



Ace
D.M.
Jember

PENGARUH HORMON BAP DAN 2,4-D TERHADAP PEMBENTUKAN
KALUS EMBRIONIK PADA TANAMAN HOYA (*Hoya carnosa*)

SKRIPSI

UNIVERSITAS

Oleh:

Ahmad Jaenuri

NIM 161510501218



PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS JEMBER

2023



**PENGARUH HORMON BAP DAN 2.4-D TERHADAP
PEMBENTUKAN KALUS EMBRIONIK PADA TANAMAN
HOYA (*Hoya carnosa*)**

SKRIPSI

Oleh:

Ahmad Jaenuri

NIM 161510501218

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS JEMBER

2023



**PENGARUH HORMON BAP DAN 2,4-D TERHADAP PEMBENTUKAN
KALUS EMBRIONIK PADA TANAMAN HOYA (*Hoya carnos*)**

Skripsi

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar sarjana Pertanian

Oleh:

Ahmad Jaenuri

161510501018

Dosen Pembimbing

Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D.

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2023**

PERSEMBAHAN

Dengan Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas nikmat, rahmad, dan karunianya, sehingga saya dapat menyelesaikan Skripsi ini. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua yang selama ini telah mendoakan dan memberikan dukungan, sehingga saya dapat menyelesaikan tugas akhir hingga mendapatkan gelar Sarjana Pertanian.
2. Segenap keluarga besar saya yang telah memberikan semangat untuk menyelesaikan Tugas Akhir.
3. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S.,Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang membimbing saya dengan sabar dan selalu memberikan nasehat serta motivasi untuk segera menyelesaikan skripsi hingga mendapat gelar Sarjana Pertanian;
4. Seluruh guru TK hingga SMA saya, segenap dosen, pegawai, dan karyawan Fakultas Pertanian Universitas Jember, khususnya di Program Studi Agroteknologi yang telah memberikan ilmu, pengalaman dan fasilitas selama saya menempuh Pendidikan S1.
5. Seluruh teman, dan sahabat saya yang telah menemani dan berbagi pengalaman dengan saya selama menempuh jenjang perkuliahan.
6. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Setiap persoalan mengajarkan kita untuk tetap berdiri teguh dan kuat dalam menyelesaikannya dan setiap permasalahan mengajarkan kita untuk tetap sabar dan berusaha mencari jalan keluarnya, hari tidak akan selamanya gelap, yakinlah akan ada cahaya yang menyinari tiap-tiap langkah kakimu dalam berjuang”

(Ahmad Jaenuri)

“Bila kau cemas dan gelisah akan sesuatu, masuklah ke dalamnya sebab ketakutan menghadapinya lebih mengganggu daripada sesuatu yang kau takuti sendiri”

(Ali bin Abi Thalib)

“Dan barangsiapa yang bertakwa kepada Allah niscaya Dia menjadikan kemudahan baginya dalam urusannya”

(QS. At-Thalaq:4)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ahmad Jaenuri

NIM : 161510501218

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi berjudul **“Pengaruh Hormon BAP dan 2.4-D Terhadap Pembentukan Kalus Embrionik Pada Tanaman Hoya (*Hoya Carnosa*)”** adalah benar-benar hasil karya tulis sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya tulis plagiasi. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 Juni 2023

Yang ,memyatakan



Ahmad Jaenuri
NIM. 161510501218

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pengaruh Hormon BAP dan 2.4-D Terhadap Pembentukan Kalus Embrionik Pada Tanaman Hoya (*Hoya Carnosa*)**” telah di uji dan disahkan pada :

Hari : Kamis
Tanggal : 30 Juni 2023
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Skripsi,

Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D.
NIP. 196504261994031001

Dosen Penguji Utama,

Dosen Penguji Anggota,

Prof. Dr. Ir. Sholeh Avivi, Msi.
NIP. 196907212000121002

M. Ubaidilah, S.Si., M. Agr., Ph.D
NIP. 198612112019031008

Mengesahkan,
Dekan

Prof. Dr. Ir. Soetriono, MP.
NIP. 196403041989021001

ABSTRACT

Effect of BAP and 2.4-D Hormones on Embryo Callus Formation in Hoya Plants (*Hoya Carnosa*); Ahmad Jaenuri; 2023; Program Study Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Jember.

Hoya is a tropical plant that is widespread in Indonesia. The spread of the hoyo plant is not directly proportional to its number in nature, so the hoyo plant is still quite rare to find and it is not uncommon for those who have just heard about this plant. Efforts to propagate in vitro is an effective way that can be done to increase the existing population of hoyo plants. Increasing the population of the hoyo plant is very important considering the many benefits of the hoyo plant which can be used as a medicinal and ornamental plant, so conservation efforts are needed to preserve this plant. The aim of this study was to obtain the best composition of BAP and 2,4-D hormone concentrations for hoyo plant propagation.

The research was conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory, Agronomy Study Program, Faculty of Agriculture, University of Jember. The study used a factorial Completely Randomized Design (CRD). The treatment consisted of concentrations of BAP (0.3, 0.4, 0.5 mg/L) and 2,4-D (5, 6, 7 mg/L). Each treatment was repeated in four replicates. So there are 36 trial combinations. Parameters observed included initial callus formation, percentage of explants that formed callus, callus weight, callus characteristics, and histology. The data obtained were analyzed using analysis of variance (ANOVA) on quantitative data, if there is a significant difference it is continued with the 95% level DMRT test. Analysis of qualitative data obtained based on research results was carried out using descriptive methods.

Based on the analysis of variance, it was shown that there was a very significant effect on the early parameter of callus formation on the 2.4-D hormone and the callus weight parameter on the BAP and 2.4-D hormones, respectively. The concentration of 2.4-D 7 mg/L was the best for the earliest parameters of callus formation, with the fastest response of 23.33 days. BAP concentrations of 0.4 mg/L and 2.4-D 5 mg/L were the best concentrations for the callus weight parameter, respectively, yielding 2.47 grams and 2.85 grams.

Keywords : BAP, 2.4-D, Embryonic Callus, *Hoya Casnosa*

RINGKASAN

Pengaruh Hormon BAP DAN 2.4-D Terhadap Pembentukan Kalus Embrionik Pada Tanaman Hoya (*Hoya carnosa*); Ahmad Jaenuri; 2023;
Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Hoya merupakan salah satu tanaman tropis yang banyak tersebar di wilayah Indonesia. Persebaran tanaman hoya tidak berbanding lurus dengan jumlahnya di alam, sehingga tanaman hoya masih cukup jarang dapat ditemui bahkan tidak jarang pula yang baru mendengar tanaman tersebut. Upaya perbanyak secara *in vitro* merupakan cara efektif yang dapat dilakukan untuk meningkatkan populasi dari tanaman hoya yang ada saat ini. Peningkatan populasi tanaman hoya sangat penting dilakukan mengingat banyaknya manfaat dari tanaman hoya yang dapat digunakan sebagai obat dan tanaman hias, sehingga upaya konservasi perlu dilakukan untuk dapat menjaga kelestarian tanaman tersebut. Tujuan dari penelitian ini yaitu memperoleh komposisi konsentrasi hormon BAP dan 2.4-D yang terbaik bagi perbanyak tanaman hoya.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Perlakuan terdiri dari konsentrasi BAP (0,3, 0,4, 0,5 mg/L) dan 2.4-D (5, 6, 7 mg/L). Setiap perlakuan diulang dalam empat ulangan. Sehingga terdapat 36 kombinasi percobaan. Parameter pengamatan yang dilakukan meliputi kedinian terbentuknya kalus, presentase eksplan yang membentuk kalus, berat kalus, karakteristik kalus, dan histologi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) pada data kuantitatif, jika terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 95%. Analisis data kualitatif yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian dilakukan menggunakan metode deskriptif.

Berdasarkan analisis sidik ragam menunjukkan terdapat pengaruh sangat nyata dengan parameter kedinian terbentuknya kalus pada hormon 2.4-D dan parameter berat kalus masing-masing pada hormon BAP dan 2.4-D. Konsentrasi 2.4-D 7 mg/L merupakan konsentrasi yang terbaik pada parameter kedinian terbentuknya kalus, yaitu dengan respon tercepat 23,33 hari. Konsentrasi BAP 0,4 mg/L dan 2.4-D 5 mg/L masing-masing merupakan konsentrasi yang terbaik pada parameter berat kalus, yaitu menghasilkan 2,47 gram dan 2,85 gram.

Kata Kunci : BAP, 2.4-D, Kalus Embrionik, *Hoya Carnosa*,

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan yang Maha Esa atas rahmat, hidayah dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Hormon BAP DAN 2.4-D Terhadap Pembentukan Kalus Embrionik Pada Tanaman Hoya (*Hoya carnos*)”** dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyelesaian penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dari berbagai pihak. Oleh Karena itu, penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas nikmat dan karunianya serta kesehatan sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi ini.
2. Kedua orang tua saya Ibu Cholfiyah dan Ayah saya Mulyadi yang telah memberikan motivasi dan berbagai kebutuhan untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Soetriono, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. Drs. Yagus Wijayanto, MA., Ph.D, selaku Koordinator Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
5. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang senantiasa membimbing dengan sabar dan memberikan nasehat serta motivasi untuk segera menyelesaikan skripsi hingga mendapat gelar Sarjana Pertanian.
6. Prof. Dr. Ir. Sholeh Avivi, Msi. selaku Dosen Penguji I dan M. Ubaidillah, S.Si., M.Agr., Ph.D selaku Dosen Penguji II dan Dosen Pembimbing Akademik (DPA) Ir. Bambang Kusmanadhi, M.Agr.Sc. Selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) yang telah memberikan nasehat, motivasi dan saran untuk menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman teman “LAB Kultur Jaringan Tanaman” Wildhan Armand, Norman Hardinata, Yanuar Ramadhan, Batiar Gumelar, Alda, Fiki Purnomo, Laila, Caraka, Fahrur, Candra, Pungky dan teman lab lainnya yang telah menemani,

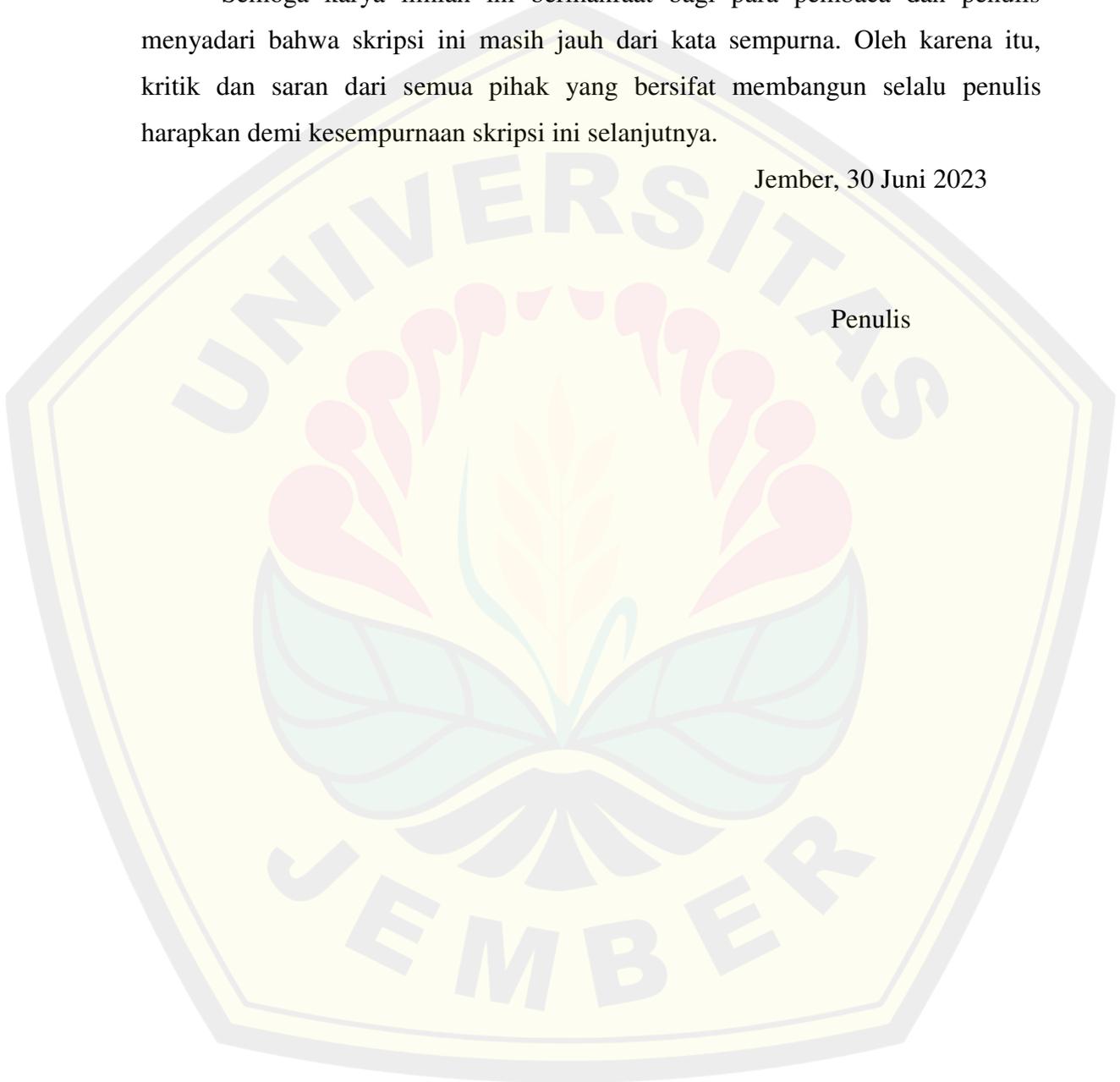
memberikan motivasi, bantuan, semangat serta saran demi terselesainya skripsi ini.

8. Teman-teman se DPA Ir. Bambang Kusmanadhi, M.Agr.Sc.
9. Teman-teman seperjuangan Agroteknologi 2016 UNEJ.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan semangat, dukungan, dan bantuan.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi para pembaca dan penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran dari semua pihak yang bersifat membangun selalu penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini selanjutnya.

