

Induksi Kalus Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan Ciplukan (*Physalis angulata*) pada Rasio IAA dan BAP Berbeda Secara *in vitro*

(*In vitro* Callus Induction of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) and Golden Berry (*Physalis angulata*) on Different Ratio of IAA and BAP)

Saefur Rohman^{1*}, Nathasya Yusvie Pribadi²

^{1,2} Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian,
Universitas Pembangunan Nasional “Veteran”
Jawa Timur, Jl. Rungkut Madya, Gununganyar,
Surabaya, email:
saefurrohman.agro@upnjatim.ac.id,
20025010181@student.upnjatim.ac.id

AGRISINTECH
Journal of Agribusiness and Agrotechnology

Vol. 7, No. 1 (2026)

*penulis korespondensi

ABSTRACT

Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) and ground cherry (*Physalis angulata*) are underutilized medicinal plants rich in bioactive compounds. Optimization of callus induction as a basis for secondary metabolite production and cell multiplication needs to be further studied to support its utilization. The combination of auxin and cytokinin PGRs at the right concentration and ratio plays an important role in the initiation and development of callus *in vitro*. This study aims to test the ratio and concentration of auxin indole-3-acetic acid (IAA) and cytokinin 6-benzylaminopurine (BAP) on the induction and development of callus of roselle and ground cherry. The study was designed using a single-factor experimental design, namely the ratio-concentration of auxin-cytokinin: (Z1) IAA 0.5 ppm + BAP 2.0 ppm; (Z2) IAA 1.0 ppm + BAP 1.5 ppm; (Z3) IAA 1.5 ppm + BAP 1.0 ppm; and (Z4) IAA 2.0 ppm + BAP 0.5 ppm. Roselle and ground cherry leaf explants were cultured on MS + ZPT media according to the treatment until 6 weeks after initiation (MSI). The parameters observed included: callus emergence time, percentage of explants with callus (3, 6 MSI), and callus color and texture. Data were analyzed parametrically through ANOVA + BNJ test; or non-parametrically through Kruskal-Wallis test + Dunn test; at the 5% level. The results showed that the combination of IAA + BAP at all ratios successfully produced callus. In roselle, cytokinin dominance tended to produce the fastest callus and the highest callus percentage. In ground cherry, callus induction tended to be produced at a balanced auxin-cytokinin ratio. Callus color was dominated by whitish green, yellowish, and brownish; with a crumbly callus texture for roselle callus and compact for ground cherry callus. These results confirm the auxin-cytokinin synergy and its interaction with endogenous hormones in the induction of roselle and ground cherry callus.

Keywords: BAP, callus induction, groundcherry, IAA, roselle

ABSTRAK

Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan ciplukan (*Physalis angulata*) merupakan tanaman obat yang belum dimanfaatkan dan kaya akan senyawa bioaktif. Optimasi induksi kalus sebagai basis produksi metabolit sekunder dan perbanyakan sel perlu diteliti lebih dalam untuk menunjang pemanfaatannya. Kombinasi ZPT auksin dan sitokinin pada konsentrasi dan rasio yang tepat berperan penting dalam inisiasi dan perkembangan kalus secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji rasio dan konsentrasi auksin *indole-3-acetic acid* (IAA) dan sitokinin 6-*benzylaminopurine* (BAP) terhadap induksi dan perkembangan kalus rosella dan ciplukan. Penelitian dirancang dengan menggunakan rancangan percobaan satu faktor yaitu rasio-konsentrasi auksin-sitokinin: (Z1) IAA 0,5 ppm + BAP 2,0 ppm; (Z2) IAA 1,0 ppm + BAP 1,5 ppm; (Z3) IAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm; dan (Z4) IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm. Eksplan daun rosella dan daun ciplukan dikultur pada media MS + ZPT sesuai perlakuan hingga 6 minggu

