

**Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin  
terhadap Produksi Flavonoid Kultur Kalus Daun  
Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)**

**Skripsi**



**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2022**

**Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin  
terhadap Produksi Flavonoid Kultur Kalus Daun  
Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)**

**SKRIPSI**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Sains (S. Si)  
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana



**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2022**

## **HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sarah Mega Pratenna Kaban  
NIM : 31180232  
Program studi : Biologi  
Fakultas : Bioteknologi  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (None-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

### **“PENGARUH 2,4-DIKLOROFENOKSIASETAT (2,4-D) DAN KINETIN TERHADAP PRODUKSI FLAVONOID KULTUR KALUS DAUN GINSENG JAWA (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta  
Pada Tanggal : 14 Agustus 2022

Yang menyatakan



Sarah Mega Pratenna Kaban  
NIM. 31180232

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :

Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin terhadap Produksi Flavonoid Kultur Kulit Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)

Telah diajukan dan dipertahankan oleh :

**SARAH MEGA PRATENNA KABAN**

**31180232**

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

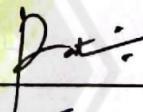
Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 13 Agustus 2022

### Nama Dosen

### Tanda Tangan

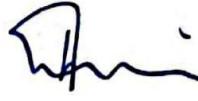
- |   |         |   |
|---|---------|---|
| 1. Prof. Dr. L. Hartanto Nugroho, M. Agr<br>(Ketua Tim Penguji / Penguji I) | : _____ |  |
| 2. Ratih Restiani, S.Si., M. Biotech<br>(Dosen Pembimbing I / Penguji II)   | : _____ |  |
| 3. Dwi Adityarini, S.Si., M. Biotech<br>(Dosen Pembimbing II / Penguji III) | : _____ |  |

Yogyakarta, 13 Agustus 2022

Disahkan Oleh:

Dekan,

Ketua Program Studi Biologi,



Drs. Guruh Prihatmo, M.S  
NIK: 874 E 055

Dr. Dhira Satwika, M.Sc.  
NIK: 904 E 146

## HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Proposal : Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin terhadap Produksi Flavonoid Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)

Nama : Sarah Mega Pratenna Kaban

NIM : 31180232

Pembimbing I : Ratih Restiani, S.Si., M. Biotech.

Pembimbing II : Dwi Aditiyarini, S.Si., M. Biotech.

Hari/Tanggal Ujian : Sabtu, 13 Agustus 2022

Disetujui oleh:

Pembimbing I



Ratih Restiani, S.Si., M. Biotech.  
NIK: 174 E 449

Pembimbing II



Dwi Aditiyarini, S.Si., M. Biotech.  
NIK: 214 E 556

Ketua Program Studi:



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.  
NIK: 904 E 146

## HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sarah Mega Pratenna Kaban

NIM : 31180232

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin terhadap Produksi Flavonoid Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)**

Adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 02 Agustus 2022



Sarah Mega Pratenna Kaban  
31180232

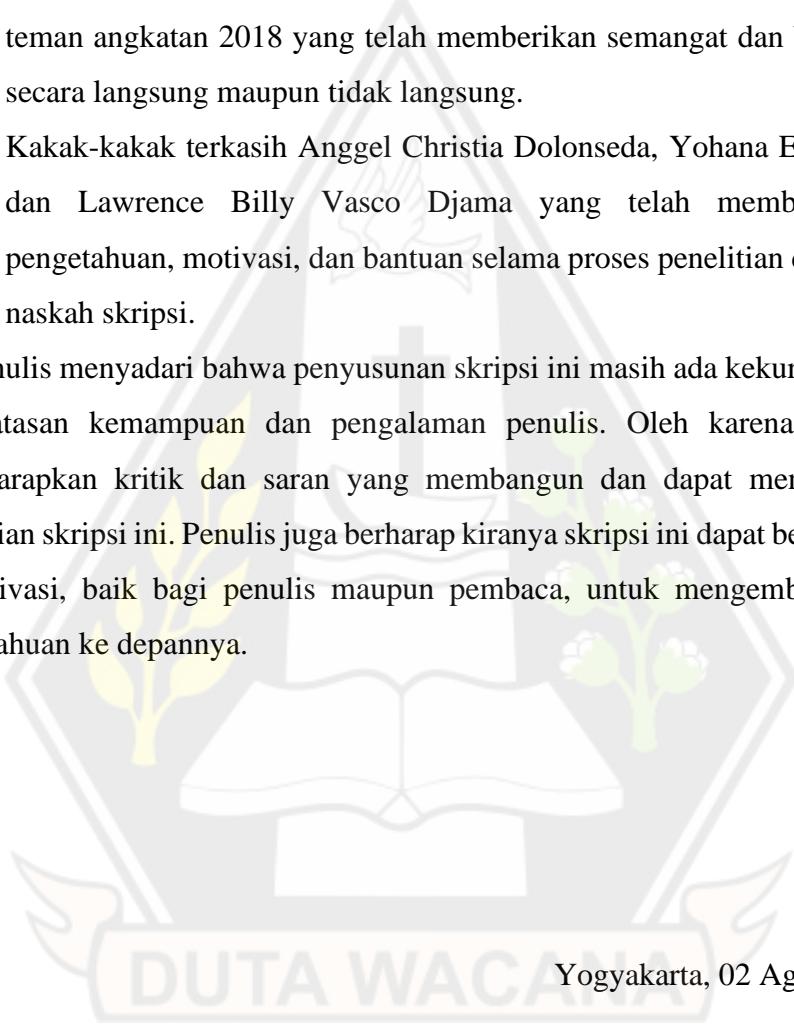
## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, atas berkat dan kasih-Nya, skripsi “Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin terhadap Produksi Flavonoid Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)” ini dapat diselesaikan dengan sebaik-baiknya. Skripsi merupakan syarat wajib bagi mahasiswa Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana untuk memperoleh gelar sarjana (S.Si). Proses penyusunan proposal, penelitian di laboratorium, hingga penulisan naskah skripsi ini berjalan dengan baik berkat bimbingan, motivasi, bantuan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas kekuatan, pertolongan, tuntunan, berkat, dan kasih-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan baik.
2. Ratih Restiani, S.Si., M.BioTech dan Dwi Adityiarini, S.Si., M.BioTech selaku dosen pembimbing pertama dan kedua yang telah membimbing, memberikan motivasi dan ilmu pengetahuan, serta kesabaran dalam membimbing penulis dalam proses penelitian hingga menyelesaikan naskah skripsi.
3. Ibu Theresia Retnowati sebagai staf Laboratorium Bioteknologi Dasar yang telah membagikan ilmu pengetahuan, membimbing, membantu, serta memotivasi selama penelitian berlangsung.
4. Seluruh dosen dan staf administrasi Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah membimbing dan membagikan ilmu yang berharga selama proses perkuliahan.
5. Keluarga tercinta Mamak Delinawati Br Sebayang, Bapak Semua Karo-Karo, Kakak Sri Inganta Br Karo, serta Adik Sifra Putri Seli Kaban, yang telah mendoakan, memberikan motivasi, kasih sayang, perhatian, bimbingan rohani, memberikan semangat, hingga membiayai perkuliahan penulis.

6. Josiah Herald Matheos dan Astrid Ayu Sekar selaku rekan penelitian dalam skripsi yang telah memberikan motivasi, bantuan, serta semangat selama proses penelitian.
7. Teman-teman terkasih Devi Ayu Prasetyoningsih, Nigel Verrell, Matthew Linardi, Wendy Elvina, Mentari Noviyanti Puteri selaku sahabat yang selalu memberikan nasihat, semangat, motivasi, dan doa bagi penulis, serta teman-teman angkatan 2018 yang telah memberikan semangat dan bantuan, baik secara langsung maupun tidak langsung.
8. Kakak-kakak terkasih Anggel Christia Dolonseda, Yohana Elsa Nathania, dan Lawrence Billy Vasco Djama yang telah membagikan ilmu pengetahuan, motivasi, dan bantuan selama proses penelitian dan penulisan naskah skripsi.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih ada kekurangan karena keterbatasan kemampuan dan pengalaman penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan dapat mengembangkan penelitian skripsi ini. Penulis juga berharap kiranya skripsi ini dapat bermanfaat dan memotivasi, baik bagi penulis maupun pembaca, untuk mengembangkan ilmu pengetahuan ke depannya.



