). Genetic Variability in Plantlets Derived from Callus Culture in Sugarcane. *Pakistan Journal of Botany*, 40(2), 547–564. <https://www.researchgate.net/publication/253767370>
- Anggraito, Y. U., Widiarti, T., & Susanti, R. (2023). *Buku Ajar Biologi Molekuler*. Departemen Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Aulia, S. N., & Habibah, N. A. (2024). Callus Induction from Stem Explants of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) with the Addition of Picloram and BAP.

- Journal of Biology and Applied Biology*, 7(1), 13–22. <https://doi.org/10.21580/ah.v7i1.17799>
- Azu, E., Elegba, W., Asare, A. T., Asare, K. K., Akama, C. K., Asare, P. M., Annor, C., Azure, S., & Danso, K. E. (2022). Efficient Callus-mediated System for Commercial Production of Sugarcane (*Saccharum* spp.) Planting Material in Ghana. *African Journal of Biotechnology*, 21(5), 208–217. <https://doi.org/10.5897/ajb2021.17440>
- Cambaz, E., & Çördük, N. (2023). Secondary Metabolite Production in Callus Culture of *Verbascum scamandri* Murb. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 92(1). <https://doi.org/10.5586/asbp/165894>
- Daulay, M. R., Rosmaina, Shofiah, R., & Nabila, N. W. (2025). Induksi Kalus Gambir varietas Cubadak (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan Pemberian 2,4-D dan Kinetin secara In Vitro. *Seminar Nasional Integrasi Pertanian Dan Peternakan*, 3(1), 211–221. <https://semnasfpp.uin-suska.ac.id/index.php/snipp>
- Fehér, A. (2015). Somatic Embryogenesis - Stress-induced Remodeling of Plant Cell Fate. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1849(4), 385–402. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.005>
- Fraga, H. P. F., Vieira, L. N., Caprestano, C. A., Steinmacher, D. A., Micke, G. A., Spudeit, D. A., Pescador, R., & Guerra, M. P. (2012). 5-Azacytidine Combined with 2,4-D Improves Somatic Embryogenesis of *Acacia sellowiana* (O. Berg) Burret by Means of Changes in Global DNA Methylation Levels. *Plant Cell Reports*, 31(12), 2165–2176. <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1327-8>
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, 25(9), 3159–3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
- Indah, P. N., & Ermavitalini, D. (2013). Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*, 2(1).
- Iwase, A., Kondo, Y., Laohavisit, A., Takebayashi, A., Ikeuchi, M., Matsuoka, K., Asahina, M., Mitsuda, N., Shirasu, K., Fukuda, H., & Sugimoto, K. (2021). WIND Transcription Factors Orchestrate Wound-induced Callus Formation, Vascular Reconnection and Defense Response in Arabidopsis. *New Phytologist*, 232(2), 734–752. <https://doi.org/10.1111/nph.17594>
- Jacqmad, A., Houssa, C., & Bernier, G. (2019). Regulation of the Cell Cycle By Cytokinins. In *Cytokinins* (pp. 197–216). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351071284-15>
- Kadapi, M., Sunarso, C., Salsabila Erizon, M., Dhiya Maharani, N., Saukina Hakim, M., & Hamidah Az Zahra, I. (2024). Teknologi Kultur In Vitro untuk Meningkatkan Produksi Metabolit Sekunder pada Berbagai Tanaman Obat. *Jurnal Agrosains Dan Teknologi*, 9(1), 18–29.
- Lin, W., Zhou, X., Tang, W., Takahashi, K., Pan, X., Dai, J., Ren, H., Zhu, X., Pan, S., Zheng, H., Gray, W. M., Xu, T., Kinoshita, T., & Yang, Z. (2021). TMK-based Cell-surface Auxin Signalling Activates Cell-wall Acidification. *Nature*, 599(7884), 278–282. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03976-4>
- Merthaningsih, N. P., Yuswanti, H., & Astiningsih, A. M. (2018). Induksi Kalus pada Kultur Pollen Phalaenopsis dengan Menggunakan Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat. In *AGROTROP* (Vol. 8, Issue 1).
- Negoro, R. Y., Susiyanti, S., Isminingsih, S., & Millah, Z. (2024). Inisiasi Kalus Embriogenik Manggis (*Garcinia mangostana* L.) var. Macakal Terhadap

