

Induksi Pembentukan Kalus pada Eksplan Daun Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara *In vitro*

(*In vitro* Induction of Callus Formation from Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Leaf Explants)

Yustiny Andaliza Hasibuan^{1*}, Vella Nurazizah Djalil²

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan PMIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Riau, Kampus Binawidya, Jalan HR. Soebrantas KM. 12,5, Kelurahan Simpang Baru, Pekanbaru, Riau, 28293.

²Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, dan Kebumihan, Universitas Negeri Manado, Kampus UNIMA Tondano, Minahasa, Sulawesi Utara 95618.

*e-mail: yustiny.andaliza@lecturer.unri.ac.id

Diterima: 12 Mei 2026, Diperbaiki: 25 Juni 2026, Disetujui: 27 Juni 2026

Abstract. Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is generally propagated conventionally through stem cuttings or seeds; however, both methods have limitations in producing large quantities of uniform plantlets. *In vitro* culture is an alternative method for more efficient sugarcane propagation. This study aimed to induce callus formation from sugarcane leaf explants on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with vitamins and 3 ppm 2,4-D. The explants, consisting of young leaf sheaths, were gradually sterilized using Dithane M-45, 10% Bayclin, and 96% alcohol, then cultured on MS medium and observed for five weeks. The observations showed that during the first week, some explants experienced tissue necrosis or did not show any response, while in the second week, some explants exhibited browning and contamination by fungi and bacteria. Other explants showed positive responses, with callus continuously developing until fully formed during the third to fifth weeks. The addition of vitamins and 2,4-D to the MS medium played an important role in inducing callus formation in sugarcane leaf explants.

Keywords: 2,4-D, callus induction, *in vitro* culture, MS medium, sugarcane (*Saccharum officinarum* L.).

Abstrak. Tebu (*Saccharum officinarum* L.) umumnya diperbanyak secara konvensional melalui stek atau biji, tetapi kedua cara tersebut memiliki keterbatasan dalam menghasilkan bibit dalam jumlah besar dan seragam. Kultur *in vitro* merupakan alternatif perbanyakan tebu yang lebih efisien. Penelitian ini bertujuan menginduksi pembentukan kalus dari eksplan daun tebu pada medium Murashige & Skoog (MS) yang ditambah vitamin dan 2,4-D 3 ppm. Eksplan berupa pelepah daun muda disterilisasi bertahap menggunakan dithane M-45, bayclin 10%, dan alkohol 96%, kemudian ditanam pada medium MS dan diamati selama lima minggu. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada minggu pertama sebagian eksplan mengalami kematian jaringan atau belum menunjukkan respons, sedangkan pada minggu kedua sebagian eksplan mengalami browning dan kontaminasi oleh jamur maupun bakteri. Eksplan lain menunjukkan respons positif berupa kalus yang terus berkembang hingga terbentuk sempurna pada minggu ketiga sampai kelima. Penambahan vitamin dan 2,4-D pada medium MS berperan penting dalam menginduksi pembentukan kalus pada eksplan daun tebu.

Kata kunci: 2,4-D; induksi kalus; kultur *in vitro*; medium MS; tebu (*Saccharum officinarum* L.).

PENDAHULUAN

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan salah satu jenis tanaman tropis yang biasa diperbanyak melalui stek atau biji. Perbanyakan tebu melalui stek dan biji masih memiliki kendala; teknik perbanyakan melalui stek menghasilkan jumlah tanaman yang relatif sedikit serta membutuhkan banyak pohon induk, sedangkan perbanyakan dengan biji

dalam jumlah besar akan menyebabkan ketersediaan biji menjadi berkurang. Oleh karena itu, teknik propagasi secara *in vitro* dapat dilakukan sebagai alternatif untuk mengatasi permasalahan tersebut (Lal, 2021; Khanum, 2024).