Rohman, et al. 2026

Induksi Kalus Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan Ciplukan (*Physalis angulata*) pada Rasio IAA dan BAP Berbeda Secara *in vitro*

setelah inisiasi (MSI). Parameter yang diamati meliputi: waktu muncul kalus, persentase eksplan berkalus (3, 6 MSI), dan warna dan tekstur kalus. Data dianalisis secara parametrik melalui ANOVA + uji BNJ; atau secara non-parametrik melalui uji Kruskal-Wallis + uji Dunn; pada taraf 5%. Hasil menunjukkan kombinasi IAA + BAP pada semua rasio berhasil memunculkan kalus. Pada rosella, dominansi sitokinin cenderung memunculkan kalus tercepat dan persentase kalus tertinggi. Pada ciplukan, induksi kalus cenderung dihasilkan pada rasio auksin-sitokinin berimbang. Warna kalus didominasi warna hijau keputihan, kekuningan, dan kecoklatan; dengan tekstur kalus remah untuk kalus rosella dan kompak untuk kalus ciplukan. Hasil ini menegaskan sinergi auksin-sitokinin dan interaksinya dengan hormon endogen dalam induksi kalus rosella dan ciplukan.

Kata kunci: BAP, ciplukan, IAA, induksi kalus, rosella

PENDAHULUAN

Rosella dan ciplukan merupakan dua tanaman biofarmaka yang belum dimanfaatkan dengan potensi medis penting. Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) tergolong herba semusim (*annual*) atau dua tahunan (*biennial*), berbatang tegak, serta memiliki adaptasi terhadap berbagai kondisi iklim. Rosella diyakini berasal dari India dan Asia Tenggara dan telah didomestikasi sejak 6000 tahun yang lalu (Kellou *et.al*, 2024). Rosella memiliki kandungan senyawa seperti antosianin, asam organik, beta karoten, dan vitamin C; serta manfaat medis sebagai antioksidan, antiperadangan, antikanker, dll (Singh *et.al*, 2017). Sementara itu, ciplukan (*Physalis angulata*) merupakan herba semusim, berasal dari wilayah tropis Amerika, dan tersebar luas di berbagai kondisi iklim di dunia (kosmopolitan). Potensi biofarmaka ciplukan diakibatkan kandungan senyawa bioaktif diantaranya flavonoid, alkaloid, dan berbagai vitamin (A, B1, dan C) yang memberikan manfaat medis seperti antioksidan, antimikroba, antivirus, dan antikanker (Anh *et.al*, 2021; Ayodhyareddy dan Rupa, 2015).

Teknik kultur *in vitro* merupakan aspek penting pada riset dan pengembangan tanaman biofarmaka. Sistem *in vitro* dinilai sebagai alternatif produksi metabolit sekunder tanaman yang lebih efisien dibanding budidaya

konvensional. Produksi senyawa tersebut seringkali diiringi dengan pemberian elisitor sebagai stress abiotik artifisial pada kultur tanaman sehingga dihasilkan metabolit dengan kuantitas dan konsentrasi yang lebih tinggi. Selain itu, teknik ini juga berperan penting dalam konservasi melalui perbanyakan tanaman secara efektif dan efisien pada media dan lingkungan terkontrol (Efferth, 2019).

Pada konteks ini, induksi kalus merupakan tahap awal pertama yang perlu dicapai. Kalus merupakan massa sel meristematik yang belum terdiferensiasi yang muncul akibat perlukaan (Bano *et.al*, 2022). Pada kultur *in vitro*, induksi kalus disertai penggunaan hormon terutama auksin dan sitokinin yang umumnya dicapai pada rasio berimbang (Bano *et.al*, 2022; Efferth, 2019). Akan tetapi, optimasi perlu dilakukan pada berbagai jenis senyawa auksin, sitokinin, spesies tanaman, maupun jenis eksplan yang berbeda (Gaspar *et.al*, 1996; Li, 2024).