Jember, 30 Juni 2023

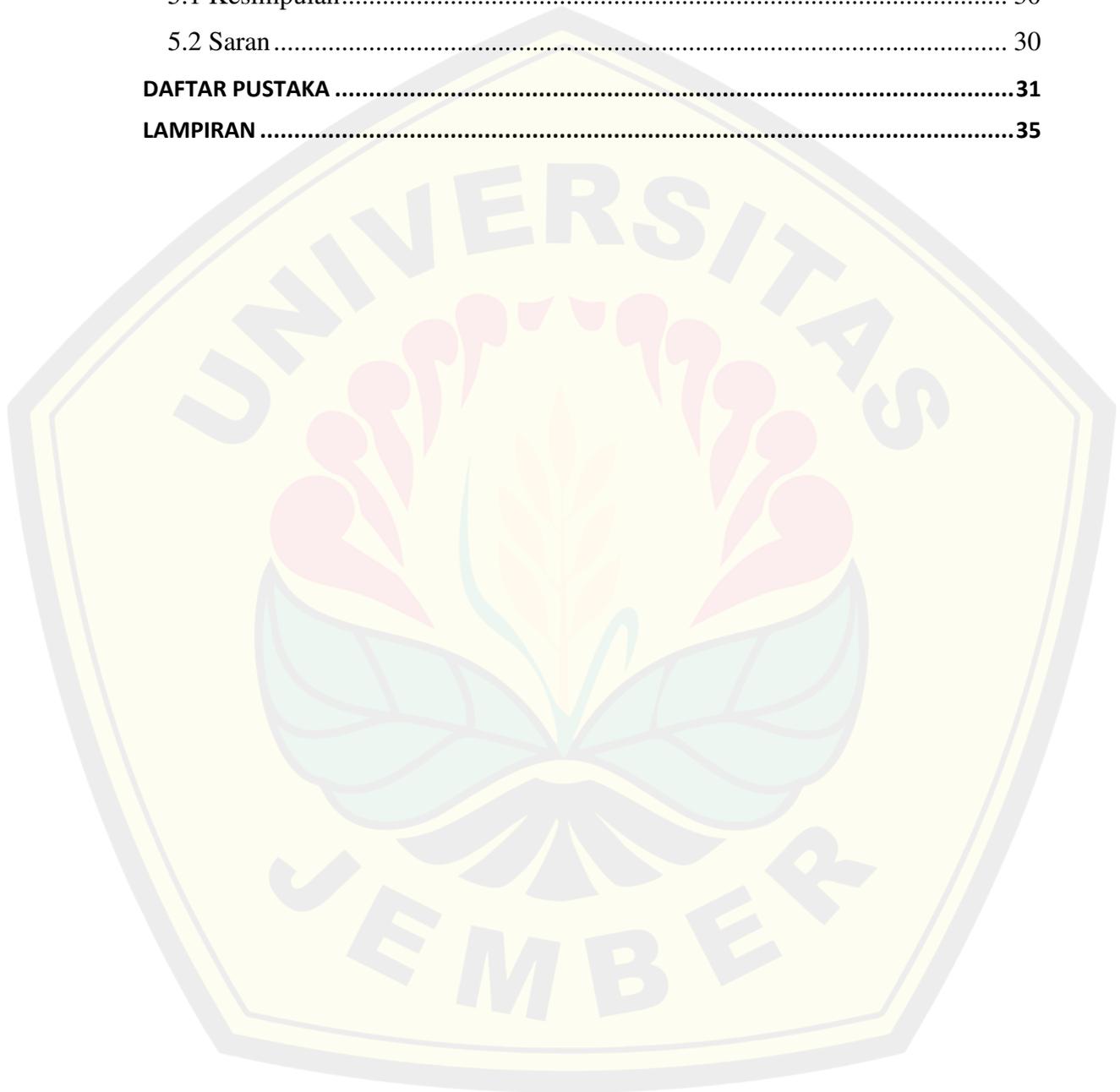
Penulis



DAFTAR ISI

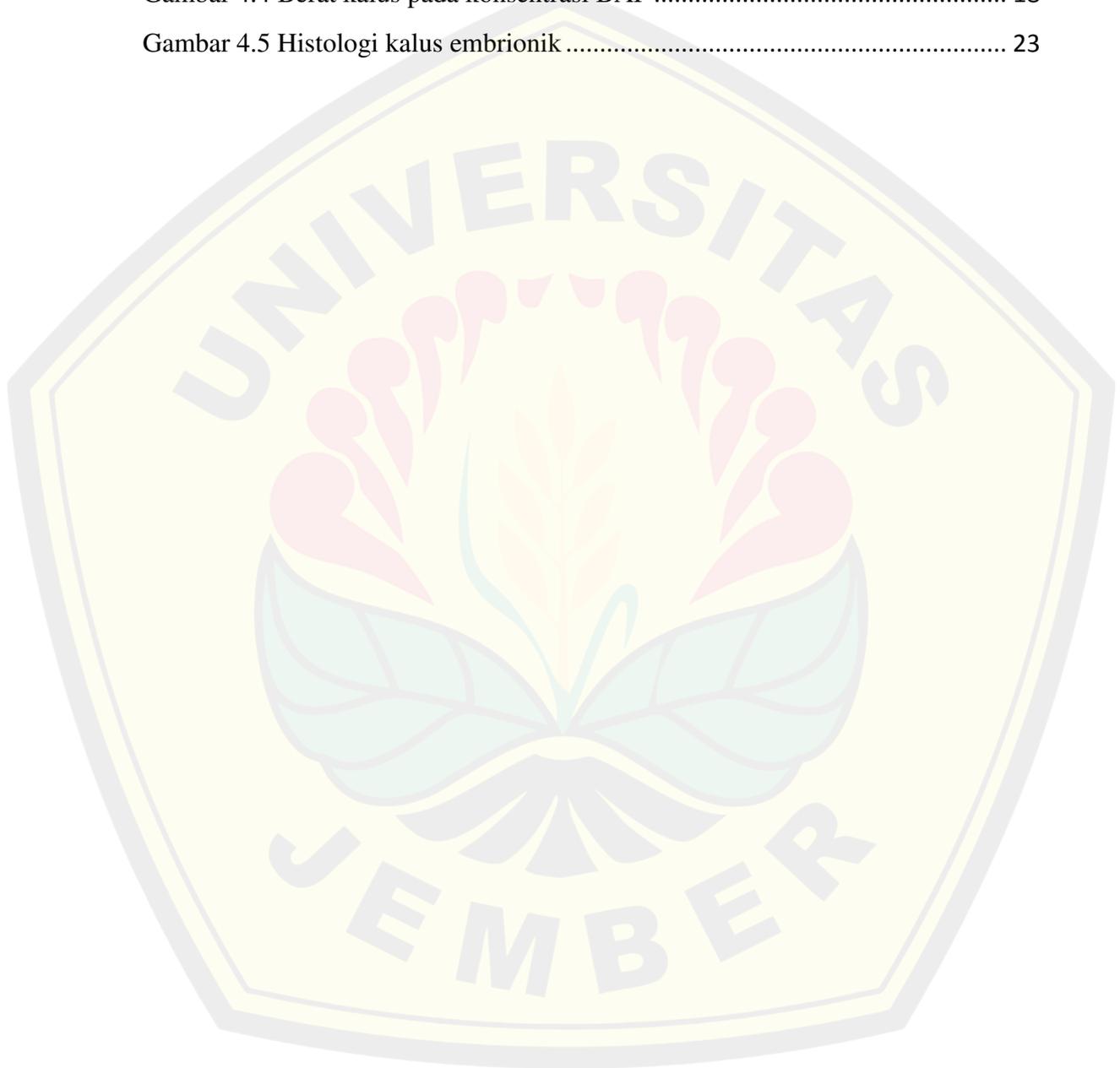
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
PENGESAHAN	vi
ABSTRACT	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
Halaman	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Hoya	5
2.2 Kultur Jaringan Tanaman	6
2.3 Media Tanam Kultur Jaringan.....	7
2.4 Induksi Somatik Embriogenesis Dalam Pembentukan Kalus	7
2.5 Efektivitas Hormon Auksin dan Sitokinin Dalam Pembentukan Kalus.....	8
2.6 Hipotesis	9
BAB 3. BAHAN DAN METODE	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Persiapan Penelitian	10
3.3 Pelaksanaan Penelitian	10
3.4 Prosedur Penelitian.....	12

3.5 Variabel Pengamatan.....	12
3.6 Analisis Data	13
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Hasil.....	14
4.2 Pembahasan	24
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Kesimpulan.....	30
5.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	35



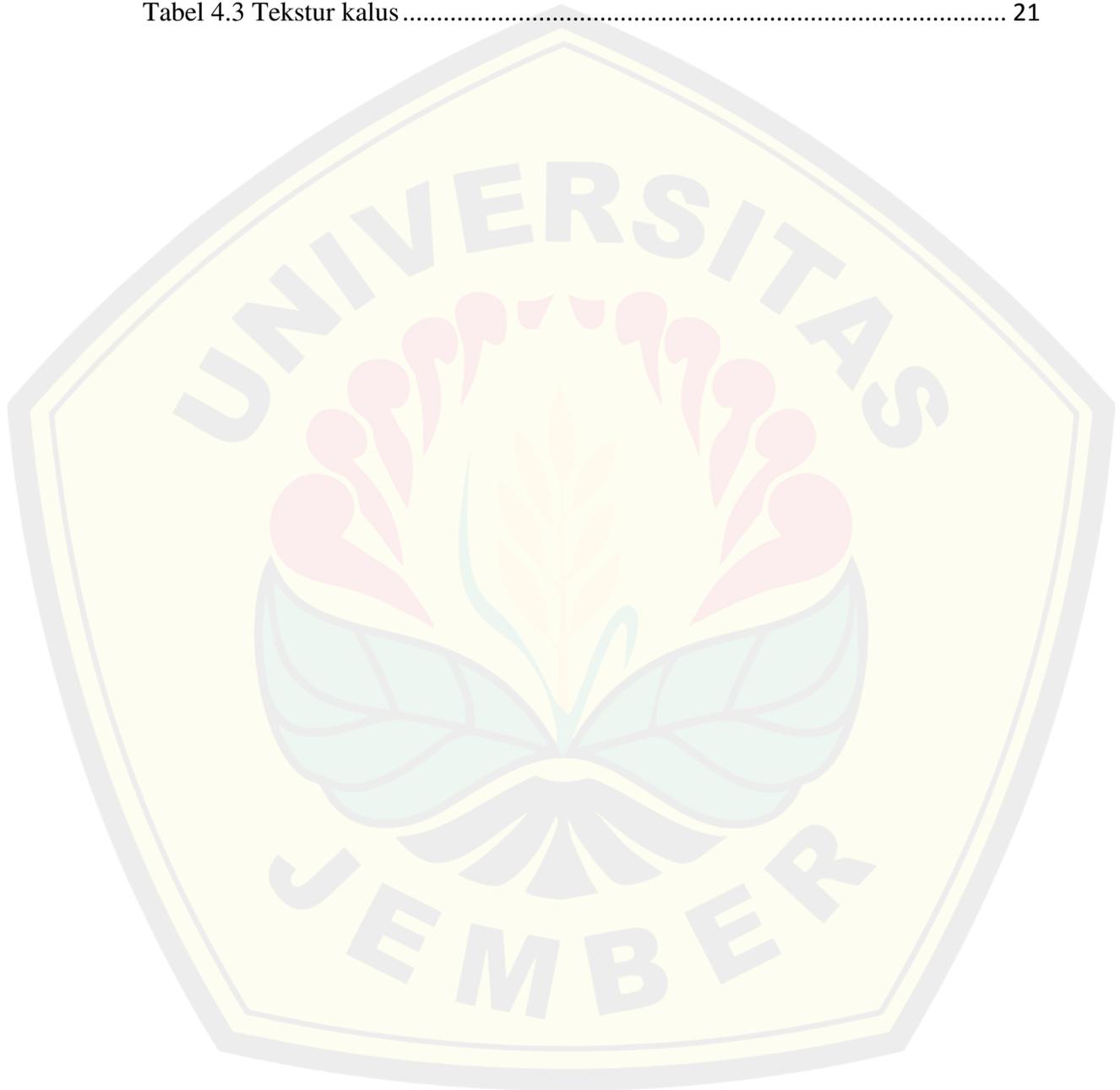
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Hoya	5
Gambar 4.1 Kedinian terbentuknya kalus pada konsentrasi BAP	15
Gambar 4.2 Eksplan yang membentuk kalus	16
Gambar 4.3 Berat kalus pada konsentrasi 2,4-D.....	17
Gambar 4.4 Berat kalus pada konsentrasi BAP	18
Gambar 4.5 Histologi kalus embrionik	23



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Perlakuan Konsentrasi BAP (B) dan 2.4-D	11
Tabel 4.1 Hasil F-hitung perlakuan pada variabel pengamatan	14
Tabel 4.2 Warna kalus embriogenik <i>hoya carnosa</i> berdasarkan <i>munsell color charts</i>	19
Tabel 4.3 Tekstur kalus	21



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.1 Dokumentasi Penelitian.....	35
Lampiran 1.2 Hasil Analisis Data Variabel Pengamatan.....	36



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara kepulauan dengan iklim tropis yang memiliki beraneka ragam spesies flora yang unik dan indah. Flora indah yang dimiliki Indonesia adalah salah satunya Hoya. Hoya merupakan tanaman yang memiliki potensi sangat bermanfaat dalam bidang kesehatan dan juga sebagai tanaman hias. Karakter tanaman hoya beraneka ragam sesuai daerah asal dimana tanaman tersebut tumbuh, sehingga potensi tanaman dapat diketahui dan diteliti untuk mengembangkan tanaman hoya sesuai dengan kearifan lokal sekitar (Afifah *dkk*, 2017).