- Pemberian 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid dan 6-Benzyl Amino Purine Secara In Vitro. *Spizaetus: Jurnal Biologi Dan Pendidikan Biologi*, 5(1), 121. <https://doi.org/10.55241/spibio.v5i1.351>
- Passamani, L. Z., Reis, R. S., Vale, E. M., Sousa, K. R., Aragão, V. P. M., Santa-Catarina, C., & Silveira, V. (2020). Long-term Culture with 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Affects Embryogenic Competence in Sugarcane Callus via Changes in Starch, Polyamine and Protein Profiles. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 140(2), 415–429. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01737-w>
- Pereira, P. A., Sousa, F. V., & Becker, J. D. (2012). Decision-making in The Plant Cell Cycle. *Canal BQ*, 9, 48–62.
- Rahman, N., Fitriani, H., Rahman, N., & Hartati, N. S. (2021). Pengaruh Beragam Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Induksi Kalus Organogenik Dari Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Genotipe Gajah dan Kuning. *Jurnal Ilmu Dasar*, 22(2), 119–126.
- Ranade, R., Patil, D. Y., & Joshi, N. (2023). *Comparative Secondary Metabolite Expression in Callus Cultures and Mother Plant in Barleria prionitis L.* <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2794569/v1>
- Rosyidah, M. C., & Habibah, N. A. (2023). Pengaruh Cahaya serta Kombinasi NAA dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Cabai Merah varietas Lotanbar. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, 157–163.
- Ruswaningsih, F. (2007). *Pengaruh Konsentrasi Ammonium Nitrat dan BAP terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk Artemisia annua L pada Kultur In Vitro*. Universitas Sebelas Maret.
- Saleem, Y., Emad, M. Z., Ali, A., & Naz, S. (2022). Synergetic Effect of Different Plant Growth Regulators on Micropropagation of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) by Callogenesis. *Agriculture (Switzerland)*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/agriculture12111812>
- Sarah, Nurcahyani, E., Handayani, T. T., & Mahfut. (2023). Response to Bean Sprout Extract *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek in Murashige and Skoog Medium Against the Growth of Mustard Green Explant Brassica rapa var. parachinensis L. In Vitro. *BIOMA : Jurnal Biologi Makassar*, 8(2), 88–95. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Sardar, K. S., Sadaf, T. Q., Imtiaz, A. K., & Saboohi, R. (2016). Establishment of in Vitro Callus in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Varieties Influenced by Different Auxins. *African Journal of Biotechnology*, 15(29), 1541–1550. <https://doi.org/10.5897/ajb2015.14836>
- Satria, M. T., Neliyati, & Jasminarni. (2019). Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (Dichlorophenoxyacetid-Acid) dan Kinetin terhadap Induksi Kalus dari Eksplan Daun Kayu Manis (*Cinnamomun burmanii*). *Jurnal Agroecotenia*, 2(1), 39–51.
- Sengar, K., Sengar, R. S., & Garg, S. K. (2011). The effect of in-vitro environmental conditions on some sugarcane varieties for micropropagation. *African Journal of Biotechnology*, 10(75), 17122–17126. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2195>
- Setiawati, T., Ayalla, A., & Witri, A. (2019). Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). *Jurnal EduMatSains*, 3(2), 119–132.
- Singh, A., Lal, U. R., Mukhtar, H. M., Singh, P. S., Shah, G., & Dhawan, R. K. (2015). Phytochemical Profile of Sugarcane and its Potential Health Aspects. *Pharmacognosy Reviews*, 9(17), 45–54. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.156340>



- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5th Edition). Sinauer Associates Inc.
- Ulva, M., Nurchayati, Y., Prihastanti, E., & Setiari, N. (2019). Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Varietas Permata F1 dari Jenis Eksplan dan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda secara In Vitro. *Life Science*, 8(2), 160–169. <https://doi.org/https://doi.org/10.15294/lifesci.v8i2.37103>
- Wahyuni, A., Satria, B., & Zainal, A. (2020). Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara In Vitro. *Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), 39. <https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>
- Wang, L., & Ruan, Y. L. (2013). Regulation of Cell Division and Expansion by Sugar and Auxin Signaling. *Frontiers in Plant Science*, 4(5). <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00163>
- Wibawa, I. P. A. H., Andila, P. S., Lugrayasa, I. N., & Sujarwo, W. (2021). Studi Potensi Tanaman Tebu Ireng (*Saccharum officinarum* L.) sebagai Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 20(1). <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v20i1.3924>
- Widiastoety, D. (2014). Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Mokara. *J. Hort*, 24(3), 230–238.
- Wijawati, N., Habibah, A., Musafa, F., Mukhtar, K., Anggraito, Y. U., & Widiatningrum, T. (2019). Pertumbuhan Kalus Rejasa (*Elaeocarpus grandiflorus*) dari Eksplan Tangkai Daun pada Kondisi Gelap. *Life Science*, 8(1), 17–24. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/LifeSci>
- Yuan, Z., Dong, F., Pang, Z., Fallah, N., Zhou, Y., Li, Z., & Hu, C. (2022). Integrated Metabolomics and Transcriptome Analyses Unveil Pathways Involved in Sugar Content and Rind Color of Two Sugarcane Varieties. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.921536>