Kultur *in vitro* pada rosella dan ciplukan telah dilaporkan pada beberapa publikasi. Mahadi *et.al* (2014) berhasil menginduksi kalus rosella melalui kombinasi NAA 3 ppm + BAP 1,5 ppm. Senada, kalus rosella dihasilkan Safitri *et.al* (2017) pada kombinasi NAA 4-5 ppm + BAP 1,5 ppm. Sementara itu, induksi kalus ciplukan dihasilkan oleh Mastuti *et.al* (2020) pada kombinasi

sitokinin BAP 1 ppm + auksin NAA/2,4-D 1, 2, dan 4 ppm.

Temuan tersebut menegaskan respon positif eksplan rosella dan ciplukan terhadap formulasi ZPT auksin + sitokinin pada induksi kalus. Akan tetapi, optimasi formulasi ZPT perlu dikaji terus guna memperoleh formulasi yang paling tepat, terutama pada jenis ZPT dan rasio yang berbeda. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi auksin IAA dan sitokinin BAP pada rasio yang berbeda terhadap induksi kalus rosella dan ciplukan secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Tempat, Bahan dan Alat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, UPN “Veteran” Jawa Timur. Iklim mikro ruang inkubasi yaitu suhu 22 - 27 °C, kelembaban 60%, dan cahaya 2.500 lux LED putih. Bahan utama yang digunakan yaitu sampel daun rosella, daun ciplukan, stok media MS, stok ZPT (IAA dan BAP), akuades, dan agar-agar *plain*. Bahan lain yang digunakan yaitu bahan sterilan dan disinfektan (klorox, etanol 70%, povidone-iodine), bakterisida, dan fungisida. Sedangkan alat yang digunakan yaitu *laminar air flow*, alat diseksi (*scalpel blade*, pinset), cawan petri, spiritus burner, dan kertas label.

Media MS + ZPT dibuat sesuai prosedur. Stok hara makro, mikro, besi, vitamin, dan ZPT (IAA, BAP) dicampur sesuai takaran. Selanjutnya, pH media diatur di kisaran 5,6-5,8; dan ditambahkan gula (30% b/v) dan agar-agar (0,8% b/v) ke dalam media. Campuran media kemudian dipanaskan dan dihomogenkan, lalu 30 mL media didistribusikan ke botol kultur bervolume 250 mL. Sterilisasi media dilakukan menggunakan autoklaf pada

suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Desain Percobaan

Percobaan didesain sebagai dua percobaan faktor tunggal, masing-masing untuk eksplan daun rosella dan eksplan daun ciplukan. Faktor percobaan yaitu rasio dan konsentrasi ZPT yang ditetapkan ke dalam empat kombinasi yaitu: (Z1) IAA 0,5 ppm + BAP 2,0 ppm (1:4), (Z2) IAA 1,0 ppm + BAP 1,5 ppm (2:3), (Z3) IAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm (3:2), dan (Z4) IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm (4:1). Setiap faktor diulang 3 kali dengan total 12 satuan perlakuan yang terdiri dari 3 botol kultur berisikan 3 eksplan sehingga diperoleh total 36 botol dan 108 eksplan untuk masing-masing kultur rosella dan ciplukan.

Preparasi dan Pemeliharaan Eksplan

Preparasi eksplan dimulai dengan mencuci daun menggunakan air mengalir dan sabun selama 10 menit, lalu direndam di dalam campuran bakterisida dan fungisida (2 g/L) selama 30 menit, dan dibilas menggunakan akuades steril. Selanjutnya dilakukan sterilisasi kimiawi bertahap menggunakan klorox 15% (10 menit), klorox 10% (15 menit), dan alkohol 70% (1 menit), disertai pembilasan dengan aquades steril 3x pada setiap transisi. Eksplan lalu dipotong (ukuran 0,5x0,5 cm), direndam betadine, dan ditanam di media kultur kalus. Posisi penanaman yaitu tulang daun diletakkan menghadap ke atas, dan ditekan menggunakan pinset hingga menempel sempurna. Selanjutnya botol kultur ditutup dengan *plastic wrap* dan diinkubasi selama 6 minggu.