Menurut Rahayu. (2006), hoya merupakan salah satu tanaman yang berasal dari Indonesia dan tersebar di berbagai wilayah Indonesia. Tanaman Hoya masih jarang diketahui oleh masyarakat yang sebenarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat dan tanaman hias. Kurangnya pengetahuan dari masyarakat mengenai informasi yang spesifik tentang berbagai kandungan serta manfaat mengenai tanaman hoya menjadi hambatan yang cukup besar terhadap potensi dalam mengembangkan tanaman hoya menjadi tanaman obat atau tanaman hias, padahal potensi tersebut akan menjadi cukup besar dan dapat dimanfaatkan menjadi usaha dengan pendapatan yang menjanjikan. Manfaat tanaman hoya digunakan sebagai obat adalah diantaranya untuk meredakan luka bakar atau luka gores, batuk, asma dan penyakit paru-paru (Rahayu, 2012). Manfaat lainnya adalah digunakan sebagai tanaman hias, karena tanaman hoya memiliki keindahan yang unik serta beragam pada bunganya, sehingga akan sangat bagus apabila digunakan sebagai tanaman hias. Namun, jumlahnya masih tidak terlalu banyak, sehingga perlunya dilakukan perbanyakan untuk dapat mencukupi kebutuhan sebagai tanaman obat dan tanaman hias (Kusumaningtyas *et all*, 2015).

Menurut Nuraida. (2012), pemuliaan tanaman merupakan kegiatan untuk mengubah susunan genetic dari tanaman secara tetap sehingga memperoleh sifat atau penampilan sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Pemuliaan tanaman merupakan ilmu genetika terapan yang didukung oleh berbagai cabang ilmu kegenetikaan, termasuk plasma nutfah, genetika klasik, genetika molekuler,

sitogenetika, dan genetika transformasi yang digunakan dalam memodifikasi suatu spesies tumbuhan demi kebutuhan manusia (Sumarno dan Zuraida, 2008). Kegiatan utama dari pemuliaan tanaman pada dasarnya meliputi tiga hal, yaitu pertama adalah identifikasi dan eksplorasi, kedua ialah seleksi dan yang ketiga adalah evaluasi (Karsinah dan Manshur. 2007). Langkah yang harus dilakukan pada kegiatan pemuliaan tanaman dalam rangka penyediaan bibit tanaman hoya untuk bahan obat atau tanaman hias adalah dengan melakukan perbanyakan tanaman hoya.

Menurut Aeni *dkk.* (2017), perbanyakan tanaman dapat dilakukan dengan metode budidaya dan umur tanaman, sehingga usaha budidaya dan kontinuitas dapat menghasikan kestabilan mutu atau kualitas bahan tanaman yang terstandarisasi. Bahan tanaman yang terstandarisasi berupa benih atau bibit tanaman yang mutu genetiknya baik juga harus memiliki kualitas tumbuh benih atau bibit yang tinggi (Nuraida, 2012). Perlu dilakukan upaya untuk perbaikan mutu benih atau bibit hoya sebagai bahan tanaman untuk menjamin kestabilan tersedianya herba tanaman hoya dan juga untuk menjamin ketersediaannya bagi para pecinta tanaman hias. Langkah tersebut merupakan cara yang tepat dilakukan untuk tetap menjaga kelestarian dari tanaman Hoya.

Menurut Samudin. (2009), keterbatasan penanaman tanaman disebabkan oleh ketidaktersediaan bibit dalam jumlah yang memadai sehingga perbanyakan tanaman/bibit menggunakan teknologi kultur jaringan menjadi salah satu solusi terbaik untuk memperoleh bibit tanaman dalam waktu yg relatif singkat dan cukup. Perbanyakan dengan cara mengembangkan kalus sudah cukup banyak dijumpai, terutama bagi para peneliti atau perusahaan-perusahaan yang bergerak dalam bidang pertanian yang telah maju atau cukup besar. Bahan atau eksplan yang digunakan adalah bagian dari tanaman seperti daun, tunas, batang atau akar (Irawati. 2000). Bahan atau eksplan tersebut dikembangkan hingga menjadi kalus yang kemudian menjadi tunas hingga tanaman baru yang siap untuk dipindah tanam, sehingga pada tahap selanjutnya bisa dijadikan bibit sebagai bahan tanam (Rosita *dkk.*, 2015). Tanaman baru dari biji meskipun telah diketahui jenisnya kadang-kadang sifatnya menyimpang dari pohon induknya, dan bahkan banyak tanaman yang tidak menghasilkan biji atau jumlah bijinya yang sedikit, sehingga

untuk menghindari kelemahan-kelemahan yang terdapat pada perbanyakan tersebut, maka penulis ingin mencobanya dengan perbanyakan secara induksi SE untuk menumbuhkan kalus dari eksplan yang akan digunakan. Perbanyakan tanaman hoya dapat dilakukan dengan cara menginduksi SE untuk menumbuhkan kalus pada eksplan yang telah disediakan dengan bantuan hormon().

Zat pengatur tanaman merupakan suatu bahan kimia yang diproduksi secara alami oleh tanaman dan memiliki peranan sangat penting dalam mengatur pertumbuhan serta perkembangan dari suatu tanaman (Samudin, 2009). Zat pengatur tanaman juga dapat diproduksi secara sintetis, namun harganya juga cukup mahal. Diantara berbagai macam zat pengatur tanaman yang ada, penulis akan mencoba menggunakan zat pengatur tanaman dari BAP dan 2.4-D. Menurut Damayanti *et all.* (2005), auksin 2,4-D adalah jenis auksin sintetis kuat yang dapat berfungsi sebagai pemacu pemanjangan/pertumbuhan sel, pembentukan kalus, inisiasi akar dan induksi embryogenesis somatik, sedangkan sitokinin BAP berfungsi sebagai pemacu dari pembelahan sel, jaringan, organogenesis, proliferasi tunas aksilar dan menginduksi pembentukan tunas.

Menurut Sellars *et all.* (1990), penggunaan auksin dengan daya aktivitas kuat (antara lain 2,4-D, NAA atau dikombinasikan dengan sitokinin dengan konsentrasi rendah) umumnya digunakan untuk induksi kalus embriogenik. Menurut Karjadi dan Buchory. (2008), jenis dan konsentrasi hormon, jenis asam amino serta rasio auksin dan sitokinin sangat menentukan dalam menginduksi pembentukan kalus sehingga penulis akan menggunakan kombinasi hormon BAP dan 2.4-D pada eksplan dengan konsentrasi yang berbeda-beda untuk memperoleh data mengenai konsentrasi mana yang terbaik dari hasil penelitian yang telah dilakukan, kemudian akan didapatkan komposisi yang sesuai untuk membudidayakan tanaman hoya secara kultur jaringan().

1.2 Perumusan Masalah

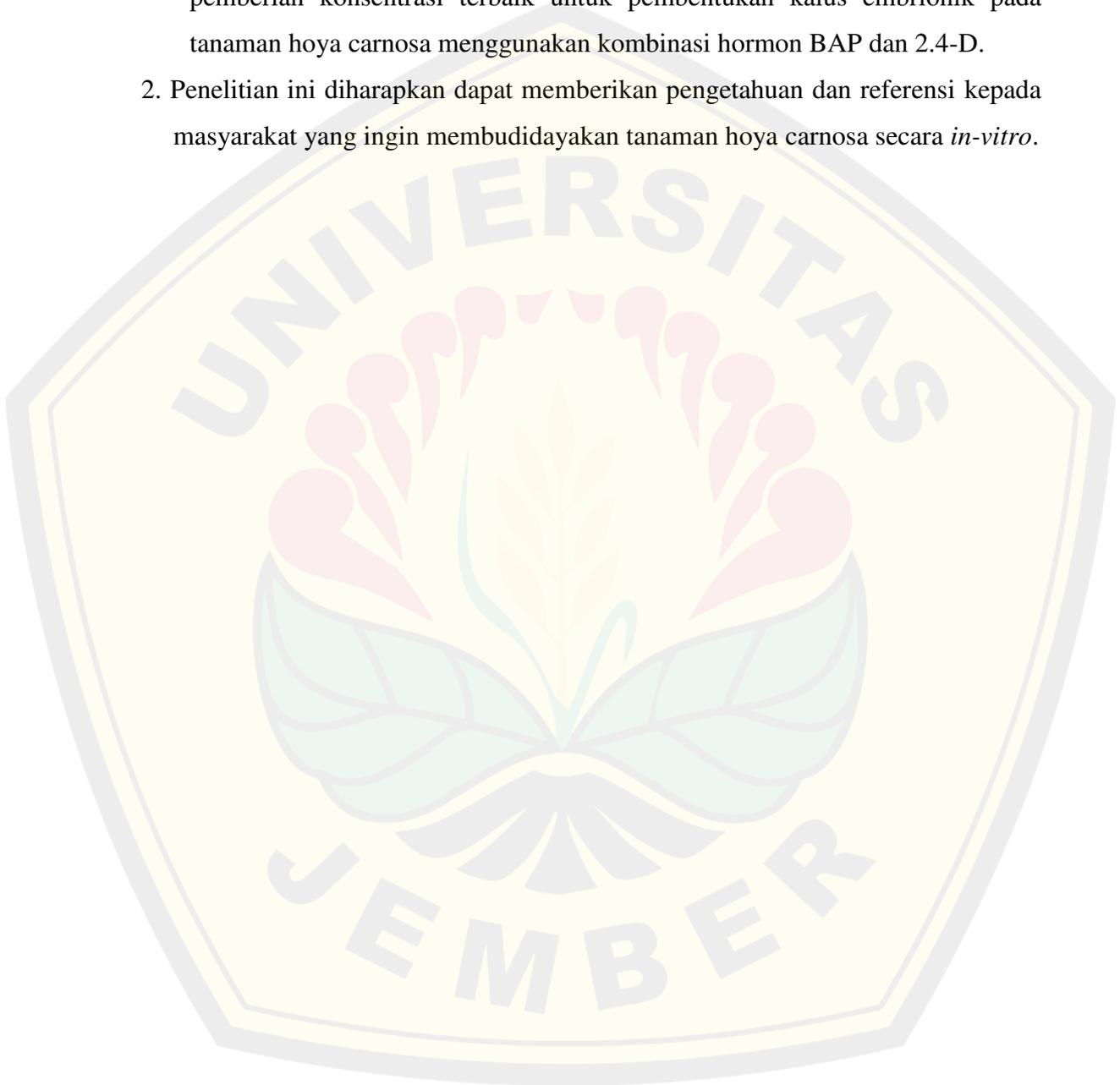
Berdasarkan latar belakang penelitian yang dilakukan, dapat dirumuskan permasalahan dari penelitian ini adalah apakah terdapat pengaruh pemberian konsentrasi hormon BAP dan 2.4-D terhadap pembentukan dan perkembangan kalus embrionik tanaman hoya *carnea*.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah penelitian diatas terdapat tujuan penelitian, yaitu untuk mengetahui pengaruh dari pemberian konsentrasi hormon BAP dan 2.4-D terhadap pembentukan kalus embrionik tanaman hoya carnososa.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti dapat bermanfaat dalam menambah pengetahuan mengenai pemberian konsentrasi terbaik untuk pembentukan kalus embrionik pada tanaman hoya carnososa menggunakan kombinasi hormon BAP dan 2.4-D.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan referensi kepada masyarakat yang ingin membudidayakan tanaman hoya carnososa secara *in-vitro*.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Hoya

Hoya (*Hoya carnosa*) adalah salah satu kelompok tumbuhan epifit dari suku Apocynaceae. Hoya merupakan tanaman yang tersebar luas di daerah tropis (Kusumaningtyas *et all*, 2015). Distribusi tanaman hoya yang cukup banyak di daerah tropis membuat hoya juga dapat ditemukan di Indonesia tapi masih belum banyak masyarakat yang mengenalnya, bahkan mengetahui berbagai manfaat yang terkandung pada tanaman hoya. Masyarakat yang tinggal dekat hutan biasa memanfaatkan tanaman hoya sebagai obat tradisional, sedangkan untuk pemanfaatannya sebagai tanaman hias masih cukup terbatas pada kota-kota besar. Budidaya tanaman hoya sangat perlu untuk dipertimbangkan karena memiliki potensi yang sangat besar dan menjanjikan untuk bisa diekspor masuk kedalam pasar Eropa dan Amerika yang memiliki iklim empat musim. Tanaman hoya memiliki corak bunga yang beraneka ragam dan indah, sehingga menjadi ciri khas tersendiri dan sangat cocok digunakan sebagai tanaman hias disekitaran rumah (Rahayu, 2012).



Gambar 2. 1 Tanaman Hoya

Hoya merupakan salah satu tanaman merambat yang dapat tumbuh rata-rata hingga 4 sampai 5 meter. Hoya memiliki daun dengan ukuran dan karakteristik yang bervariasi, berkisar dari sekecil 5 cm dan lebar 2 sampai 4 cm, yaitu pada jenis (*Hoya engleriana Hosseus*) hingga sebesar 25 cm x 35 cm, yaitu pada jenis (*Hoya latifolia G. Don*). Daun tanaman hoya berbentuk bulat hampir sempurna dan ada juga yang berbentuk linear (Rahayu, 2006). Beberapa spesies tanaman hoya memiliki daun dengan bulu-bulu halus yang berada disekitar daunnya. Mahkota yang terdapat pada bunga hoya terdiri dari lima helai yang membentuk formasi seperti bintang. Tanaman hoya biasa dikenal dalam bahasa

Inggris dengan sebutan *porcelain flower* atau *wax plant* (Wanntorp et al., 2006). Tanaman hoya memiliki bunga pada semua spesies berbentuk seperti bintang yang memiliki lima ujung. Bunga pada tanaman hoya memiliki berbagai warna sesuai dengan spesiesnya dan juga memiliki bau yang cukup harum. Kelebihan yang dimiliki oleh tanaman hoya tersebut yang membuat tanaman ini sangat cocok untuk dibudidayakan salah satunya adalah sebagai tanaman hias yang dapat memanjakan mata dengan keindahan dan keharuman yang dimiliki. Budidaya tanaman hoya pada beberapa jenis masih sangat jarang ditemukan dan bahkan tanaman hoya ini masih kurang dikenal atau diketahui oleh masyarakat Indonesia sendiri, sehingga potensinya harus dijaga agar tetap lestari (Rahayu, 2012).