Yogyakarta, 02 Agustus 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL DEPAN .....</b>	i
<b>HALAMAN SAMPUL DALAM .....</b>	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	iii
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN .....</b>	v
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	vi
<b>DAFTAR ISI .....</b>	viii
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	x
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	xii
<b>ABSTRAK .....</b>	xiii
<b>ABSTRACT .....</b>	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	6
2.1 Morfologi dan Klasifikasi <i>Talinum paniculatum</i> .....	6
2.2 Manfaat dan Kajian Farmakalogi <i>Talinum paniculatum</i> .....	7
2.3 Kandungan Metabolit Sekunder <i>Talinum paniculatum</i> .....	8
2.3.1 Flavonoid .....	9
2.4 Kultur <i>In Vitro</i> .....	11
2.4.1 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) .....	12
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	14
3.2 Desain Penelitian .....	14
3.3 Alat .....	15
3.4 Bahan .....	16
3.5 Cara Kerja .....	16
3.5.1 Pembuatan Media Murashige dan Skoog (MS) dan Media Perlakuan	
16	
3.5.2 Sterilisasi .....	17
3.5.3 Preparasi Eksplan .....	17
3.5.4 Inokulasi Eksplan .....	18
3.5.5 Pengamatan Kalus .....	18
3.5.6 Penentuan Biomassa Kalus .....	20
3.5.7 Ekstraksi Daun <i>Talinum paniculatum</i> .....	20

3.5.8 Ekstraksi Kalus .....	21
3.5.9 Pengukuran Kadar Flavonoid Total (TFC).....	21
3.6 Analisis Data .....	22
3.7 Alur Penelitian .....	23
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
4.1 Pertumbuhan Kalus <i>Talinum paniculatum</i> .....	24
4.2 Pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Kalus <i>T. paniculatum</i> .....	26
4.2.1 Persentase Pertumbuhan dan Waktu Inisiasi Kalus.....	26
4.2.2 Intensitas Pertumbuhan dan Morfologi Kalus <i>T. paniculatum</i> .....	29
4.2.3 Biomassa Kalus <i>T. paniculatum</i> .....	37
4.3 Pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Kadar Flavonoid Total (TFC).....	41
<b>BAB V KESIMPULAN .....</b>	<b>49</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>56</b>



## DAFTAR TABEL

<b>Nomor Tabel</b>	<b>Judul Tabel</b>	<b>Halaman</b>
3.1	Kombinasi dan Konsentrasi Kinetin dan 2,4-D	15
3.2	Skoring Intensitas Pertumbuhan Kalus	19
4.1	Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan 2,4-D terhadap Persentase Pertumbuhan dan Waktu Inisiasi Kalus selama 4 minggu pengamatan	27
4.2	Intensitas Kalus <i>T. paniculatum</i>	30
4.3	Morfologi Kalus <i>T. paniculatum</i>	33
4.4	Pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan Kinetin terhadap Kadar Flavonoid Total (TFC)	42

## DAFTAR GAMBAR

<b>Nomor Gambar</b>	<b>Judul Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1	Morfologi <i>T. paniculatum</i>	6
2.2	Biosintesis flavonoid	10
2.3	Struktur umum flavonoid	10
4.1	Pertumbuhan kalus <i>T. paniculatum</i> pada media MS dengan penambahan kinetin 1 mg/L dan 2,4-D 2 mg/L	24
4.2	Standar skoring pertumbuhan kalus	29
4.4	Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap biomassa kalus pada perlakuan kinetin 0 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 0 mg/L+2,4-D 1 mg/L, dan kinetin 0 mg/L+2,4-D 2 mg/L	37
4.5	Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap biomassa kalus pada perlakuan kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 0 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 0 mg/L, dan kinetin 2 mg/L+2,4-D 0 mg/L	39
4.6	Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap biomassa kalus pada perlakuan kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 1 mg/L, kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 2 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 1 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 2 mg/L, kinetin 2 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 2 mg/L+2,4-D 1 mg/L, dan kinetin 2 mg/L+2,4-D 2 mg/L	40
4.7	Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap kadar flavonoid total pada perlakuan kinetin 0 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 0 mg/L+2,4-D 1 mg/L, dan kinetin 0 mg/L+2,4-D 2 mg/L	43
4.8	Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap kadar flavonoid total pada perlakuan kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 0 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 0 mg/L, dan kinetin 2 mg/L+2,4-D 0 mg/L	44
4.9	Pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap kadar flavonoid total pada perlakuan kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 1 mg/L, kinetin 0,5 mg/L+2,4-D 2 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 1 mg/L, kinetin 1 mg/L+2,4-D 2 mg/L, kinetin 2 mg/L+2,4-D 0,5 mg/L, kinetin 2 mg/L+2,4-D 1 mg/L, dan kinetin 2 mg/L+2,4-D 2 mg/L	45