Parameter Percobaan dan Analisis Data

Parameter yang diamati berupa persentase eksplan berkalus,

Tabel 1. Pengaruh kombinasi ZPT IAA dan BAP pada berbagai rasio terhadap waktu muncul kalus (MSI) dan persentase eksplan berkalus (3 dan 6 MSI) pada eksplan daun rosella.

Kombinasi ZPT	Rasio ZPT	Waktu Muncul Kalus	Persentase Eksplan Berkalus (%)	
			3 MSI	6 MSI
IAA 0,5 ppm + BAP 2,0 ppm	1 : 4	1 ± 0.5 a	66,7 ± 16,7ab	66,7 ± 0a
IAA 1,0 ppm + BAP 1,5 ppm	2 : 3	2 ± 0 ab	100 ± 0a	100,0 ± 0a
IAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm	3 : 2	4 ± 0 ab	0 ± 0b	66,7 ± 16,7a
IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm	4 : 1	4 ± 0 b	0 ± 0b	66,7 ± 16,7a

Keterangan: Data waktu muncul kalus dan persentase eksplan berkalus disajikan sebagai median ± IQR; huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji Dunn (koreksi Holm) pada taraf 5%.

waktu muncul kalus, serta warna dan tekstur kalus. Persentase eksplan berkalus diamati pada 3 dan 6 minggu setelah inisiasi (MSI). Waktu muncul kalus dihitung sebagai waktu yang dibutuhkan (MSI) hingga munculnya kalus. Warna dan tekstur kalus diamati secara deskriptif di akhir percobaan.

Data numerik dianalisis statistik secara parametrik menggunakan uji ANOVA + uji BNJ. Apabila data tidak memenuhi asumsi normalitas dan homoskedastisitas, maka dianalisis secara non-parametrik menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Dunn. Semua uji dilakukan pada taraf signifikansi 5% menggunakan *software* R Studio (versi 2026.04.6). Sementara itu, warna dan tekstur kalus dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada eksplan rosella, kombinasi ZPT pada berbagai rasio berbeda menunjukkan pengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus dan persentase eksplan berkalus (Tabel 1). Waktu muncul kalus tercepat (1 ± 0,5 MSI) diperoleh pada kombinasi ZPT IAA 0,5 ppm + BAP 2,0 ppm (1 : 4), yang berbeda nyata dengan kombinasi IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm (4 : 1). Sementara itu, persentase eksplan

tertinggi konsisten cenderung diperoleh pada kombinasi ZPT IAA 1,0 ppm + BAP 1,5 ppm (2 : 3) pada 3 dan 6 MSI. Hanya saja, pada 6 MSI kombinasi tersebut tidak berbeda nyata dengan semua kombinasi ZPT lain. Secara ringkas, hasil menunjukkan bahwa semua kombinasi ZPT mampu menghasilkan kalus, akan tetapi kombinasi ZPT dengan dominansi sitokinin cenderung menghasilkan kalus yang lebih cepat dan lebih tinggi persentasenya dibandingkan kombinasi ZPT dengan dominansi auksin. Pola ini mengindikasikan kecenderungan dominansi sitokinin terhadap auksin pada induksi kalus rosella.

Pada eksplan ciplukan, kombinasi ZPT pada berbagai rasio cenderung tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus dan persentase eksplan berkalus (Tabel 2). Akan tetapi, kombinasi ZPT dengan dominansi sitokinin (IAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm (3 : 2), IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm (4 : 1)) cenderung memunculkan kalus lebih cepat (1,67 MSI), namun dengan persentase eksplan berkalus lebih rendah dibandingkan kombinasi ZPT dengan dominansi auksin. Pola ini menunjukkan kecenderungan dominansi auksin terhadap sitokinin pada induksi kalus ciplukan.

Tabel 2. Pengaruh kombinasi ZPT IAA dan BAP pada berbagai rasio terhadap waktu muncul kalus (MSI) dan persentase eksplan berkalus (3 dan 6 MSI) pada eksplan daun ciplukan.