Menurut Rahayu. (2012), hoya pada umumnya ditemukan tumbuh dengan merambat atau menggantung pada bagian batang pohon pada dataran tinggi atau rendah, namun ada beberapa spesies juga yang tumbuh di tanah serta ada pula yang ditemukan tumbuh pada daerah bebatuan. Hubungan antara tanaman hoya dengan pohon tempatnya tumbuh adalah sama seperti tanaman sirih yang termasuk kedalam simbiosis komensalisme, dimana tanaman hoya menumpang hidup pada batang pohon dengan tidak merugikan pohon tersebut, sedangkan pohon juga tidak merugikan dan mendapatkan apapun dari tanaman hoya. Tanaman hoya tidak terlalu terpengaruh dengan keadaan temperatur, tetapi kondisi tanah yang terlalu kering atau terlalu basah akan membuat bunga dari tanaman hoya lebih mudah berguguran.

2.2 Kultur Jaringan Tanaman

Menurut Sumarno dan Zuraida. (2008), kultur jaringan tanaman merupakan salah satu pendekatan yang dapat digunakan dalam proses budidaya pertanian dan cara tersebut sudah berpijak pada konsep *how to create* yang melengkapi serta memungkinkan terjadinya suatu peningkatan efektifitas dan produktivitas cara-cara bertanam pada konsep tradisional dan konvensional. Pemahaman yang menjadi dasar bahwa jaringan tanaman dapat tumbuh dan berkembang pertama kali dikemukakan oleh Haberlandt (1898), yang berpendapat bahwa setiap sel memiliki kemampuan untuk tumbuh dan berkembang secara tidak terbatas. Sel-sel pada tanaman dipisahkan dan dikulturkan dalam suatu medium yang dapat mendorong kinerja dari pertumbuhan dan perkembangan

tanaman. Kultur jaringan merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman selain melalui biji yang hasil dan karakter dari tanaman yang akan dihasilkan sama dengan kondisi dari induk yang digunakan, sehingga hasil tanaman yang didapat lebih bisa diprediksi kualitasnya (Nuraida, 2012).

2.3 Media Tanam Kultur Jaringan

Penggunaan media tanam pada kultur jaringan merupakan aspek penting dalam memperbanyak tanaman, karena media tumbuh diperlukan sebagai sarana penyedia nutrisi (unsur hara), kelembaban, suhu dan oksigen yang optimal (Rosita *dkk*, 2015). Menurut Brilliyana. (2017), media tanam merupakan bahan yang digunakan untuk pembibitan yang berfungsi sebagai penyimpan unsur hara atau nutrisi, mengatur kelembaban dan suhu udara serta berpengaruh terhadap proses pembentukan akar. Pemilihan media tanam yang baik dan sesuai dengan karakter dari tanaman yang akan dibudidayakan sangat penting dilakukan untuk dapat mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan dari tanaman tersebut (Samudin, 2009). Media yang akan digunakan dalam kultur jaringan harus dalam keadaan steril untuk menghindari dan meminimalisir eksplan agar tidak terpapar oleh virus atau jamur, karena kondisi dari media yang akan digunakan akan sangat berpengaruh terhadap proses penelitian yang sedang dilakukan.

Menurut Rosita *dkk*. (2015), modifikasi media kultur jaringan dengan menambah zat pengatur tumbuh perlu dilakukan untuk menaikkan presentase keberhasilan dari proses kultur jaringan. Kultur jaringan memerlukan media buatan yang terdiri dari unsur makro dan mikro dalam bentuk asam amino, garam sumber karbon, vitamin, suplemen organik lain, dan ZPT. Media yang akan digunakan bergantung pada tujuan dan jenis tanaman serta jenis dan umur jaringan yang akan dikulturkan (Karjadi dan Buchory, 2008).

2.4 Induksi Somatik Embriogenesis Dalam Pembentukan Kalus

Menurut Agustina. (2015), induksi merupakan suatu proses stimulasi yang dilakukan untuk dapat merangsang kinerja dari suatu jaringan yang berada pada tanaman. Somatik Embriogenesis adalah suatu proses dimana sel somatik haploid ataupun diploid berkembang membentuk suatu tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet. Somatik embriogenesis dapat dipicu pertumbuhannya dengan menggunakan suatu ZPT (zat

pengatur tumbuh) dan pemberian vitamin (Samudin, 2009). Menurut Sellars et al. (1990), proses dari induksi somatik embriogenesis yang digunakan untuk merangsang pembentukan kalus membutuhkan pemilihan hormon dan konsentrasi yang tepat serta aplikasi yang sesuai, agar proses pembentukan kalus dapat teramati dengan baik. Proses pengamatan tersebut harus dijaga dan dikontrol dengan teliti agar tidak ada hal-hal yang dapat mengganggu proses pertumbuhan dari kalus karena kondisinya yang sangat sensitif terutama pada kontaminasi cendawan atau jamur yang dapat menggagalkan dan bahkan merusak kondisi kalus yang sedang diamati.

2.5 Efektivitas Hormon Auksin dan Sitokinin Dalam Pembentukan Kalus

Menurut Damayanti *et al.* (2005), Auksin merupakan hormon yang dapat memicu atau merangsang proses pertumbuhan dan pembelahan sel tanaman yang terdapat pada bagian batang atau bagian akar dari tanaman. Sitokinin adalah salah satu ZPT (zat pengatur tumbuh) yang dapat berperan dalam proses diferensiasi atau proses pembelahan sel pada tanaman dan pertumbuhan pucuk tanaman (Romman *et al.*, 2015). Sitokinin merupakan ZPT yang penting dalam proses pengaturan dari pembelahan sel dan morfogenesis. Salah satu jenis sitokinin sintetik adalah BAP (benzil adenin atau benzil aminopurin). Perbandingan relatif konsentrasi ZPT golongan auksin dan sitokinin dapat mengatur proses diferensiasi secara *in vitro* (Karjadi dan Buchory, 2008). Menurut Sellars *et al.* (1990), melalui aplikasi hormon auksin dan sitokinin yang dipadukan dapat membentuk suatu mekanisme yang kuat dalam proses pembentukan kalus. Pemberian hormon auksin dengan volume yang lebih banyak dibandingkan hormon sitokinin dapat memicu pertumbuhan dari kalus, sedangkan apabila volume sitokinin lebih banyak daripada volume auksin hal tersebut akan memicu pembentukan tunas (Rosita *dkk.*, 2015). Kombinasi dan konsentrasi dari zat pengatur tumbuh menjadi salah satu faktor penting dalam melakukan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan, sehingga perlu diperhatikan mengenai perpaduan yang tepat antara kombinasi dan konsentrasi dari zat pengatur yang diberikan (Samudin, 2009).

Menurut Rosita *dkk.* (2015), interaksi antara eksplan dan media kultur jaringan dengan tambahan zat pengatur tumbuh dapat berpengaruh terhadap pembentukan tunas. Sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi daripada

auksin atau tanpa auksin akan mendorong pembelahan terhadap sel dan memicu pembentukan dari tunas. Pemilihan terhadap konsentrasi zat pengatur tumbuh yang tepat sangat penting dilakukan untuk memperoleh hasil yang maksimal terhadap usaha budidaya secara kultur jaringan yang dilakukan.

2.6 Hipotesis

H1 : Hormon BAP dan 2.4-D berpengaruh terhadap intensitas pertumbuhan kalus embrionik dari tanaman hoya.



BAB 3. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian “Pengaruh Hormon BAP dan 2.4-D Terhadap Pembentukan Kalus Embrionik Pada Tanaman Hoya (*Hoya carnososa*)” dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari sampai dengan Mei 2023.

3.2 Persiapan Penelitian

3.2.1 Menyiapkan Bahan Tanam

Bahan tanam yang digunakan dalam melakukan penelitian ini adalah bagian daun muda dari tanaman Hoya.

3.2.2 Menyiapkan Bahan Nutrisi Dasar MS

Nutrisi dasar yang digunakan pada proses penelitian adalah garam Murashige and Skoog (MS). Larutan $\frac{1}{2}$ MS dibuat dengan melarutkan 2,215 g serbuk MS dengan 3% sukrosa yang kemudian dilarutkan pada aquades hingga volume 1 L dan dicampur dengan agar.

3.2.3 Menyiapkan Alat

Alat yang digunakan dalam melakukan penelitian ini adalah autoclave, pH meter, gelas ukur, cawan petri, hand sprayer, timbangan, pipet, pinset, tisu, lampu bunsen, pisau, penggaris, dan micropipet.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Perancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang di gunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, yaitu konsentrasi hormon Sitokinin (BAP/benzylamino purine) dan Auksin (2.4-D/Diklorofenoksiasetat) dan diulang sebanyak 4 ulangan, adapun macam perlakuannya dengan konsentrasi hormon Auksin dan Sitokinin sebagai berikut :

Faktor 1 : Konsentrasi BAP (B)

B1 : 0,4 mg/L

B2 : 0,5 mg/L

B3 : 0,6 mg/L

Faktor 2 : Konsentrasi 2.4-D (D)

D1 : 5 mg/L

D2 : 6 mg/L

D3 : 7 mg/L

Pengujian dilakukan terdiri dari 9 kombinasi perlakuan yang dapat dilihat dalam kombinasi perlakuan sebagai berikut :

Tabel 3.1 Perlakuan Konsentrasi BAP (B) dan 2.4-D

	D1	D2	D3
B1	B1D1	B1D2	B1D3
B2	B2D1	B2D2	B2D3
B3	B3D1	B3D2	B3D3

Setiap perlakuan memiliki empat pengulangan, sehingga total jumlah pengujian di setiap percobaan akan menjadi 36 kombinasi perlakuan.

Keterangan :

B1D1 : 0,4 mg/L BAP + 5 mg/L 2.4-D

B2D1 : 0,5 mg/L BAP+ 5 mg/L 2.4-D

B3D1 : 0,6 mg/L BAP + 5 mg/L 2.4-D

B1D2 : 0,4 mg/L BAP + 6 mg/L 2.4-D

B2D2 : 0,5 mg/L BAP + 6 mg/L 2.4-D

B3D2 : 0,6 mg/L BAP + 6 mg/L 2.4-D

B1D3 : 0,4 mg/L BAP + 7 mg/L 2,4-D

B2D3 : 0,5 mg/L BAP + 7 mg/L 2.4-D

B3D3 : 0,6 mg/L BAP + 7 mg/L 2.4-D

3.3.2 Pemeliharaan Eksplan

Pemeliharaan dilakukan antara lain dengan melakukan penyemprotan alkohol setiap hari pada media tanam untuk mensterikan media dari kontaminasi jamur atau cendawan. Langkah tersebut dilakukan dengan harapan dapat meminimalisir eksplan supaya tidak terkontaminasi oleh cendawan atau jamur yang berada disekitaran media, sehingga tidak mengganggu proses pertumbuhan

dari eksplan yang sedang dilakukan penelitian serta pengamatan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1. Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah bagian daun muda dari tanaman hoya dengan ukuran 1-2 cm sehingga akan diperoleh eksplan yang seragam.

3.4.2. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini seperti cawan petri, gelas ukur, spatula, pinset, scalpel, gunting dan beaker glass yang dicuci dengan deterjen dan dibilas menggunakan air yang mengalir, kemudian dikeringkan dan selanjutnya dilakukan proses sterilisasi menggunakan alat autoclave dengan suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 20 menit. Sterilisasi bahan tanam yaitu daun muda dengan menggunakan deterjen dan air steril yang kemudian digojok selama +2-3 menit, kemudian dibilas dengan aquades sebanyak 3 kali. Tahap selanjutnya eksplan disterilisasi menggunakan clorox 20% dan digojok selama 5-6 menit, kemudian dilakukan pembilasan menggunakan aquades dan digojok selama +2-3 menit. Eksplan siap diinokulasi secara aseptik ke media MS.

3.5 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi hormon terhadap perkembangan induksi somatik embriogenesis tanaman hoya. Terdapat beberapa variabel pengamatan yang dilakukan, diantaranya yaitu :

3.5.1. Kedinian Terbentuknya Kalus

Waktu terbentuknya kalus akan diamati untuk mengetahui pada jumlah hari ke berapa kalus mulai muncul dan konsentrasi atau perlakuan mana yang dapat memicu pertumbuhan kalus lebih dini pada proses penelitian yang dilakukan. Awal munculnya kalus ditandai dengan terbentuknya granul yang dapat berupa warna putih kekuning-kuningan pada bagian eksplan. Pengamatan terhadap kedinian terbentuknya kalus dilakukan setiap hari yang dimulai sejak penanaman eksplan ke media.

3.5.2. Presentase Eksplan yang Membentuk Kalus

Proses pengamatan terhadap presentase eksplan yang telah membentuk kalus dilakukan untuk mengetahui bagaimana hasil pertumbuhan kalus yang

diperoleh berdasarkan perlakuan yang telah diberikan untuk mengetahui tingkat presentase dari eksplan yang diamati. Perhitungan presentase terbentuknya kalus dapat dihitung dengan cara eksplan yang tumbuh dan membentuk kalus dibagi dengan jumlah eksplan total yang berada pada masing-masing botol kultur, kemudian dikalikan dengan 100%.

3.5.3. Berat Kalus (gram)

Berat kalus akan diamati menggunakan timbangan analitik untuk menggambarkan aktivitas yang terjadi pada kalus dalam tiap-tiap perlakuan yang diberikan pada proses penelitian yang sedang dilakukan. Proses pemindahan kalus hasil subkultur harus dilakukan secara hati-hati, supaya tidak mengurangi hasil apabila tekstur dari kalus tersebut adalah remah yang dikhawatirkan dapat pecah.

3.5.4. Karakteristik Kalus

Proses pengamatan karakteristik kalus dilakukan secara kualitatif terhadap warna dan tekstur kalus. Warna kalus akan diamati dengan menggunakan pedoman munsell Color Chart dan tekstur kalus akan diamati secara visual menggunakan mikroskop. Warna yang terdapat pada kalus berdasarkan Munsell Color Chart nantinya dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori, yaitu : hue, value, dan chroma.