Teknik propagasi secara *in vitro* memiliki banyak manfaat, yaitu dapat menghasilkan tanaman dalam waktu

singkat, menggunakan bahan yang sedikit, meningkatkan produksi, menghasilkan tanaman bebas virus, serta mendapatkan sifat unggul baru melalui persilangan. Pendekatan bioteknologi seperti kultur *in vitro* hingga kini masih menjadi salah satu strategi utama dalam perbaikan dan perbanyak tanaman tebu secara cepat dan seragam (Batool et al., 2025). Berbagai teknik *in vitro* telah dikembangkan untuk tebu, mulai dari pembentukan benih sintetik dari kalus embriogenik (Dewanti et al., 2021) hingga optimasi kultur cair untuk mempercepat proliferasi sel embriogenik (Aisyah et al., 2022). Bagian-bagian tanaman tebu terdiri atas akar, batang, daun, dan bunga, dengan daun sebagai bagian yang paling sering digunakan dalam propagasi secara *in vitro*.

Daun tebu (*Saccharum officinarum* L.) termasuk daun tidak lengkap karena tidak memiliki tangkai daun, tetapi tersusun atas pelepah dan helaian daun yang tumbuh pada buku batang dengan kedudukan berseling. Pelepah daun paling dalam (tengah) merupakan bagian termuda yang memeluk batang dan menjadi bagian yang paling baik digunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan karena masih bersifat meristematik serta memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi (Srilakshmi et al., 2022). Jaringan muda pada pelepah daun memiliki aktivitas pembelahan sel yang lebih tinggi sehingga lebih responsif terhadap pemberian zat pengatur tumbuh dan proses induksi kalus. Bagian pelepah daun muda yang dipotong kemudian ditanam pada media kultur yang sesuai untuk merangsang pembentukan kalus pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) (Maruprolu et al., 2022; Saleem et al., 2022).

Kalus merupakan kumpulan sel yang bersifat amorf dan terbentuk akibat proses dediferensiasi sel atau jaringan tanaman yang mengalami perubahan menjadi massa sel yang tidak terorganisasi serta mengalami pembelahan secara aktif sebagai respons terhadap pemberian zat pengatur tumbuh. Pembentukan kalus umumnya dipengaruhi oleh keseimbangan hormon

endogen maupun eksogen, terutama interaksi antara auksin dan sitokinin yang berperan dalam mengatur proses pembelahan dan diferensiasi sel (Inderiati et al., 2021). Proses induksi kalus juga sering diawali oleh adanya luka pada jaringan eksplan yang memicu aktivitas metabolisme dan pembentukan jaringan baru dalam kondisi kultur *in vitro*. Kalus yang terbentuk memiliki kemampuan untuk mengalami diferensiasi lebih lanjut menjadi organ tanaman seperti akar, tunas, maupun embrio somatik yang selanjutnya dapat berkembang menjadi planlet (Wu et al., 2024). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menginduksi pembentukan kalus pada eksplan daun tebu (*Saccharum officinarum* L.) sebagai tahap awal dalam perbanyak tanaman melalui teknik kultur jaringan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan teknik kultur jaringan secara *in vitro*. Eksplan yang digunakan berupa pelepah daun muda tebu (*Saccharum officinarum* L.) yang memiliki jaringan meristematik dengan kemampuan regenerasi tinggi (Srilakshmi et al., 2022). Eksplan disterilisasi secara bertahap menggunakan fungisida Dithane M-45, larutan Bayclin 10%, dan alkohol 96% untuk mengurangi risiko kontaminasi selama proses kultur. Eksplan steril kemudian ditanam pada medium Murashige and Skoog (MS) yang diperkaya dengan vitamin dan zat pengatur tumbuh 2,4-D pada konsentrasi 0 (kontrol) dan 3 ppm untuk menginduksi pembentukan kalus. Kultur dipelihara pada kondisi aseptik dan diamati selama lima minggu terhadap perubahan morfologi eksplan, meliputi respon pertumbuhan, pencoklatan (browning), kontaminasi, dan perkembangan kalus. Penggunaan auksin sintetik seperti 2,4-D pada media kultur diketahui berperan penting dalam merangsang dediferensiasi sel dan pembentukan kalus pada tanaman tebu (Maruprolu et al., 2022; Saleem et al.,

2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan induksi kalus pada tanaman tebu, pengamatan hari ke-0 menunjukkan bahwa



a



b

Gambar 1. Pengamatan hari ke-0 eksplan tebu 2,4-D (0 ppm) (a) dan eksplan tebu 2,4-D (3 ppm) (b).