Kombinasi ZPT	Rasio ZPT	Waktu Muncul Kalus	Persentase Eksplan Berkalus (%)	
			3 MSI	6 MSI
IAA 0,5 ppm + BAP 2,0 ppm	1 : 4	3,33 ± 0,6a	100 ± 31,2a	100 ± 28,9a
IAA 1,0 ppm + BAP 1,5 ppm	2 : 3	3,33 ± 0,6a	83,3 ± 28,9a	100 ± 25a
IAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm	3 : 2	1,67 ± 1,2a	83,3 ± 0,0a	100 ± 31,2a
IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm	4 : 1	1,67 ± 1,2a	75 ± 31,2a	79,2 ± 36,1a

Keterangan: Data waktu muncul kalus dan persentase eksplan berkalus pada 6 MSI disajikan sebagai mean ± SD; data persentase eksplan berkalus pada 3 MSI disajikan sebagai median ± IQR; huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata berdasarkan uji BNJ atau uji Dunn (koreksi Holm), keduanya pada taraf 5%.

Hasil di atas menegaskan sinergi auksin-sitokinin pada morfogenesis eksplan pada kultur *in vitro* tanaman. Perbedaan respons antar eksplan dapat dijelaskan melalui konsep rasio auksin-sitokinin, di mana keseimbangan auksin dan sitokinin berperan penting dalam mengatur arah dan kecepatan respons morfogenesis jaringan tanaman (Bano *et.al*, 2022). Umumnya, rasio auksin-sitokinin berimbang cenderung mengarah pada induksi kalus, sedangkan rasio auksin tinggi mengarah pada pembentukan akar, dan rasio sitokinin tinggi mengarah pada pembentukan tunas. Namun, respons aktual dapat berbeda tergantung jenis dan konsentrasi ZPT, spesies atau varietas tanaman, macam eksplan yang digunakan, serta kandungan ZPT endogen yang terdapat di dalam jaringan eksplan (Asghar *et.al*, 2022; Assidiqi *et.al*, 2018).

Pada eksplan rosella, dominansi sitokinin diduga lebih efektif dalam merangsang pembelahan sel awal (*cell division*), sehingga mempercepat munculnya kalus. Hal ini mengindikasikan bahwa jaringan rosella kemungkinan telah memiliki kadar auksin endogen yang cukup, sehingga penambahan sitokinin menjadi faktor pembatas utama dalam mempercepat dediferensiasi. Jaringan tanaman

memiliki kandungan hormon endogen (auksin, sitokinin) yang berbeda-beda. Sehingga morfogenesis eksplan dipengaruhi oleh interaksi hormon eksogen yang diberikan hormon endogen pada jaringan tersebut (Widiastoety, 2014). Senada, dengan Chai *et.al* (2024) bahwa induksi kalus pada eksplan akar vanili (*Vanilla planifolia*) lebih efektif pada dominansi sitokinin berupa kombinasi ZPT sitokinin tanpa atau dikombinasikan dengan auksin dosis rendah.

Pada eksplan ciplukan, peningkatan auksin justru cenderung mempercepat munculnya kalus. Hal ini menunjukkan bahwa eksplan ciplukan kemungkinan memerlukan stimulus auksin eksternal yang lebih tinggi untuk menginisiasi dediferensiasi sel. Dengan kata lain, kadar auksin endogen pada eksplan ini diduga relatif rendah, sehingga respons terhadap penambahan auksin menjadi lebih dominan. Pada level seluler, auksin mendorong pembesaran sel, sementara sitokinin mendorong pada pembesaran dan morfogenesis sel (Karjadi dan Buchory, 2007). Pembentukan kalus (kallogenesis) sangat dipengaruhi oleh interaksi dimana umumnya kalus terbentuk pada rasio auksin-sitokinin berimbang (Ashgar *et.al*, 2022).

Tabel 3. Karakter kualitatif kalus (warna dan tekstur) pada eksplan daun rosella dan ciplukan.