3.5.5. Histologi

Pengamatan histologi dilakukan guna mengetahui bagaimana perkembangan dan struktur sel serta jaringan pada pembentukan kalus embrionik eksplan daun tanaman hoya, meliputi persiapan sampel, pengawetan sampel, selanjutnya sampel dilakukan dehidrasi, pembedahan sampel, pembedahan sampel atau istilahnya *impregnation*, kemudian dilakukan *blocking* atau yang dikenal pengecoran menggunakan parafin, pengirisan sampel menggunakan microtom, pewarnaan sampel, perekatan sampel pada kaca dan *labeling*, dan yang terakhir melakukan pengamatan pada *microskop*.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA), apabila hasil yang diperoleh berbeda nyata maka dilakukan analisa lanjut dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, terdapat 2 parameter pengamatan yang akan dilakukan analisis data, yaitu pada parameter kedonian terbentuknya kalus dan berat kalus. Hasil analisis data pada parameter kedonian terbentuknya kalus menunjukkan bahwa antara hormon BAP dan 2.4-D hanya pada hormon 2.4-D yang berpengaruh sangat nyata terhadap pembentukan kalus embrionik tanaman hoya carnosa, sedangkan pada hormon BAP tidak berpengaruh secara nyata serta kombinasi antara hormon BAP dan 2.4-D juga tidak berpengaruh secara nyata pada kedonian terbentuknya kalus embrionik hoya carnosa. Analisis data pada parameter pengamatan kedonian terbentuknya kalus embrionik hoya carnosa dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut ini :

Tabel 4.1 Hasil F-hitung perlakuan pada variabel pengamatan

No	Variabel	Nilai F-hitung		
		BAP	2.4-D	BAPx2.4-D
1	Kedonian Kalus	0,771 ^{ns}	244,029 ^{**}	1,029 ^{ns}
2	Berat Kalus	7,119 ^{**}	1044,479 ^{**}	2,366 ^{ns}

Keterangan: **= berbeda sangat nyata, *= berbeda nyata, tn= tidak berbeda nyata

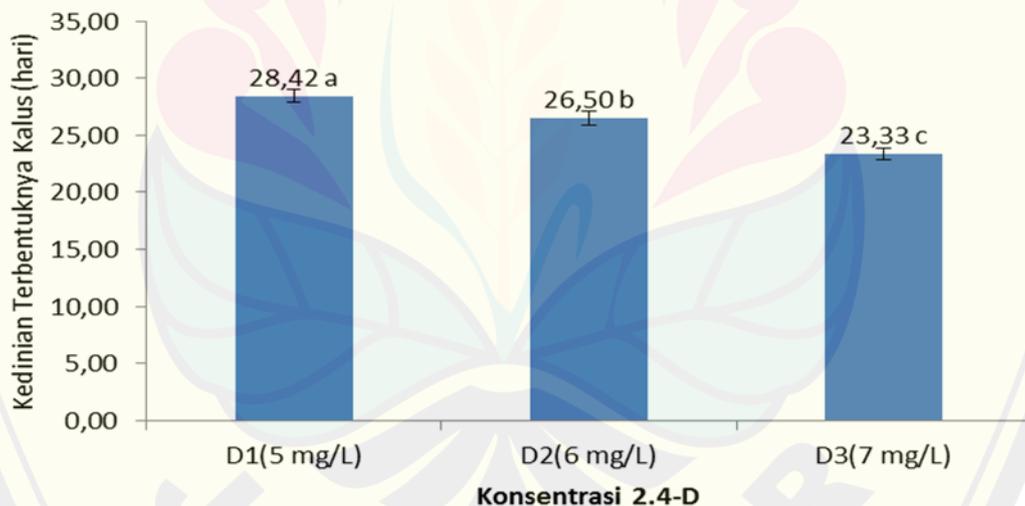
Hasil analisis data pada parameter berat kalus menunjukkan bahwa hormon BAP dan 2.4-D masing-masing berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus embrionik hoya carnosa, namun pada kombinasi hormon BAP dan 2.4-D tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus embrionik hoya carnosa. Analisis data pada parameter pengamatan berat kalus dapat dilihat pada Tabel 4.2 berikut ini.

Berdasarkan hasil pengamatan kedonian terbentuknya kalus dan berat kalus yang berpengaruh sangat nyata maka selanjutnya akan dilakukan uji lanjut menggunakan uji DMRT dengan taraf kesalahan 5%. Parameter pengamatan

eksplan yang membentuk kalus, karakteristik kalus, dan histologi disajikan dalam bentuk deskriptif.

4.1.2 Kedinian Terbentuknya Kalus

Kalus yang tumbuh pada saat setelah dilakukan penanaman eksplan pada media memiliki daya waktu tumbuh yang berbeda-beda pada setiap perlakuan yang diberikan. Terdapat beberapa perlakuan yang memiliki respon yang sama terhadap waktu munculnya kalus. Berdasarkan hasil dari analisis data kedinian munculnya kalus menunjukkan bahwa, perlakuan kombinasi hormon BAP dengan 2.4-D tidak berpengaruh sangat nyata terhadap kedinian terbentuknya kalus. Semakin cepat kalus yang dapat muncul menunjukkan bahwa semakin baik pula respon terhadap kedinian terbentuknya kalus yang diamati. Data kedinian terbentuknya kalus secara keseluruhan pada tiap-tiap perlakuan yang telah diperoleh dilakukan uji ANOVA dan didapatkan hasil berbeda nyata pada hormon BAP yang kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan uji DMRT dengan taraf kesalahan 5% yang disajikan pada Gambar 4.1.



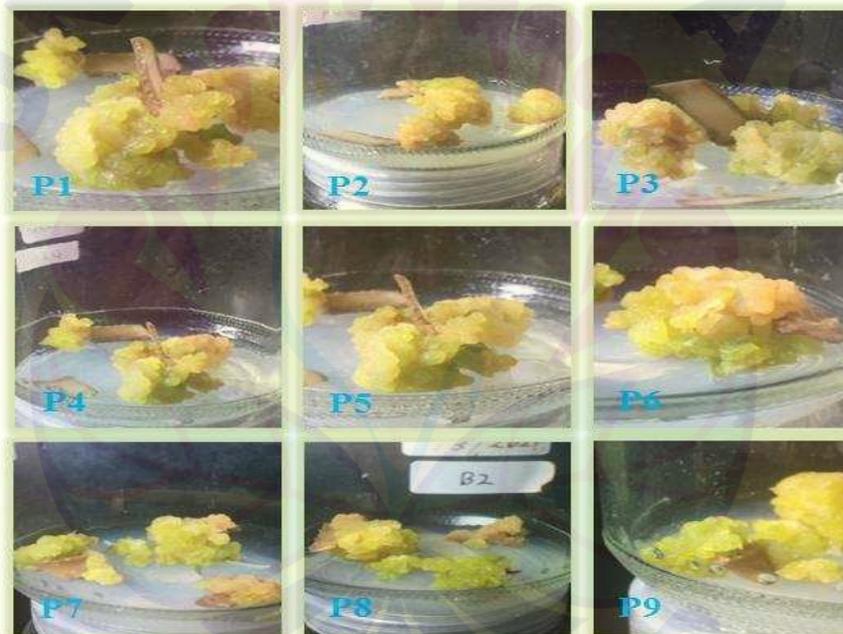
Gambar 4.1 Kedinian terbentuknya kalus pada konsentrasi 2.4-D. Angka-angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.

Pada Gambar 4.1 didapatkan hasil perlakuan konsentrasi 2.4-D 7 mg/L (D3) menunjukkan waktu tercepat terhadap kedinian terbentuknya kalus, yaitu 23,3 HST, sedangkan konsentrasi 2.4-D 6 mg/L (D2) munculnya kalus pada 26,5

HST dan 2.4-D 7 mg/L (D3) dengan waktu munculnya kalus terlama, yaitu 28,4 HST. Berdasarkan hasil uji DMRT 5% faktor konsentrasi 2.4-D 5 mg/L (D1), 6 mg/L (D2) dan 7 mg/L (D3) masing-masing berbeda sangat nyata. Hasil uji lanjut tersebut juga menunjukkan konsentrasi 2.4-D 7 mg/L (D3) dapat direkomendasikan untuk memperoleh waktu kedininan terbentuknya kalus tercepat, yaitu dengan 23,3 HST.

4.1.3 Presentase Eksplan Membentuk Kalus

Eksplan yang terdapat pada tiap-tiap perlakuan yang diberikan, seluruhnya terdapat respon terhadap pembentukan kalus. Terdapat 3 eksplan yang diberikan pada tiap-tiap perlakuan dan masing-masing eksplan tersebut mengalami respon membentuk kalus, sehingga tidak ada satupun eksplan yang mengalami kegagalan untuk tumbuh membentuk kalus. Eksplan yang membentuk kalus dapat dilihat pada Gambar 4.2.

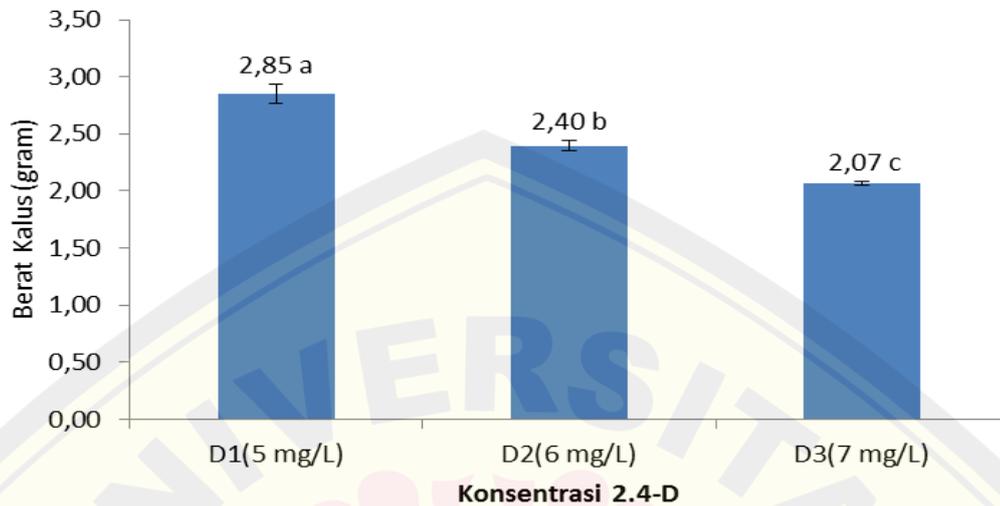


Gambar 4.2 Eksplan yang membentuk kalus

4.1.4 Berat Kalus (gram)

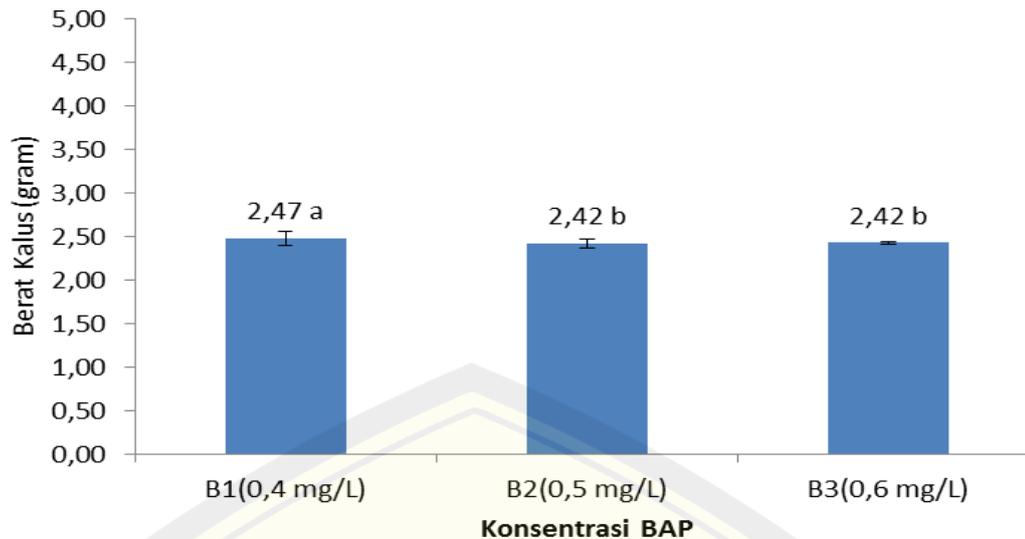
Kalus yang telah memasuki masa pengamatan selama 90 hari, kemudian dilakukan proses penimbangan pada timbangan analitik untuk mengetahui seberapa besar pengaruh hormon yang diaplikasikan terhadap eksplan untuk dapat membentuk kalus pada tanaman *hoya carnosa*. Data berat kalus secara keseluruhan pada tiap-tiap perlakuan yang telah diperoleh dilakukan uji ANOVA

dan didapatkan hasil berbeda nyata pada hormon 2.4-D dan BAP yang kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan uji DMRT dengan taraf kesalahan 5% yang disajikan pada Gambar 4.3 dan Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Berat kalus pada konsentrasi 2.4-D. Angka-angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.

Pada gambar 4.3 didapatkan hasil perlakuan konsentrasi 2.4-D 5 mg/L (D1) menunjukkan berat tertinggi yaitu, sebesar 3,85 gram, sedangkan pada konsentrasi 2.4-D 6 mg/L (D2) memperoleh berat sebesar 2,40 gram, dan berat terendah terdapat pada konsentrasi 2.4-D 7 mg/L (D3) sebesar 2,07 gram. Berdasarkan hasil uji DMRT 5% faktor konsentrasi 2.4-D 5 mg/L (D1), 2.4-D 6 mg/L (D2) dan 2.4-D 7 mg/L (D3) masing-masing sangat berbeda nyata. Hasil uji lanjut tersebut juga menunjukkan konsentrasi 2.4-D 5 mg/L (D1) dapat direkomendasikan untuk memacu pertumbuhan berat kalus terbaik dengan hasil 2,85 gram.



Gambar 4.4 Berat kalus pada konsentrasi BAP. Angka-angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.