Memasuki minggu pertama (hari ke-7) (Gambar 2), mulai terlihat adanya perbedaan respons antarperlakuan. Eksplan pada media tanpa penambahan 2,4-D (0 ppm) belum memperlihatkan indikasi terbentuknya kalus. Sementara itu pada sampel penambahan 2,4-D mulai menunjukkan gejala awal pembentukan kalus yang berperan dalam menginisiasi dediferensiasi sel dan pembentukan kalus pada eksplan daun tebu. Eksplan yang belum memberikan respons diduga masih berada pada tahap adaptasi terhadap lingkungan kultur, atau dapat pula

eksplan daun tebu yang ditanam pada media MS belum mengalami perubahan morfologi, baik pada perlakuan kontrol maupun pada media dengan penambahan 2,4-D sebesar 3 ppm (Gambar 1).

dipengaruhi oleh kondisi eksplan seperti kualitas bahan tanaman dan proses pemotongan. Perbedaan respons tersebut menunjukkan bahwa keberhasilan induksi kalus pada tebu sangat dipengaruhi oleh kesesuaian antara konsentrasi zat pengatur tumbuh dan kondisi kultur yang digunakan, termasuk faktor lingkungan seperti pencahayaan (Phamontree et al., 2022). Variasi keberhasilan antar eksplan juga telah dilaporkan pada kultur *in vitro* tebu, yang dipengaruhi oleh kondisi fisiologis jaringan serta ketepatan tahapan sterilisasi selama proses kultur (Inderiati et al., 2021).



a



b

Gambar 2. Pengamatan hari ke-7 eksplan tebu 2,4-D (0 ppm) belum menunjukkan respon (a) dan eksplan tebu 2,4-D (3 ppm) mulai menunjukkan respon pembentukan kalus (b).

Pada minggu kedua (hari ke-14) pengamatan (Gambar 3), eksplan pada perlakuan 0 ppm mulai mengalami perubahan warna menjadi coklat (*browning*). *Browning* terjadi akibat adanya aktivitas enzim yang menyebabkan oksidasi senyawa fenolik pada jaringan eksplan. Permasalahan *browning* dan kontaminasi merupakan salah satu hambatan yang sering dijumpai pada teknik kultur jaringan, sehingga diperlukan metode sterilisasi dan pengelolaan eksplan yang lebih efektif untuk meningkatkan keberhasilan kultur (Permadi et al., 2023, 2024). Berbeda dengan perlakuan kontrol, eksplan pada media dengan tambahan 2,4-D 3 ppm tetap menunjukkan perkembangan positif melalui pembentukan kalus.

Browning memberikan pengaruh yang signifikan terhadap keberhasilan induksi kalus karena proses oksidasi

senyawa fenolik dapat menyebabkan kerusakan sel, menurunkan viabilitas jaringan, serta menghambat aktivitas pembelahan sel yang diperlukan dalam pembentukan kalus. Pada penelitian ini, eksplan yang mengalami *browning* menunjukkan respons pertumbuhan yang lebih lambat atau tidak mampu membentuk kalus secara optimal, sedangkan eksplan dengan tingkat *browning* yang rendah pada media MS yang mengandung 2,4-D 3 ppm masih mampu mengalami dediferensiasi dan membentuk kalus. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tingkat *browning* berkorelasi negatif dengan keberhasilan induksi kalus, sehingga pengendalian oksidasi fenolik melalui sterilisasi yang tepat, penanganan eksplan secara hati-hati, dan optimasi kondisi kultur menjadi faktor penting untuk meningkatkan persentase keberhasilan pembentukan kalus.



a



b

Gambar 3. Pengamatan hari ke-14 eksplan tebu 2,4-D (0 ppm) mengalami *browning* (a) dan eksplan tebu 2,4-D (3 ppm) mulai membentuk kalus (b).