Kombinasi ZPT	Rasio ZPT	Warna		Tekstur	
		Rosella	Ciplukan	Rosella	Ciplukan
IAA 0,5 ppm + BAP 2,0 ppm	1 : 4	Hijau keputihan	Hijau-kuning kecoklatan	Remah	Kompak
IAA 1,0 ppm + BAP 1,5 ppm	2 : 3	Putih kehijauan	Hijau-kuning kecoklatan	Remah	Kompak
IAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm	3 : 2	Putih kehijauan	Hijau kecoklatan	Remah	Kompak
IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm	4 : 1	Putih kehijauan	Hijau kecoklatan	Remah	Kompak

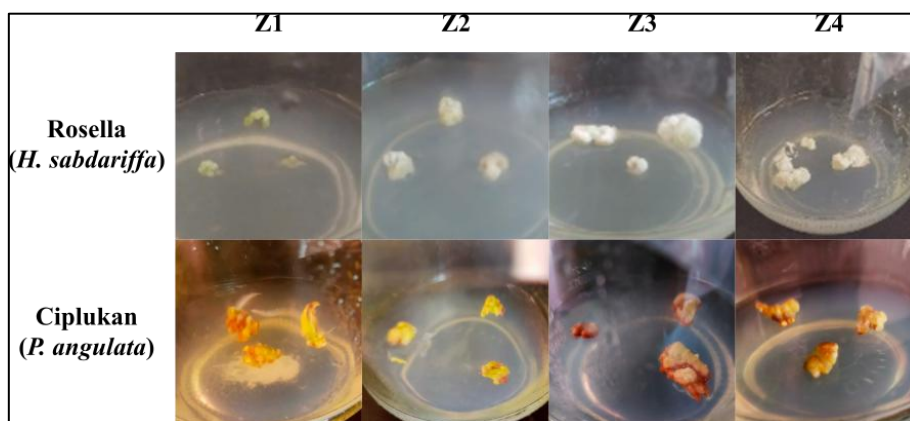
Hal ini didukung oleh Junairiah *et.al* (2018) bahwa pembentukan kalus cabai jawa (*Piper retrofractum*) terjadi lebih cepat pada rasio auksin-sitokinin berimbang pada berbagai tingkat konsentrasi (0,5-2 ppm).

Warna kalus rosella umumnya didominasi warna putih dengan variasi hijau keputihan dan putih kehijauan dengan tekstur remah di semua kombinasi ZPT (Gambar 1; Tabel 3). Karakter kualitatif kalus seperti warna dan tekstur merupakan indikator kondisi dan potensi regenerasi kalus (Mahadi, 2012). Waryastuti *et.al* (2017) mengungkapkan bahwa kalus embriogenik dapat memiliki warna putih hingga kekuningan, serta memiliki tekstur kompak ataupun remah. Induksi kalus embriogenik merupakan tahapan penting pada jalur somatik embriogenesis tidak langsung (*indirect somatic embryogenesis*) yang umumnya diikuti dengan tahapan induksi tunas dan akar melalui kombinasi ZPT berbeda (Long *et.al*, 2022).

Sementara itu, warna kalus ciplukan bervariasi antara warna hijau kecoklatan dan hijau-kuning kecoklatan dengan tekstur kompak di semua kombinasi ZPT. Warna coklat pada kalus mengindikasikan fenomena pencoklatan (*browning*) akibat akumulasi senyawa fenolik yang

teroksidasi oleh enzim polifenol oksidase menghasilkan senyawa toksik kuinon (Wu *et.al*, 2024). Kejadian *browning* merupakan hambatan utama dalam regenerasi tanaman secara *in vitro* karena dapat menghambat pertumbuhan kalus, regenerasi sel, hingga kematian pada eksplan (Waryastuti *et.al*, 2017). Banyak faktor yang mempengaruhi *browning* seperti komposisi nutrisi media, ZPT yang diberikan, maupun kondisi kultur. Sementara itu, strategi inhibisi *browning* umumnya dilakukan melalui pemberian antioksidan, adsorben, maupun inhibitor enzim penyebab *browning* (Liu *et.al*, 2024).