Pada Gambar 4.4 didapatkan hasil perlakuan konsentrasi BAP 0,4 mg/L (B1) menunjukkan berat tertinggi yaitu, 2,47 gram, sedangkan pada konsentrasi BAP 0,5 mg/L memperoleh berat 2,42 gram dan konsentrasi BAP 0,6 mg/L memperoleh berat sebesar 2,42 gram. Berdasarkan uji DMRT 5% taraf konsentrasi BAP 0,4 mg/L (B1) berbeda nyata terhadap BAP 0,5 mg/L (B2) dan BAP 0,6 mg/L (B3). Hasil uji lanjut itu juga menunjukkan konsentrasi BAP 0,4 mg/L (B1) dapat direkomendasikan untuk memacu pertumbuhan berat kalus terbaik dengan berat 2,47 gram.

4.1.5 Karakteristik Kalus

Pengamatan karakteristik kalus dilakukan untuk mengetahui perkembangan warna dan tekstur kalus. Perkembangan kalus embriogenik *hoya carnosa* dapat kita ketahui melalui perubahan warnanya. Warna kehijauan yang terdapat pada kalus dapat menunjukkan bahwa kalus embriogenik beregenerasi dan terus mengalami perkembangan. Terdapat beberapa warna pada kalus embriogenik yaitu, warna hijau, kuning, kuning kehijauan, dan merah, namun warna kalus embriogenik yang dominan terbentuk yaitu kuning kehijauan. Hasil pengamatan warna kalus berdasarkan buku tabel warna berupa *munsell color charts* dapat dilihat pada Tabel 4.3 berikut ini:

Tabel 4.2 Warna kalus embriogenik *hoya carnosa* berdasarkan *munsell color charts*

Perlakuan	Gambar Kalus Embriogenik	Visual Warna	Notasi Warna (H V/C)
B1D1			2.5Y 6/6
B1D2			2.5Y 6/4
B1D3			2.5Y 7/4
B2D1			2.5Y 5/4
B2D2			2.5Y 7/4
B2D3			2.5 Y 6/4
B3D1			2.5 Y 7/6

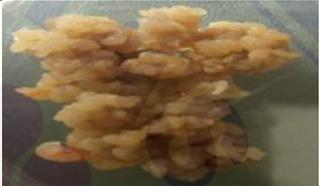
B3D2			2.5 Y 6/4
B3D3			2.5 Y 7/6

Keterangan: notasi warna ditulis berdasarkan notasi *munsell* lengkap untuk setiap warna kromatik ditulis *hue* nilai/*chroma* atau HV/C. Y=*yellow* (kuning).

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, setiap perlakuan menunjukkan warna yang hampir sama yaitu *yellow/kekuningan*. Warna kuning pada kalus terjadi pada sebagian besar perlakuan dari tingkat konsentrasi 2.4-D 5 mg/L, 6 mg/L, dan 7 mg/L serta BAP 0,4 mg/L, 0,5 mg/L, dan 0,6 mg/L. B1D1 menunjukkan notasi warna 2.5Y 6/6. B1D2 menunjukkan notasi warna yang sama dengan B2D3 dan B3D2 yaitu, 2.5Y 6/4. B1D3 menunjukkan notasi warna yang sama dengan B2D2 yaitu, 2.5Y 7/4. B2D1 menunjukkan notasi warna 2.5Y 5/4 serta B3D1 menunjukkan notasi warna yang sama dengan B3D3 yaitu, 2.5Y 7/6. Semakin tinggi nilai value dan semakin rendah nilai chroma menunjukkan warna kalus embriogenik yang terbaik yaitu terdapat pada perlakuan B1D3 dan B2D2.

Tekstur kalus juga merupakan salah satu indikator untuk melihat tingkat perkembangan maupun pertumbuhan kalus. Kalus yang baik memiliki tekstur yang remah. Terdapat dua macam tekstur pada hasil penelitian yang telah dilakukan, yaitu remah dan kompak. Hasil pengamatan tekstur kalus dapat dilihat pada Tabel. 4.4 berikut ini :

Tabel 4.3 Tekstur kalus

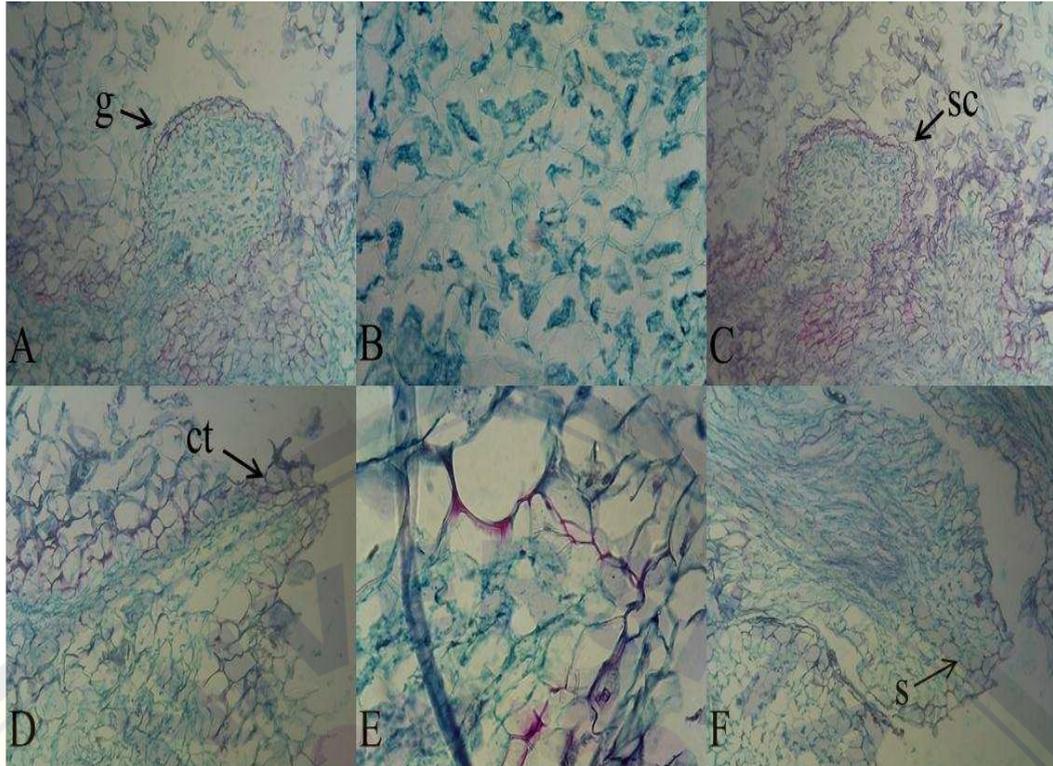
Perlakuan	Karakteristik	Gambar
B1D1	REMAH	
B1D2	KOMPAK	
B1D3	REMAH	
B2D1	KOMPAK	
B2D2	KOMPAK	
B2D3	KOMPAK	
B3D1	REMAH	
B3D2	KOMPAK	

B3D3	REMAH	
-------------	--------------	---

Berdasarkan hasil pengamatan, terdapat 2 macam karakteristik tekstur kalus pada tiap-tiap perlakuan yaitu, remah dan kompak. Tekstur remah terdapat pada perlakuan B1D1, B1D3, B3D1, dan B3D3. Tekstur kompak terdiri dari perlakuan B1D2, B2D1, B2D2, B2D3, dan B3D2.

4.1.6 Histologi

Perkembangan kalus embrionik dapat diamati dengan melihat struktur jaringan dan sel melalui hasil histologi. Histologi pada kalus embrionik dilakukan secara melintang dan membujur. Sel-sel yang diamati memiliki ukuran yang berbeda-beda pada setiap jaringan. Warna berdasarkan pengamatan histologi yang memiliki warna lebih pekat adalah sel yang lebih padat dibandingkan warna yang lebih cerah. Bagian histologi yang diwarnai dapat menunjukkan perkembangan atau pembentukan embrio somatik yang lebih maju (Asadi-Aghbolaghi *et al.*, 2021). Pengamatan histologi kalus embrionik *hoya carnosa* pada pengamatan *mikroskop* pembesaran 100 x dan 400 x terlihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.5 Histologi kalus embrionik. (A) fase globular pada pembesaran 100x (B) struktur sel pada fase globular pembesaran 400x (C) fase scutelar pada pembesaran 100x (D) fase koleoptilar pada pembesaran 100 x (E) struktur sel pada fase koleoptilar pebesar 400x (F) pemanjangan fase koleoptilar

Histologi terbentuknya kalus embrionik *hoya carnosa* diawali dengan munculnya bulatan-bulatan atau tonjolan yang membulat dan termasuk ke dalam fase globular (Gambar 4.3 A panah g). Pada pengamatan *microscop* dengan pembesaran 400x terlihat struktur sel globular berbentuk oval dengan inti sel yang jelas (Gambar 4.3 B). Tonjolan tersebut akan mengalami pertumbuhan dan perkembangan hingga menuju ke fase scutelar yang dicirikan dengan bentuk seperti hati yang mana terdapat satu atau dua lekukan dan membentuk dua area (Gambar 4.3 C panah sc).

Fase scutelar selanjutnya akan terus berkembang menuju ke fase koleoptilar yang mana pada fase ini dicirikan dengan lekukan yang membentuk dua area pada fase scutelar sebelumnya yang terus berkembang (Gambar 4.3 D panah ct). Pada pengamatan *microscop* dengan pembesaran 400x terlihat struktur sel koleoptilar yang berbentuk oval (Gambar 4.3 E) dan pada (Gambar 4.3 F panah s) merupakan proses dari fase koleoptilar yang semakin tumbuh

memanjang dan mulai membentuk ke arah dari bakal calon tunas dan meristem akar, kemudian pada fase akhir tersebut yang nantinya akan dapat mulai dilakukan menuju ke fase induksi kalus.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil analisa penelitian yang telah dilakukan, hormon BAP dan 2.4-D berpengaruh sangat nyata terhadap berat kalus tanaman hoya dan pada variabel kediniannya terbentuknya kalus hanya hormon BAP yang berpengaruh sangat nyata. Penggunaan hormon BAP dan 2.4-D secara keseluruhan memiliki respon terhadap pembentukan kalus embrionik pada beberapa perlakuan yang cukup baik hingga akhir penelitian yang telah dilakukan. Tanaman hoya sendiri merupakan tipe tanaman yang merambat dan memiliki daun yang berbentuk oval muncul di sepanjang bagian batang yang telah cukup tua. Rahayu. (2012) mengatakan bahwa, tanaman hoya merupakan salah satu kelompok dari tumbuhan epifit yang kebanyakan jenisnya adalah tanaman merambat. Hal ini senada dengan pendapat dari Robika *et al.* (2015) yang mengatakan bahwa, tanaman hoya merupakan tanaman yang merambat dengan sistem perakarannya yang menyebar dan menempel pada batang-batang tanaman lainnya. Deswanti *et al.* (2018) mengatakan bahwa, tanaman hoya dapat tumbuh memanjang dan merambat dengan melilit bagian pohon yang ditumpanginya. Kemampuan kultur kalus dalam melakukan proses regenerasi sangat dipengaruhi oleh pemberian hormon dan kondisi lingkungan sekitar. Pemberian hormon yang sesuai menjadi salah satu kunci penting dalam pembentukan kalus embrionik (Shofiyani dan Purnawanto, 2017). Tanaman hoya memiliki bermacam-macam spesies dan pada tiap-tiap spesies tersebut memiliki daya tahan hidup terhadap lingkungan yang berbeda-beda pula, sehingga akan mempengaruhi proses pertumbuhannya. Penambahan intensitas cahaya matahari akan meningkatkan ketebalan dari daun tanaman hoya (Rahayu dan Astuti, 2019).

Kediniannya terbentuknya kalus dapat digunakan sebagai indikator dalam menentukan dan memperoleh waktu tercepat terhadap munculnya kalus pada tanaman hoya. Berdasarkan Gambar 4.1 terdapat waktu munculnya kalus tercepat, yaitu pada D3 (7 mg/L) 2.4-D dengan waktu munculnya kalus 23,33 HST. Waktu

munculnya kalus sangat dipengaruhi oleh pemberian media dan jenis hormon pada eksplan. Pemilihan media dan zat pengatur tumbuh yang tepat akan menghasilkan dan merespon waktu munculnya kalus lebih cepat (Karjadi dan Buchory, 2008). Hal tersebut juga searah dengan pendapat dari Silvina *et al.* (2021) yang mengatakan bahwa, pemberian konsentrasi hormon yang tepat pada kultur kalus dapat memicu dan merangsang pembelahan sel, sehingga dapat mendorong pembentukan kalus yang lebih optimal.

Konsentrasi hormon 7 mg/L 2.4-D memberikan respon terbaik terhadap percepatan waktu terbentuknya kedinian kalus. Kecepatan pertumbuhan kalus tidak terlepas oleh peran auksin dan sitokinin sebagai zat pengatur tumbuh serta sukrose sebagai penyedia sumber energi. Mekanisme kerja dari zat pengatur tumbuh tersebut dapat merangsang hormon-hormon yang terkandung di dalam jaringan dan dapat melakukan stimulasi terhadap pembelahan sel yang terdapat pada sekitaran luka yang diberikan terhadap eksplan (Ulva *et al.*, 2019). Sukrose juga merupakan salah satu komponen penting yang dapat membantu proses pembelahan sel dan memicu kedinian terbentuknya kalus. Sukrose adalah salah satu dari jenis karbohidrat yang mana dapat berperan sebagai pemberi energi untuk proses pertumbuhan dan pembelahan sel serta menjadi faktor yang cukup penting dalam meningkatkan pertumbuhan dari kalus (Fauziyyah *et al.* 2012).

Kecepatan dari respon kedinian terbentuknya kalus dapat dipengaruhi oleh pemberian hormon yang tepat. Menurut Ulva *et al.* (2019), 2.4-D dapat berperan dalam memacu proses pembelahan pada jaringan meristematik dengan pemberian konsentrasi yang tepat, sedangkan apabila berlebih akan dapat berakibat terhambatnya perkembangan dari jaringan meristematik. Hormon 2.4-D yang ditambahkan BAP dapat berperan dalam proses translasi RNA dalam proses sintesis protein yang kemudian proses tersebut dilanjutkan dengan pembentukan asam-asam amino yang mana adalah komponen dari protein berupa enzim yang berperan dalam proses pembelahan sel, sehingga dengan adanya enzim-enzim tersebut yang dapat menyebabkan proses pembelahan sel menjadi lebih efektif (Hayati *et al.*, 2010).