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Nomor Lampiran</b>	<b>Judul Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1	Tabel Komposisi Media MS ( <i>Murashige and Skoog</i> )	56
2	Perhitungan Persentase Pertumbuhan Kalus <i>T. paniculatum</i>	56
3	Data dan Analisis Statistik ANOVA Waktu Inisiasi Kalus <i>T. paniculatum</i>	57
4	Tabel Data Berat Basah Kalus <i>Talinum paniculatum</i>	59
5	Tabel Data Berat Kering Kalus <i>Talinum paniculatum</i>	60
6	Pengamatan Intensitas dan Morfologi Kalus <i>T. paniculatum</i>	61
7	Pembuatan Kurva Standar Kuersetin	66
8	Gambar Uji Flavonoid Total (TFC)	67
9	Perhitungan Kadar Flavonoid Total (TFC)	68
10	Analisis Statistik ANOVA Kadar Flavonoid Total (TFC)	71
11	Kunci Determinasi Tanaman <i>T. paniculatum</i>	73

## **ABSTRAK**

### **Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin terhadap Produksi Flavonoid Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)**

SARAH MEGA PRATENNA KABAN

*Talinum paniculatum* atau ginseng jawa termasuk dalam jenis tanaman obat. Kandungan flavonoid pada ginseng jawa menentukan berbagai aktivitas biologi, seperti meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit, antiinflamasi, dan antioksidan. Kultur *in vitro* merupakan metode yang sering digunakan untuk meningkatkan flavonoid. Zat pengatur tumbuh adalah faktor yang dapat memengaruhi produksi metabolit sekunder secara *in vitro*. Jenis ZPT yang sering digunakan dalam inisiasi kalus dan produksi flavonoid adalah 2,4-D dan kinetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus dan kandungan flavonoid pada kultur kalus ginseng jawa. Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 16 perlakuan. Inisiasi kalus dilakukan pada media *Murashige and Skoog* (MS) dengan penambahan 2,4-D dan kinetin (0, 0,5, 1, dan 2 mg/L). Uji kadar flavonoid total (TFC) menggunakan alat spektrofotometer *UV-vis*. Data dianalisis secara kualitatif melalui deskripsi hasil dan kuantitatif menggunakan *One-Way ANOVA*. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa konsentrasi kinetin 1 mg/L dan 2,4-D 2 mg/L berpengaruh terhadap peningkatan biomassa kalus sebesar 0,105 g berat kering kalus, sedangkan konsentrasi 2 mg/L kinetin dan 0 mg/L 2,4-D berpengaruh nyata terhadap peningkatan kadar flavonoid total (TFC) sebesar  $29,29 \pm 1,19$  mg (QE)/g berat kering. Pada penelitian ini, 2 mg/L kinetin dan 1 mg/L 2,4-D adalah konsentrasi yang optimal untuk meningkatkan kadar flavonoid total pada kultur kalus *T. paniculatum* sebesar  $25,66 \pm 0,98$  mg (QE)/g berat kering.

**Kata Kunci :** 2,4-D, Flavonoid, Kinetin, Kultur *In Vitro*, *Talinum paniculatum*

## **ABSTRACT**

# ***Effect of 2,4- Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and Kinetin on Flavonoid Production in Javanese Ginseng Leave (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) Callus Culture***