Pada minggu ketiga hingga minggu kelima (Gambar 4), eksplan yang diberi perlakuan 2,4-D (3 ppm) telah mengalami perkembangan kalus secara lebih lanjut hingga sebagian besar permukaan eksplan tertutupi oleh massa kalus. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh, terutama auksin sintesis 2,4-D, berperan dalam memicu proses dediferensiasi sel sehingga jaringan tanaman mampu membentuk kalus. Auksin eksogen seperti 2,4-D diketahui dapat meningkatkan aktivitas pembelahan sel dan

mempertahankan kondisi sel tetap meristematik selama tahap induksi kalus (Anggraeni et al., 2022). Selain zat pengatur tumbuh, komponen nutrisi dalam media kultur seperti vitamin juga berperan dalam mendukung aktivitas metabolisme dan pertumbuhan jaringan selama proses kultur *in vitro* (Wu et al., 2024). Penggunaan kombinasi komponen media yang sesuai dengan konsentrasi auksin yang tepat telah dilaporkan mampu meningkatkan keberhasilan pembentukan kalus pada berbagai tanaman, termasuk

tebu dan tanaman lainnya (Dewanti & Alfian, 2023; Wulannanda et al., 2023).

Sedangkan eksplan kontrol tidak menunjukkan perubahan apapun.



Gambar 4. Kalus yang telah terbentuk pada minggu ke-3, minggu ke-4, dan minggu ke-5 pada eksplan tebu eksplan tebu 2,4-D (3 ppm).

Karakteristik morfologi dan perkembangan kalus menjadi indikator penting dalam menentukan kualitas jaringan hasil induksi serta kemampuan regenerasinya. Oleh karena itu, pengamatan visual terhadap perubahan eksplan menjadi salah satu tahap penting dalam mengevaluasi keberhasilan pembentukan kalus pada tebu. Selain penggunaan 2,4-D, pemanfaatan jenis auksin sintesis lain seperti pikloram juga diketahui efektif dalam menginduksi kalus embriogenik pada tanaman lain, termasuk ubi kayu, dengan menghasilkan karakteristik kalus tertentu pada konsentrasi yang sesuai (Yelli et al., 2023). Optimalisasi komposisi media kultur, termasuk pengaturan sumber nitrogen dan kombinasi zat pengatur tumbuh, juga berperan dalam meningkatkan efisiensi regenerasi tanaman tebu melalui teknik kultur *in vitro* (Wu et al., 2024). Kalus yang berhasil terbentuk selanjutnya memiliki peluang untuk mengalami diferensiasi dan berkembang menjadi tanaman baru yang utuh.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan induksi kalus pada tanaman tebu, dapat disimpulkan bahwa penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D berpengaruh terhadap keberhasilan pembentukan kalus. Eksplan daun tebu pada media MS tanpa penambahan 2,4-D (kontrol) tidak menunjukkan perkembangan kalus yang optimal dan mengalami browning serta kontaminasi pada tahap pengamatan

berikutnya. Sebaliknya, eksplan yang diberi perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 3 ppm mampu menunjukkan respons berupa pembentukan kalus sejak minggu pertama hingga berkembang secara menyeluruh pada minggu ketiga sampai kelima.

Pemberian 2,4-D berperan dalam merangsang proses dediferensiasi sel sehingga jaringan eksplan mampu membentuk massa kalus. Keberhasilan induksi kalus juga dipengaruhi oleh kondisi fisiologis eksplan, komposisi media kultur, serta faktor pendukung seperti sterilisasi dan kondisi lingkungan selama proses kultur. Dengan demikian, penggunaan media MS yang ditambahkan 2,4-D 3 ppm menunjukkan potensi yang lebih baik untuk induksi kalus tebu dibandingkan media tanpa zat pengatur tumbuh. Kalus yang terbentuk selanjutnya berpeluang digunakan dalam tahap regenerasi untuk menghasilkan tanaman tebu baru melalui teknik kultur *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, N. N., Widuri, L. I., Alfian, F. N., & Dewanti, P. (2022). The effect of pH and sucrose on the embryogenic cells growth of sugar cane (*Saccharum officinarum*) in liquid culture. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(1), 1-12. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3897>
- Anggraeni, D., Ismaini, L., Surya, M. I., Rahmi, H., & Saputro, N. W. (2022). Inisiasi kalus daun *Talinum*