Pada proses pembentukan kalus terhadap eksplan semuanya dapat tumbuh menjadi kalus dengan hasil yang berbeda-beda pada tiap-tiap perlakuannya.

Kesuksesan dalam pembentukan kalus sangat bergantung terhadap ketepatan dalam memilih media, kombinasi hormon yang diaplikasikan, dan kesesuaian lingkungan sekitar terhadap kondisi eksplan yang dikulturkan. Komponen-komponen tersebut menjadi syarat penting agar eksplan dapat mengalami perkembangan yang baik (Silvina *et al*, 2021).

Bertambahnya berat kalus dapat mencirikan bahwa adanya pertumbuhan terhadap kalus, sehingga selanjutnya dapat dilakukan proses pengukuran berat basah kalus. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh berat kalus terbaik pada hormon BAP dengan konsentrasi hormon 0,4 mg/L diperoleh berat 2,47 gram (B1), sedangkan pada hormon 2.4-D yang terbaik adalah pada konsentrasi hormon 5 mg/L (D1) diperoleh berat 2,85 gram. Secara fisiologis dapat dikatakan bahwa berat kalus mengandung karbohidrat dan air (Sari *et al*, 2014). Menurut Setiawati *et al*. (2019) mengatakan bahwa, interaksi antara zat pengatur tumbuh yang seimbang berupa auksin maupun sitokinin yang diaplikasikan terhadap media dapat menentukan perkembangan dari suatu kultur. Auksin dan sitokinin juga merupakan komponen penting dalam proses penambahan berat kalus yang mana dapat mempengaruhi proses pertumbuhan kultur sel, jaringan dan organ pada tanaman.

Berat kalus merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui bahwa adanya proses dari pembelahan dan perkembangan sel pada biomassa kalus. Hasil analisis yang telah dilakukan didapatkan bahwa, masing-masing hormon berpengaruh sangat nyata terhadap perkembangan berat kalus. Menurut Karjadi dan Buchory, (2008) mengatakan bahwa, perbandingan relatif antara konsentrasi zat pengatur tumbuh golongan auksin maupun sitokinin dapat mempengaruhi dan mengatur proses dari diferensiasi secara *in vitro*. Wulandari *et al*, (2022) juga mengatakan bahwa, pertumbuhan kalus embriogenik membutuhkan auksin dengan konsentrasi yang tinggi serta sitokinin yang rendah atau tanpa sitokinin untuk dapat merespon proses pembelahan sel.

Pada pengamatan akhir terhadap berat kalus diperoleh hasil yang berbeda-beda. Konsentrasi hormon BAP maupun 2.4-D dapat memberikan dampak yang sangat berarti terhadap arah perkembangan pada kalus. Menurut Nisak *et al*, (2012) menyatakan bahwa pemberian antara hormon auksin ataupun sitokinin

dapat sangat berpengaruh terhadap hasil dari bobot segar kalus. Hormon 2.4-D yang diaplikasikan terhadap eksplan dapat memacu proses dari perkembangan sel, sedangkan hormon BAP, dapat berpengaruh terhadap sel-sel yang akan terus mengalami pembelahan dan perkembangan. Hal tersebut sejalan dengan pendapat dari Afiyah *et al*, (2022) yang mengatakan bahwa hormon 2.4-D yang memiliki konsentrasi tepat akan dapat merespon dan merangsang pembelahan sel secara terus-menerus.

Media merupakan komponen yang juga menjadi faktor penting sebagai bahan pendukung dalam pemenuhan nutrisi bagi perkembangan kalus. Menurut pendapat dari Ziraluo, (2021) mengatakan bahwa keberhasilan dalam metode kultur jaringan sangat bergantung terhadap penggunaan dari media yang diaplikasikan kepada eksplan. Media kultur jaringan memiliki ketersediaan unsur hara mikro dan makro yang sangat dibutuhkan sebagai asupan nutrisi oleh eksplan. Fauzy *et al*, (2016) juga mengatakan bahwa, media menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil akhir dari berat kalus. Media menjadi sumber karbohidrat yang dapat berupa sukrose untuk menggantikan ketersediaan karbon yang biasanya didapatkan dari atmosfer melalui proses fotosintesis (Pratomo. 2016).

Media yang dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh yang tepat akan dapat memacu dan merangsang pembelahan sel yang lebih optimal terhadap pertumbuhan dari berat kalus. Berat terendah terdapat pada BAP 0,5 mg/L (B2), sedangkan 2.4-D terdapat pada 7 mg/L (D3). Menurut Mariamah *et al*, (2017) mengatakan bahwa, berat kalus yang rendah dapat diartikan karena perkembangan kalus tidak sejalan bersamaan dengan metabolit sekunder, sehingga pertumbuhan kalus menjadi lebih lambat.

Warna kalus dapat digunakan sebagai indikator penentu bahwa kalus mengalami perkembangan dan pertumbuhan atau justru mengalami kematian. Pada hasil penelitian yang telah dilakukan pada Tabel. 4.5 setiap perlakuan menunjukkan warna yang hampir sama, yaitu kuning dan kuning keputihan. Kalus yang berwarna putih ataupun kekuningan merupakan kalus yang mengalami perkembangan baik dan aktif mengalami pembelahan pada sel-selnya serta pada kalus tersebut mengandung kloroplas yang cukup tinggi (Ariati *et al*. 2012).

Sejalan dengan hal tersebut Rasud dan Bustaman, (2020) mengatakan bahwa, perubahan warna kalus dari putih menjadi kekuningan disebabkan oleh adanya sintesis zat-zat fenolik pada sel kalus. Pemberian sitokinin dalam jumlah yang cukup merupakan faktor yang dapat meningkatkan perkembangan pada kloroplas.

Warna kalus mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan pada minggu ke-12. Menurut Indah dan Ermavitalini, (2013) mengatakan bahwa, warna kalus apabila mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan dapat menandakan bahwa pada kalus tersebut terjadi *browning* yang dapat diakibatkan karena adanya proses metabolisme senyawa fenol secara berlebihan yang dapat terpengaruh dari rangsangan saat proses sterilisasi eksplan. Munculnya warna kecoklatan dapat menjadi indikasi bahwa kalus telah mengalami fase akhir. Menurut Purba *et al*, (2017) mengatakan bahwa, ciri-ciri apabila kalus mengalami perubahan warna kecoklatan atau bahkan menjadi hitam menandakan secara fisiologis kalus tersebut mati, sehingga hal tersebut dapat membuat perkembangan dan pertumbuhan pada kalus menjadi terhambat hingga mengakibatkan kematian pada jaringannya.

Pemberian hormon dan komposisi dari media yang cukup menjadi salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi hasil dari perkembangan kalus dan seberapa lama kalus dapat bertahan. Kalus yang memperoleh cukup unsur hara dan pemberian hormon yang sesuai akan lebih optimal dalam perkembangannya dan tidak cepat mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan atau *browning*. Menurut Mahadi *et al*, (2016) mengatakan bahwa pemberian hormon dan kecukupan unsur hara sangat penting dalam mempengaruhi karakteristik kalus.

Tekstur kalus pada hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap perlakuan B1D1 hingga B3D3 (Tabel 4.4) didapatkan dua macam tekstur, yaitu bertekstur remah dan kompak. Terdapat beberapa perbedaan antara tekstur kalus remah dan kompak. Menurut Wulandari *et al*, (2022) menyatakan bahwa tekstur kalus remah dicirikan dengan tekstur yang lunak, tersusun dari sel-sel renggang, mudah dipisah dan mengandung sedikit air, sedangkan pada tekstur kalus kompak bercirikan dengan tekstur yang keras dan padat, tersusun dari sel-sel kecil yang rapat, susah dipisah dan mengandung banyak air. Tekstur kalus yang remah lebih

baik digunakan sebagai perbanyakan karena memiliki sel tunggal yang cukup mudah apabila dilakukan pemisahan (Silvina *et al*, 2021).

Tekstur kalus merupakan salah satu indikator yang dapat dijadikan sebagai penentu pertumbuhan dari kalus. Terbentuknya tekstur kalus dapat dipengaruhi oleh faktor zat pengatur tumbuh dan kemampuan eksplan dalam melakukan penyerapan terhadap unsur hara yang tersedia pada media. Menurut Ariati *et al*. (2012) mengatakan bahwa, perbedaan hasil antara tekstur kalus kompak dan remah dapat dipengaruhi oleh faktor kemampuan jaringan tanaman dalam menyerap unsur hara dan penambahan zat pengatur tumbuh pada media inisiasi. Wahyuningtiyas *et al*, (2014) juga menambahkan bahwa, pemberian konsentrasi zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin pada media juga menjadi faktor yang akan dapat sangat berpengaruh terhadap pembentukan dari tekstur kalus.

Kalus embrionik dapat digunakan sebagai langkah awal dalam pembentukan embrio somatik yang selanjutnya dapat diinisiasi menjadi benih sintetik dengan pengaplikasian hormon tertentu untuk dapat merespon pertumbuhan tunas dan akar hingga menjadi tanaman yang utuh. Damayanti *et al*, (2018) mengatakan bahwa, embrio somatik merupakan salah satu tahapan dalam pembentukan perkecambahan menjadi struktur bipolar yang kemudian akan berkembang membentuk bakal akar dan tunas. Berdasarkan hasil pengamatan histologi kalus embrionik yang telah dilakukan menunjukkan bahwa, tonjolan-tonjolan yang terbentuk dan terus tumbuh membentuk bulatan-bulatan merupakan ciri-ciri dari fase globular. Menurut Herawan *et al*, (2017) mengatakan bahwa fase globular dapat dicirikan dengan bentuk seperti nodul-nodul berwarna bening dan biasanya mempunyai kemampuan yang lebih tinggi dalam membentuk embrio somatik serta bakal tunas. Embrio globular yang terbentuk mengalami perkembangan hingga ke fase berikutnya dan menuju kedalam fase embrio somatik. Pembentukan embrio somatik sangat dipengaruhi oleh pemberian zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pematangan sel embrio dan peningkatan jumlah embrio yang dihasilkan (Ernayunita dan Taryono, 2020).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Konsentrasi 2.4-D 6 mg/L merupakan konsentrasi yang terbaik pada parameter kedininian terbentuknya kalus, yaitu 23,33 hari.
2. Konsentrasi BAP 0,4 mg/L merupakan konsentrasi yang terbaik pada parameter berat kalus, yaitu 2,47 gram sedangkan untuk 2.4-D konsentrasi terbaik terdapat pada 5 mg/L, yaitu dengan berat 3,85 gram.

5.2 Saran

Kepada para peneliti selanjutnya diharapkan sangat berhati-hati saat melakukan proses sterilisasi karena apabila menggunakan eksplan daun akan sangat sensitif jika terkena goresan dan dapat mengakibatkan mudah terserang kontaminasi virus atau jamur. Penelitian selanjutnya dapat pula menggunakan jenis hormon lain untuk mengetahui apabila ada kombinasi hormon yang lebih baik dari penelitian saat ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Romman, S., Al-Hadid, K., and Arabiyyat, A. 2015. Kinetin Is the Most Effective Cytokinin on Shoot Multiplication from Cucumber. *Journal of Agricultural Science*, 7(10) : 159-165.
- Aeni, N., Salman, S., dan Sukmasari, M.D. 2017. Cara Perbanyak Vegetatif dan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pertumbuhan Tunas Pada Tanaman Jeruk Nipis. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Peternakan*, 5(2) : 180-189.
- Afifah, N., Yulia, N., Soetopo, L., dan Respatijarti. 2017. Analisis Kekerabatan Tanaman Hoya Berdasarkan Karakter Morfologi di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi-LIPI, Pasuruan-Jawa Timur. *Jurnal Produksi Tanaman*, 5(4) : 546-553.
- Afiah, N., Surya, M, I., Ismaini, L., Azizah, E., dan Saputro, N, W. (2022). Inisiasi Kalus Secara In Vitro Dari Daun *Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn. *Buletin Kebun Raya*, 25(3) : 121-130.
- Ariati, S. N., Waeniati., Muslimin dan I. N. Suwastika. (2012). Induksi kalus tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) pada media MS dengan penambahan 2,4-D, BAP dan air kelapa. *Jurnal Natural Science*. 1(1):74-84.
- Damayanti, F., Murdaningsih H.K., T. Herawati dan J.S. Darsa. 2005. Tanggapan Eksplan Batang Tiga Kultivar Lili terhadap Kombinasi BA dengan Beberapa Taraf 2,4-D pada Medium MS. *Zuriat*. 16 (1): 60-66.
- Deswanti, P., Fakhurrozi, Y., and Rahayu, S. (2008). Karakterisasi morfologi daun dan bunga beberapa varietas *Hoya coronaria* dari kawasan hutan Kerangas Air Anyir, Bangka. *EKOTONIA: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. 2(1) : 1-9. doi: 10.33019/ekotonia.v2i1.462.
- Ermayunita., dan Taryono. (2020). Perbaikan Metode Budidaya *In Vitro* Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Menggunakan *Temporary Immersion System* (TIS). *Warta PPKS*, 25(2) : 52-63.
- Fauziyyah, D., Hardiyati, D., dan Kamsinah. (2012). Upaya Memacu Pembentukan Kalus Eksplan Embrio Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) Dengan Pemberian Kombinasi 2.4-D dan Sukrosa Secara Kultur In Vitro. *Jurnal Pembangunan Pedesaan*, 12(1) : 31-37.
- Fauzy, E., Mansyur., dan Husni, A. (2016). Pengaruh Penggunaan Media Murashige dan Skoog (MS) dan Vitamin Terhadap Tekstur, Warna dan Berat Kalus Rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii Pasca Radiasi Sinar Gamma Pada Dosis LD50 (In Vitro). *Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran*. 1(2) : 1-22.
- Hayati, S, K., Nurchayati, Y., dan Setiari, N. (2010). Induksi Kalus Dari Hipokotil Alfalfa (*medicago sativa* L.) Secara in vitro Dengan Penambahan Benzyl Amino Purin (BAP) dan a-Naphtalene Acetic Acid (NAA). *BIOMA*, 12(1) : 6-12.
- Herawan, T., Na'iem, M., Indrioko, S., Indrianto, A., Haryjanto, L., dan Widowati, T, B.