SARAH MEGA PRATENNA KABAN

*Talinum paniculatum* or Javanese ginseng is included in the type of medicinal plant. The flavonoid content in Javanese ginseng determines various biological activities, such as increasing the body's resistance to disease, anti-inflammatory, and antioxidant. In vitro culture is a method that is often used to increase flavonoids. Plant growth regulators can affect the production of secondary metabolites in vitro. The types of PGR that are often used in callus initiation and flavonoid production are 2,4-D and kinetin. This study aimed to examine the effect of 2,4-D and kinetin on callus growth and flavonoid content in the callus culture of Javanese ginseng. This experimental study used a completely randomized design with 16 treatments. Callus initiation was carried out on Murashige and Skoog (MS) media with the addition of 2,4-D and kinetin (0, 0.5, 1, and 2 mg/L). Total flavonoid content (TFC) was tested using a UV-vis spectrophotometer. Data were analyzed qualitatively through the results description and quantitatively using One-Way ANOVA. Based on the results of the study, it is known that the concentration of kinetin 1 mg/L and 2,4-D 2 mg/L affected increasing callus biomass by 0.105 g dry weight of callus, while the concentration of 2 mg/L kinetin and 0 mg/L 2,4-D significantly affected the increase in total flavonoid content (TFC) of  $29.29 \pm 1.19$  mg (QE)/g dry weight. In this study, 2 mg/L kinetin and 1 mg/L 2,4-D were the optimal concentrations to increase total flavonoid levels in *T. paniculatum* callus cultures by  $25.66 \pm 0.98$  mg (QE)/g dry weight.

**Keywords** : 2,4- D, Flavonoid, Kinetin, In Vitro Culture, *Talinum paniculatum*

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Tanaman obat sejak lama telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk bahan baku dalam pengobatan herbal (Suparni & Wulandari, 2012). Khasiat tanaman obat dalam pengobatan herbal ini tidak terlepas dari kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh setiap jenis tanaman. Berbagai metabolit sekunder telah banyak diteliti dapat memiliki efek farmakologi bagi kesehatan dan potensial dijadikan bahan baku pembuatan obat, seperti tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium*), pegagan (*Centella asiatica*), kepel (*Stelechocarpus burahol*), purwoceng (*Pimpinella pruatjan*), dan lain-lain (Utami & Puspaningtyas, 2013). Ginseng jawa adalah salah satu tanaman obat yang memiliki khasiat dalam pengobatan herbal dan juga penghasil metabolit sekunder.

Ginseng jawa (*Talinum paniculatum*) biasa digunakan dalam pengobatan herbal, baik sebagai bahan baku obat tradisional maupun pembuatan jamu (Wardani *et al.*, 2004) dan juga dapat dikonsumsi oleh masyarakat sebagai bahan sayur (Cunha *et al.*, 2020). Penggunaannya dalam pengobatan herbal memiliki berbagai macam manfaat, antara lain sebagai tonik, memperkuat daya tahan tubuh, sebagai anti radang, dan meningkatkan nafsu makan (Setyani *et al.*, 2016). *T. paniculatum* juga memiliki manfaat dalam peningkatan daya tahan tubuh terhadap penyakit, sebagai agen antiinflamasi, memiliki potensi androgenik, dan mampu menginduksi diferensiasi sel melalui sel reseptor (Manuhara *et al.*, 2015). Manfaat-manfaat tersebut tidak terlepas dari metabolit sekunder yang dihasilkan ginseng jawa, yaitu saponin, flavonoid, polifenol, sterol, tanin, alkaloid, dan kuinon (Manuhara *et al.*, 2015; Wardani *et al.*, 2004).

Metabolit sekunder yang dihasilkan *T. paniculatum* salah satunya adalah flavonoid. Pada umumnya, senyawa flavonoid dapat diproduksi oleh berbagai macam bagian tanaman dan memiliki beragam fungsi, seperti antioksidan, anti-asam urat, antihiperurisemia, anti hipertensi, anti-bakteri, dan anti-kanker (Habibah *et al.*, 2016).

Banyaknya manfaat dan kebutuhan manusia terhadap tanaman obat dan metabolit sekunder tersebut menyebabkan ketersediaannya di alam akan semakin menurun jika dimanfaatkan secara intensif dalam jangka waktu yang lama tanpa disertai dengan budidaya yang berkelanjutan (Fejér *et al.*, 2018). Kondisi lingkungan seperti perubahan iklim dan kondisi geografis, penggunaan pestisida, dan penyakit pada tanaman juga dapat memengaruhi ketersediaan metabolit sekunder, baik dari segi kualitas maupun kuantitas, dari habitat asli ataupun dari tanaman budidaya. Selain itu, produksi atau ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari tanaman obat secara langsung masih relatif rendah sehingga kebutuhannya dalam jumlah besar belum dapat mencukupi ((Shkondrov *et al.*, 2019); (Martinez *et al.*, 2021)). Oleh karena itu, untuk menjamin ketersediaannya di alam agar dapat berkelanjutan serta kualitas dan kuantitas metabolit sekundernya dapat terpenuhi maka diperlukan pendekatan bioteknologi melalui kultur *in vitro*.