Induksi dan regenerasi kalus tanaman biofarmaka seperti rosella dan ciplukan merupakan tahapan penting dalam upaya perbanyak tanaman maupun produksi metabolit sekunder secara *in vitro*. Induksi kalus embriogenik merupakan tahap awal pada jalur somatik embriogenesis tidak langsung, dimana karakter kalus yang dikehendaki umumnya adalah kalus yang bersifat embrionik (Long *et.al*, 2022). Kemudian produksi berbagai metabolit sekunder penting tanaman umumnya dilakukan melalui kultur suspensi kalus dimana karakter kalus yang dikehendaki yaitu kalus yang remah dan non-embriogenik karena memudahkan operasional dan umumnya



Gambar 1. Kenampakan kalus rosella dan ciplukan pada berbagai kombinasi ZPT: IAA 0,5 ppm + BAP 2,0 ppm (Z1), IAA 1,0 ppm + BAP 1,5 ppm (Z2), IAA 1,5 ppm + BAP 1,0 ppm (Z3), dan IAA 2,0 ppm + BAP 0,5 ppm (Z4)

menghasilkan hasil (*yield*) metabolit yang lebih tinggi (Efferth, 2019).

KESIMPULAN

Kombinasi ZPT auksin IAA dan sitokinin BAP pada semua rasio berhasil menumbuhkan kalus. Pada eksplan rosella, dominansi sitokinin (IAA : BAP = 1 : 4, 2 : 3) cenderung menghasilkan kalus tercepat dan persentase tertinggi. Pada eksplan ciplukan, rasio auksin-sitokinin berimbang cenderung menghasilkan kalus tercepat dengan persentase tertinggi. Kalus rosella yang terbentuk terindikasi merupakan kalus embriogenik dengan karakter dominasi warna putih kehijauan serta bertekstur remah. Sementara itu, kalus ciplukan terindikasi mengalami *browning* dengan dominasi warna kecoklatan serta bertekstur kompak. Temuan tersebut menegaskan bahwa terdapat sebuah sinergi antara auksin dan sitokin, terutama pada rasio yang tepat dalam menginduksi kedua kalus rosella dan ciplukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anh, H. L. T., Ba, V. L., Do, T. T., Phan, V. K., Thi, H. Y. P., Bach, L. G., Tran, M. H., Thi, P. A. T., & Kim, Y. H. (2021). Bioactive compounds from *Physalis angulata* and their anti-inflammatory and cytotoxic activities. *Journal of Asian Natural Products Research*, 23(8), 809–817.
<https://doi.org/10.1080/10286020.2020.1825390>
- Asghar, S., Ghori, N., Hyat, F., Li, Y., & Chen, C. (2022). Use of auxin and cytokinin for somatic embryogenesis in plants: A story from competence towards completion. *Plant Growth Regulation*, 99(3), 413–428.
<https://doi.org/10.1007/s10725-022-00923-9>
- Assidiqi, A., Jumin, H. B., & Ernita. (2018). Pengaruh NAA dan BAP terhadap pertumbuhan ciplukan (*Physalis angulata* L.) secara in vitro. *Jurnal Dinamika Pertanian*, 34(3), 247–254.
- Ayodhyareddy, P., & Rupa, P. (2016). Ethnomedicinal, phytochemical, and therapeutic importance of *Physalis angulata* L.: A review. *International Journal of Science and Research*, 5(5), 2122–2127.
<https://doi.org/10.21275/NOV163891>
- Chai, L. C., Alderson, P. G., & Chin, C. F. (2024). Exogenous cytokinin