- (2017). Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Pada Induksi Kalus Embriogenik Klon Cendana (*Santalum album* Linn.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 11(2) : 151-158.
- Indah, N, P., dan Ermavitalini. (2013). Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6- Benzyl Amino Purin (BAP) dan 2,4- Dichlorophenoxyacetic Acid (2.4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1) : 2337-3520.
- Irawati. 2000. Diferensiasi Berbagai Macam Eksplan Pada Perbanyakan *Philodendron goeldii* (Araceae) Secara In-Vitro. *Berita Biologi*, 5(1) : 69-75.
- Karjadi, A.K., dan Buchory, A. Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, dan Pikloram Terhadap Induksi Tunas Bawang Merah. *J. Hort*, 18(1) : 1-9.
- Karsinah, F. H. Silalahi., dan A. Manshur. 2007. Eksplorasi dan Karakterisasi Plasma Nutfah Tanaman Markisa. *J. Hort*, 17(4) : 297-306.
- Lakshmi, S., Benjamin, J., Kumar, T., Murthy, G., and Rao, M. 2010. In Vitro Propagation of *Hoya wightii* ssp. *palniensis* K.T. Mathew, a Highly Vulnerable and Endemic Species of Western Ghats of Tamil Nadu, India. *African Journal of Biotechnology*, 9(5) : 620-627.
- Lakshmi, S., Benjamin, J., Kumar, T., Murthy, G., and Rao, M. 2013. Organogenesis from in vitro-derived Leaf and Internode Explants of *Hoya wightii* ssp. *palniensis* - a Vulnerable Species of Western Ghats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(3) : 421-430.
- Mahadi, I., Syafi'i, W., dan Sari, Y. (2016). Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode in vitro, 21(2) : 84-89.
- Mariamah., Mukarlina., dan Linda, R. (2017). Pertumbuhan Kalus Tanaman Markisa (*Passiflora* sp.) Dengan Penambahan Naphtalene Acetic Acid (NAA) dan 6-Benzyl Amino Purin (BAP). *Protobiont*, 6(3) : 37-41.
- Nisak K, Tutik N, Kristanti IP. 2012. Pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT NAA dan BAP pada kultur jaringan tembakau *Nicotiana tabacum* var. Prancak 95. *Jurnal Sains dan Seni POMITS* 1(1): 1–6.
- Nuraida, D. 2012. Pemuliaan Tanaman Cepat dan Tepat Melalui Pendekatan Marka Molekuler. *El-Hayah*, 2(2) : 97-103.
- Prasad, P., Chakradhar, T., and Pullaiah, T. 2004. Micropropagation of *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult. *Taiwania*, 49(1) : 57-65.
- Pratomo, G, S. (2016). Pengaruh Jenis Media Dengan Hormon Tumbuh NAA-BAP Terhadap Pertumbuhan Dan Kandungan Flavnoid Kalus Daun *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Jurnal Surya Medika*, 1(2) : 51-56.
- Purba, R, V., Yuswanti, H., dan Astawa, I, N, G. (2017). Induksi Kalus Eksplan Daun Tanaman Anggur (*Vitis vinivera* L.) dengan aplikasi 2,4-D Secara In Vitro. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 6(2) : 218-228.

- Rahayu, S. 2006. Keanekaragaman Jenis Hoya (Asclepiadaceae) di Hutan Lindung Bukit Batikap, Kalimantan Tengah. *BIODIVERSITAS*, 7(2) : 139-142.
- Rahayu, S. 2012. Potensi dan Konservasi Jenis-Jenis Hoya Dataran Tinggi Pulau Jawa. *Berk. Penel. Hayati*, 18(1) : 1-7.
- Rasud, Y., dan Bustaman. (2020). Induksi Kalus Secara In Vitro dari Daun Cemgkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 25(1) : 67-72.
- Robika., Triadiati., dan Rahayu, S. 2015. Succulence Leaf of Hoya Species Influence the Photosynthesis Type and Drought Avoidance. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol*, 2(7) : 101-108.
- Rodda, M., Juhonewe, N., and Ercole, E. 2013. Hoya corymbosa (Apocynaceae, Asclepiadoideae), A New Unusual Species from Sabah, Borneo, and Its Systematic Position Based on Phylogenetic Analysis. *Systematic Botany*, 38(4) : 1125-1131.
- Rosita, E., Luthfi, A.M.S., Kardhinata, E.H. 2015. Pengaruh Jenis Eksplan dan Komposisi Media Terhadap Pembentukan Tunas Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) Secara In Vitro. *Jurnal Agroekoteknologi*, 4(1) : 1756-1761.
- Samudin, S. 2009. Pengaruh Kombinasi Auksin-Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Buah Naga. *Media Litbang Sulteng*, 2(1) : 62-66.
- Sari, N., Suwarsi, E, R., dan Sumadi. Optimasi Jenis dan Konsentrasi ZPT Dalam Induksi Kalus Embriogeni dan Regenerasi Menjadi Planlet Pada *Carica Pubescens* (Lenne & K.Koch). *Biosaintifika*, 6(1) : 52-59.
- Sellars, R.M., G.M. Southward, and G.C. Philips. 1990. Adventitious somatic embryogenesis from culture immature zygotic embryos of peanut and soybean. *Crop Sci*. 30(2) : 408-413.
- Setiawati, T., Ayalla, A., dan Witri, A. (2019). Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) Dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). *Jurna Edumatsains*, 3(2) : 119-132.
- Setiawati, T., Zahra, A., Budiono, R., dan Nurzaman, M. (2018). Perbanyak In Vitro Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* (L.) ev. Granola) Dengan Penambahan Meta-Topolin Pada Media Modifikasi MS (Murashige & Skoog). *Jurnal Metamorfosa*, 5(1) : 44-50.
- Sharma, M., Verma, R., Singh, A., and Batra, A. 2014. Assessment of Clonal Fidelity of *Tylophora indica* (Burm. f.) Merrill “in vitro” Plantlets by ISSR Molecular Markers. *SpringerPlus*, 3(400) : 1-9.
- Shofiyani, A., dan Purnawanto, A.M. (2017). Pertumbuhan Kalus Kencur (*Kaemferia Galanga* L) Pada Komposisi Media Dengan Perlakuan Sukrosa dan Zat Pengatur Tumbuh (2.4-D dan Benzil Aminopurin). *AGRITECH*, 9(1) : 55-64.
- Siddique, R. 2013. Micropropagation of Hoya Kerrii (Valentine Hoya) Through Callus

Induction for Long Term Conservation and Dissemination. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 2(8) : 162-164.

Silvina, F., Isnaini., dan Ningsih, W. (2021). Induksi Kalus Binahong Merah (*Basella rubra* L.) Dengan Pemberian 2.4-D dan Kinetin. *Jurnal Agro*, 8(2) : 247-285.

Sumarno., dan Zuraida, N. 2008. Pengelolaan Plasma Nutfah Tanaman Terintegrasi Dengan Program Pemuliaan. *Buletin Plasma Nutfah*, 14(2) : 57-67.

Ulva, M., Nurchayati, Y., Prihastanti, E., dan Setiari, N.(2019). Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Life Science*, 8(2) : 160-169.

Wanntorp, L., Koycan, A., dan Renner, S. 2006. Wax plants disentangled: A phylogeny of *Hoya* (Marsdenieae, Apocynaceae) inferred from nuclear and chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39 : 722–733.

Wahyuningtiyas, L., Resmisari, R, S., dan Nashichuddin, A. (2014). Induksi Kalus Akasia (*Acacia mangium*) Dengan Penambahan Kombinasi 2.4-D dan BAP Pada Media MS. *Jurnal Biologi Fakultas Sains dan Teknologi*, 1(1) : 1-10.

Wulandari, M., Abdullah., dan Netty. (2022). Ketahanan Kalus Embrio Kedelai (*Glycine max* L) Terhadap Tekanan Salinitas (NaCl) Secara In Vitro. *Jurnal Techno Eco Farming (JTEF)*, 2(1) : 9-21.

Wulandari, M, A., Silva, S., Rizky, Z, N., Sarianti, J., Zulaikha, S., Nurokhman, A., Yachya, A., Handayani, T., Syarifah., dan Afriansyah, D. (2022). Pengaruh 2.4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2.4-D) dan Benzyl Amino Purin (BAP) Terhadap Induksi Kalus Dari Berbagai Jenis Eksplan Tanaman Duku (*Lansium Domesticum* Corr.). *Stigma* 15(1) : 38-46.

Ziraluo, Y, P. (2021). Metode Perbanyakan Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batatas* Poiret) Dengan Teknik Kultur Jaringan Atau Stek Planlet. *Jurnal Inovasi Penelitian*, 2(3) : 1037-1046.

LAMPIRAN

Lampiran 1.1 Dokumentasi Penelitian



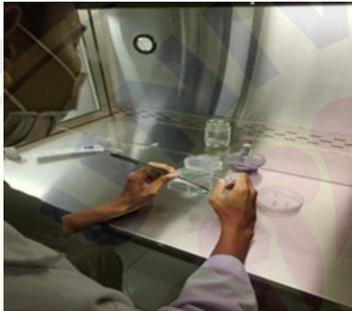
Tanaman hoya yang akan dilakukan kultur



Proses Pembuatan Media



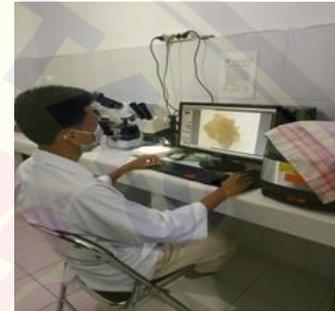
Proses Sterilisasi Alat Dengan Autoklaf



Proses penanaman eksplan pada media



Proses pemeliharaan dan pengamatan



Pengamatan perkembangan kalus

Lampiran 1.2 Hasil Analisis Data Variabel Pengamatan

A. Kedonian Terbentuknya Kalus

Tabel Anova

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3	4			
B1D1	28	28	29	29	114	28,50	0,58
B2D1	29	28	28	29	114	28,50	0,58
B3D1	29	28	28	28	113	28,25	0,50
B1D2	26	26	26	27	105	26,25	0,50
B2D2	26	27	27	27	107	26,75	0,50
B3D2	27	26	26	27	106	26,50	0,58
B1D3	22	24	23	23	92	23,00	0,82
B1D3	23	23	23	24	93	23,25	0,50
B1D3	23	24	24	24	95	23,75	0,50
Jumlah	233	234	234	238	939	234,75	

Tabel 2 Arah (Total)

x	D1(5 mg/L)	D2(6 mg/L)	D3(7 mg/L)	Rata-rata
B1	28,50	26,25	23,00	25,92
B2	28,50	26,75	23,25	26,17
B3	28,25	26,50	23,75	26,17
Rata-rata	28,42	26,50	23,33	

Hasil anova angka di belakang koma di anggap 0,0 contoh pada konsentrasi 2.4_D di dapatkan angka 0,000 artinya berbeda sangat nyata

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kedonian_Kalus

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	160,000 ^a	8	20,000	61,714	,000
Intercept	24492,250	1	24492,250	75576,086	,000
Konsentrasi_BAP	,500	2	,250	,771	,472
Konsentrasi_24D	158,167	2	79,083	244,029	,000
Konsentrasi_BAP * Konsentrasi_24D	1,333	4	,333	1,029	,410
Error	8,750	27	,324		
Total	24661,000	36			

Corrected Total	168,750	35		
-----------------	---------	----	--	--

a. R Squared = ,948 (Adjusted R Squared = ,933)

Notasi dua faktor

Kedinian_Kalus

Duncan^{a,b}

Konsentrasi_2.4-D	N	Subset		
		1	2	3
D3	12	23,3333		
D2	12		26,5000	
D1	12			28,4167
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,324.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

b. Alpha = ,05.

B. Berat Kalus

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3	4			
B1D1	2,84	2,99	2,8	2,92	11,55	2,89	0,08
B2D1	2,8	2,91	2,82	2,86	11,39	2,85	0,05
B3D1	2,79	2,83	2,81	2,8	11,23	2,81	0,02
B1D2	2,41	2,44	2,39	2,4	9,64	2,41	0,02
B2D2	2,38	2,37	2,42	2,4	9,57	2,39	0,02
B3D2	2,41	2,36	2,38	2,39	9,54	2,39	0,02
B1D3	2,17	2,08	2,14	2,11	8,5	2,13	0,04
B1D3	1,99	1,98	2,01	2,05	8,03	2,01	0,03
B1D3	2,01	2,12	2,09	2,06	8,28	2,07	0,05
Jumlah	21,8	22,08	21,86	21,99	87,73	21,9325	

Tabel 2 Arah (Total)

x	D1(5 mg/L)	D2(6 mg/L)	D3(7 mg/L)	Rata-rata
B1(0,4 mg/L)	2,89	2,41	2,13	2,47
B2(0,5 mg/L)	2,85	2,39	2,01	2,42
B3(0,6 mg/L)	2,81	2,39	2,07	2,42
Rata-rata	2,85	2,40	2,07	

Angka di belakang koma di anggap 0,0 contoh pada konsentrasi BAP 0,003 artinya berbeda sangat nyata

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Berat_kalus

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3,723 ^a	8	,465	264,083	,000
Intercept	213,793	1	213,793	121332,941	,000
Konsentrasi_BAP	,025	2	,013	7,119	,003
Konsentrasi_24D	3,681	2	1,840	1044,479	,000
Konsentrasi_BAP * Konsentrasi_24D	,017	4	,004	2,366	,078
Error	,048	27	,002		
Total	217,563	36			
Corrected Total	3,770	35			

a. R Squared = ,987 (Adjusted R Squared = ,984)

Notasi dua faktor

Berat_kalus

Duncan^{a,b}

Konsentrasi_BAP	N	Subset	
		1	2
B2	12	2,4158	
B3	12	2,4208	
B1	12		2,4742
Sig.		,773	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,002.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

b. Alpha = ,05.

Berat_kalusDuncan^{a,b}

Konsentrasi 24D	N	Subset		
		1	2	3
D3	12	2,0675		
D2	12		2,3958	
D1	12			2,8475
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,002.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

b. Alpha = ,05.