Kultur *in vitro* adalah metode yang dapat diterapkan dalam multiplikasi tanaman dengan cara menginokulasikan eksplan ke dalam media secara aseptik pada lingkungan yang dapat dikontrol (Mastuti, 2017). Perbanyakan tanaman melalui metode ini dapat menghasilkan tanaman dalam kuantitas yang besar pada waktu yang relatif singkat (Mastuti *et al.*, 2021). Selain itu, kultur *in vitro* tidak hanya berfungsi dalam memperbanyak tanaman secara klonal, tetapi juga dapat dimanfaatkan untuk memproduksi kandungan metabolit sekunder yang beragam dan dapat dikontrol kondisi lingkungannya seperti faktor iklim, karakteristik tanah sebagai media tanam, serta gangguan serangga dan mikroorganisme (Setiawati *et al.*, 2020). Menurut penelitian Marchev *et al.* (2014) kultur *in vitro* dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder tanaman melalui pengubahan

jalur biosintesis metabolit sekunder. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kultur *in vitro* mampu memproduksi dan meningkatkan senyawa metabolit sekunder pada tanaman, khususnya pada *T. paniculatum*.

Wardani *et al.* (2004), membuktikan bahwa optimasi kultur kalus *T. paniculatum* secara *in vitro* dengan penambahan 1,5 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L kinetin dapat meningkatkan kadar saponin. Penelitian Erin *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa penambahan *indole butyric acid* (IBA) dan ethepon secara *in vitro* dapat meningkatkan kadar saponin melalui kultur akar adventif. Berdasarkan ketebalan noda, perlakuan dengan penambahan IBA 2 mg/L dan ethephon 1 mg/L memiliki noda paling tebal, sedangkan berdasarkan luas nodanya, kandungan saponin terbesar ditemukan pada perlakuan IBA 1 mg/L dan ethephon 1 mg/L yaitu sebesar  $0,38 \text{ cm}^2/0,01 \text{ g}$  berat kering. Manuhara *et al.* (2015) melaporkan penambahan sukrosa dan potassium nitrat melalui kultur rambut akar menggunakan *balloon-type bubble bioreactor* (BTBB) dapat memengaruhi akumulasi saponin. Berdasarkan penelitian tersebut kandungan saponin maksimum terdapat pada media dengan penambahan sukrosa sebesar 5%. Selain itu, ada pula beberapa penelitian yang dilakukan untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder pada *T. paniculatum* dengan menggunakan elisitor secara *in vitro*. Penelitian Pono *et al.* (2021) melaporkan bahwa penambahan asam salisilat 0,30 mM selama 6 hari waktu inkubasi menghasilkan kandungan saponin dengan luas noda sebesar  $0,565 \text{ cm}^2$ . Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Wijaya *et al.* (2020) menunjukkan bahwa elisitasi 100 mg/L kitosan dalam waktu 7 hari pada *T. paniculatum* juga dapat meningkatkan produksi saponin dengan luas noda sebesar  $0,495 \text{ cm}^2$ . Berdasarkan berbagai penelitian sebelumnya mengenai optimasi produksi metabolit sekunder pada *T. paniculatum* secara *in vitro*, belum ada penelitian yang secara khusus mengoptimasi produksi flavonoid pada kultur kalus *T. paniculatum*.

Penerapan kultur *in vitro* dalam memproduksi metabolit sekunder dipengaruhi oleh faktor media, zat pengatur tumbuh (ZPT), elisitor, prekursor, nutrisi maupun pengendalian lingkungan media dan kultur (Sutini *et al.*, 2020). Diantara beberapa faktor tersebut, ZPT berperan penting dalam merangsang produksi metabolit sekunder. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Habibah *et al.*, (2016) yang mengoptimasi Picloram sebanyak 7,5 mg/L ke dalam kultur kalus tanaman *Stelechocarpus burahol* dan menghasilkan peningkatan flavonoid sebesar 45%. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Bong *et al.* (2021) yang mengoptimasi 2,4-D sebanyak 0,25 mg/L dan BAP sebanyak 0,25 mg/L ke dalam kultur suspensi sel *Clinacanthus nutans* mampu meningkatkan senyawa fenolik dan mengakumulasi beberapa jenis senyawa flavonoid. Berdasarkan penelitian Purwianingsih *et al.* (2016) kultur kalus *Chrysanthemum cinerariaefolium* pada media 2,4-D 4 mg/L dan kinetin 0 mg/L dapat memproduksi kalus secara optimal yang mengandung metabolit sekunder flavonoid khususnya quercetin. Selain itu, kultur kalus *Chrysanthemum morifolium* pada konsentrasi 3 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin dan 4 mg/L 2,4-D menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai prekursor alkaloid, fenolik, dan flavonoid (Setiawati *et al.*, 2020).