- induces callus and protocorm-like bodies (PLBs) formation in in vitro root tips of *Vanilla planifolia* Andrews. *Tropical Life Sciences Research*, 35(1), 235–258. <https://doi.org/10.21315/tlsr2024.35.1.13>
- Efferth, T. (2019). Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*, 5(1), 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006>
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., & Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. In *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 32(4), 272–289. <https://doi.org/10.1007/BF02822700>
- Junairiah, J., Sofiana, D. A., Manuhara, Y. S. W., & Surahmaida. (2018). Induksi kalus *Piper retrofractum* Vahl. dengan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin. *Journal Pharmasci*, 3(2), 41–46. <https://doi.org/10.53342/pharmasci.v3i2.116>
- Karjadi, A. K., & Buchory, A. (2008). Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan dan perkembangan jaringan meristem kentang kultivar granola. *Jurnal Hortikultura*, 18(4), 380–384. <https://doi.org/10.21082/jhort.v18n4.2008.p380-384>
- Kéllou, K. K. B., Abdourazak, M. A., Boukar, M. C. M., Saley, M. D., Sanoussi, A., & Yacoubou, B. (2024). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.): Overview of its biology, ecology, socio-economic importance, and cultivation constraints in West Africa. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 10(3), 47–56.
- Li, X. (2024). Optimization of crop tissue culture technology and its impact on biomolecular characteristics. *Molecular & Cellular Biomechanics*, 21(2), Article 285. <https://doi.org/10.62617/mcb.v21i2.285>
- Liu, C., Fan, H., Zhang, J., Wu, J., Zhou, M., Cao, F., Tao, G., & Zhou, X. (2024). Combating browning: Mechanisms and management strategies in *in vitro* culture of economic woody plants. *Forestry Research*, 4, Article e032. <https://doi.org/10.48130/forres-0024-0026>
- Long, Y., Yang, Y., Pan, G., & Shen, Y. (2022). New insights into tissue culture plant-regeneration mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 926752. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.926752>
- Mahadi, I. (2012). Induksi kalus kenerak (*Goniotalamus umbrosus*) berdasarkan jenis eksplan menggunakan metode *in vitro*. *Jurnal Agroteknologi Tropika*, 1(1), 18–22.
- 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. <https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84>
- Mahadi, I., Wulandari, S., & Omar, A. (2014). Pembentukan kalus tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa*) pada pemberian naftalen asetat (NAA) dan benzil aminopurin (BAP) sebagai sumber belajar konsep bioteknologi. *Jurnal Biogenesis*, 11(1), 1–6.
- Safitri, S. K., Siregar, L. A. M., & Lubis, K. (2017). Induksi kalus tanaman

- rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) pada jenis eksplan dan konsentrasi auksin yang berbeda. Jurnal Agroekoteknologi FP USU, 5(3), 593–598.
<https://doi.org/10.32734/ja.v5i3.222>
- Singh, P., Khan, M., & Hailemariam, H. (2017). Nutritional and health importance of *Hibiscus sabdariffa*: A review and indication for research needs. Journal of Nutrition, Health & Food Engineering, 6(5), 125–130.
<https://doi.org/10.15406/jnhfe.2017.06.00212>
- Waryastuti, D. E., Setyobudi, L., & Wardiyati, T. (2017). Pengaruh tingkat konsentrasi 2,4-D dan BAP pada media MS terhadap induksi kalus embriogenic temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Jurnal Produksi Tanaman, 5(1), 140–149.
- Widiastoety, D. (2014). Pengaruh auksin dan sitokinin terhadap pertumbuhan planlet anggrek Mokara. Jurnal Hortikultura, 24(3), 230–238.
<https://doi.org/10.21082/jhort.v24n3.2014.p230-238>
- Wu, K., Liu, Y., Xu, Y., Yu, Z., Cao, Q., Gong, H., Yang, Y., Ye, J., & Jia, X. (2024). Unveiling the molecular mechanisms of browning in *Camellia hainanica* callus through transcriptomic and metabolomic analysis. International Journal of Molecular Sciences, 25(20), Article 11021.
<https://doi.org/10.3390/ijms252011021>