- triangulare* (Jacq.) Willd. pada beberapa kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dan benzyl adenine. *Jurnal Agrikultura*, 33(3), 276–288. <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v33i3.40540>
- Batool, T., Ali, R. W., Nawaz, M., et al. (2025). Biotechnological techniques for sugarcane crop improvement, applications and challenges. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 28, 167–176. <https://doi.org/10.1007/s12892-025-00276-5>
- Dewanti, P., & Alfian, F. N. (2023). Induksi kalus tebu (*Saccharum officinarum* L.) melalui kombinasi zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin pada kultur in vitro. *Jurnal Ilmu Dasar*, 24(1), 45–54.
- Dewanti, P., Widuri, L. I., Okviandari, P., Maulidiya, A. U. K., Alfian, F. N., & Sugiharto, B. (2021). Development of synthetic seeds derived from coleoptile of sugarcane (*Saccharum officinarum*) through somatic embryogenesis. *International Journal of Agriculture and Biology*, 26(3), 377–383.
- Inderiati, S., Yanti, F., & Mentari, E. R. (2021). Induksi kalus morfogenik dan regenerasi tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara in vitro. *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 5(1), 61–67. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v5i1.380>
- Khanum, P. (2024). Optimization of sugarcane varieties for in vitro regeneration and multiplication through tissue culture: Micropropagation of sugarcane. *Plant Bulletin*, 3(1), 77–87. <https://doi.org/10.55627/pbulletin.03.01.0444>
- Lal, N. (2021). Micropropagated plants as alternative planting material to sugarcane setts. *Indian Journal of Biology*, 8(1), 27–30.
- Maruprolu, S., Geetha, S., Gnanam, R., Viswanathan, R., Binodh, A. K., & Sudagar, R. (2022). Optimization of protocol for callus induction and whole plant regeneration for developing somaclonal variants in sugarcane cv. COC 671. *Electronic Journal of Plant Breeding*, 13(2), 388–398. <https://doi.org/10.37992/2022.1302.058>
- Permadi, N., Nurzaman, M., Alhasnawi, A. N., Doni, F., & Julaeha, E. (2023). Managing lethal browning and microbial contamination in *Musa* spp. tissue culture: Synthesis and perspectives. *Horticulturae*, 9(4), 453. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9040453>
- Permadi, N., Akbari, S. I., Prismantoro, D., Indriyani, N. N., Nurzaman, M., Alhasnawi, A. N., Doni, F., & Julaeha, E. (2024). Traditional and next-generation methods for browning control in plant tissue culture: Current insights and future directions. *Current Plant Biology*, 38, 100339. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100339>
- Phamontree, S., Taratima, W., Songsri, P., & Jongrunklang, N. (2022). Development of a highly efficient callus induction and regeneration protocol for sugarcane using apical meristem. *Asian Journal of Plant Science*, 21, 78–87. <https://doi.org/10.3923/ajps.2022.78.87>
- 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*, 12(11), 1812.

- <https://doi.org/10.3390/agriculture12111812>
- Srilakshmi, M., Geetha, S., Gnanam, R., Viswanathan, R., Ashish, B., & Sudagar, R. (2022). An efficient protocol optimization for callus induction, regeneration and acclimatization in sugarcane cv. CO 94012. *The Pharma Innovation Journal*, 11(4), 989–996. <https://doi.org/10.22271/tpi.2022.v11.i4n.11969>
- Wu, Y., Mehdi, F., Cao, Z., Gan, Y., Jiang, S., Zan, L., Zhang, S., & Yang, B. (2024). Optimizing sugarcane clonal propagation in vitro by using calcium ammonium nitrate and ammonium sulfate. *Plants*, 13(19), 2767. <https://doi.org/10.3390/plants13192767>
- Wulannanda, D., Lestari, D., & Suharsono, S. (2023). Pengaruh kombinasi 2,4-D dan sitokinin terhadap induksi kalus tanaman pisang secara in vitro. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 10(1), 88–97.
- 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*, 51(1), 2–13. <https://doi.org/10.15835/nbha51113039>