Berdasarkan studi sebelumnya menunjukkan bahwa, pada kultur *in vitro*, jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan memengaruhi peningkatan metabolit sekunder. Meskipun ZPT golongan auksin dan sitokinin sudah terbukti dapat meningkatkan flavonoid pada kultur *in vitro* tanaman lain tetapi penggunaan 2,4-D dan kinetin dalam meningkatkan kandungan flavonoid pada kultur kalus *T. paniculatum* belum pernah diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini akan mengkaji pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus dan kandungan flavonoid pada kultur kalus *T. paniculatum*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apa pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus eksplan daun *T. paniculatum* (Jacq.) Gaertn?
2. Apa pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap produksi flavonoid dalam kalus eksplan daun *T. paniculatum* (Jacq.) Gaertn?
3. Berapa konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang optimal terhadap produksi flavonoid dalam kalus eksplan daun *T. paniculatum* (Jacq.) Gaertn?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap pertumbuhan kalus eksplan daun *T. paniculatum* (Jacq.) Gaertn.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi 2,4-D dan kinetin terhadap produksi flavonoid dalam kalus eksplan daun *T. paniculatum* (Jacq.) Gaertn.
3. Mengetahui konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang optimal terhadap produksi flavonoid dalam kalus eksplan daun *T. paniculatum* (Jacq.) Gaertn.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat dalam pengembangan ilmu dan pengetahuan terkait optimasi produksi flavonoid yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan herbal. Selain itu, hal ini juga dapat dimanfaatkan sebagai informasi dasar bagi pengembangan teknologi dalam produksi flavonoid secara masif.

## **BAB V**

### **SIMPULAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Konsentrasi kinetin 1 mg/L dan 2,4-D 2 mg/L berpengaruh terhadap peningkatan biomassa kalus sebesar 0,105 g berat kering kalus dan konsentrasi kinetin 0,5 mg/L dan 2,4-D 0 mg/L biomassa mengalami penurunan sebesar 0,008 g berat kering kalus.
2. Konsentrasi kinetin 2 mg/L dan 2,4-D 0 mg/L berpengaruh dalam meningkatkan kadar flavonoid total (TFC) sebesar  $29,29 \pm 1,19$  mg (QE)/g dan konsentrasi kinetin 0,5 mg/L dan 2,4-D 2 mg/L kadar flavonoid total (TFC) mengalami penurunan sebesar  $8,55 \pm 0,30$  mg (QE)/g BK.
3. Konsentrasi ZPT yang optimal dalam meningkatkan flavonoid dalam kultur kalus *T. paniculatum* adalah kinetin 2 mg/L dan 2,4-D 1 mg/L.

#### **5.2 Saran**

1. Disarankan untuk menginduksi kalus pada media yang optimal terlebih dahulu sebelum disubkulturkan pada media perlakuan sehingga intensitas kalus yang terbentuk lebih besar dan mencukupi kebutuhan kalus saat melakukan ekstraksi sampel dan uji kadar flavonoid total (TFC).
2. Disarankan untuk memperpanjang fase pertumbuhan kalus hingga mencapai fase log dan stasioner untuk melihat kadar flavonoid total (TFC) yang lebih optimal.
3. Disarankan untuk menguji jenis-jenis flavonoid yang dihasilkan melalui kultur kalus daun *T. paniculatum*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agostini-Costa, T. d., Vieira, R. F., Bizzo, H. R., Silveira, D., & Gimenes, M. A. (2012). Secondary Metabolites. In S. Dhanarasu, *Chromatography and Its Applications* (pp. 131-164). Books on Demand.
- Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniaستuti, A., Lisdiana, H. N. W., Bintari, S. H. (2018). *Metabolit Sekunder dari Tanaman: Aplikasi dan Produksi*. Semarang: FMIPA UNNES.
- Ariani, R., Anggraito, Y. U., & Rahayu, E. S. (2016). Respon Pembentukan Kalus Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.) pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D DAN BAP. *Jurnal MIPA*, 20-28.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas, dan Aktioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 21-29.
- Bong, F. J., Chear, N. J., Ramanathan, S., Mohana-Kumaran, N., Subramaniam, S., & Chew, B. L. (2021). The development of callus and cell suspension cultures of Sabah Snake Grass (*Clinacanthus nutans*) for the production of flavonoids and phenolics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1-13.
- Cerdeira, C. D., Silva, J. J., Netto, M. F., Boriollo, M. F., Moraes, G. O., Santos, G. B., Brigagão, M. R. (2020). *Talinum paniculatum*: A Plant with Antifungal Potential Mitigates Fluconazole-induced Oxidative Damage-mediated Growth Inhibition of *Candida albicans*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, 401-431.
- Cunha, M. A., Paraguassu, L. A., Assis, J. G., Silva, A. B., & Cardoso, R. C. (2020). Urban Gardening and Neglected and Underutilized Species in Salvador, Bahia, Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*.
- Erin, N. N., Junairah, & Manuhara, Y. S. (2020). The Effect of IBA and Ethepon on Growth and Saponin Content of *Talinum paniculatum* Gaertn. Adventitious Root In Vitro. *Ecology, Environment, and Conservation*, 9-13.
- Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A., & García-Lara, S. (2018). In Vitro Plant Tissue Culture: Means for Production of Biological Active Compounds. *Planta*, 1-18.
- Fejér, J., Gruľová, D., Feo, V. D., Ūrgeová, E., Obert, B., & Pret'ová, A. (2018). *Mentha × piperita* L. Nodal Segments Cultures and Their Essential Oil Production. *Industrial Crops and Products*, 550-555.

- Gamage, R., Hasanthi, K., & Kumari, K. (2017). A Comparative Study on In Vitro Antibacterial Activity of Different Leaf Extracts of Medicinal Plant *Talinum paniculatum*. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research*.
- Habibah, N. A., Moeljopawiro, S., Dewi, K., & Indrianto, A. (2016). Flavonoid Production in Callus Cultures from Mesocarp of *Stelechocarpus burahol*. *Biosaintifika*, 214-221.
- Harmanto. (2007). *Herbal Untuk Keluarga*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Hendriyani, E., Warseno, T., & Undaharta, N. K. (2020). Pengaruh Jenis Eksplan dan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) terhadap Induksi Kalus *Begonia bimaensis* Undaharta & Ardaka secara In Vitro. *Buletin Kebun Raya*, 82-90.
- Hidayat, S., Wahyuni, S., & Andalusia, S. (2008). *Tumbuhan Obat Berpotensi Hias (1)*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Indah, P. N., & Ermavitalini, D. (2013). Induksi Kalus Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada Beberapa Kombinasi Konsentrasi 6-Benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*.
- Jamwal, K., Bhattacharya, S., & Puri, S. (2017). Plant Growth Regulator Mediated Consequences of Secondary in Medical Plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1-13.
- Jedinak, A., Farago, J., Psenakova, I., & Maliar, T. (2004). Approaches to Flavonoid Production in Plant Tissue Cultures. *Biologia - Section Cellular and Molecular Biology*, 697-710.
- Julianti, R. F., Nurchayati, Y., & Setiari, N. (2021). Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dalam Medium MS terhadap Kandungan Flavonoid Kalus Tomat (*Solanum lycopersicum* syn. *Lycopersicum esculentum*). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 141-149.
- Kim, D. O., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant Capacity of Phenolic Phytochemicals from Various Cultivars of Plums. *Food Chemistry*, 321-326.
- Lestari, E. G. (2015). Peran Thidiazuron dalam Peningkatan Kemampuan Proliferasi Tanaman secara In Vitro. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 87-93.
- Lestario, L. N., Christian, A. E., & Martono, Y. (2009). Aktivitas Antioksidan Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn). *Agritech*, 71-78.

- 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 (JIPI)*, 84-89.
- Manuhara, Y. S. (2001). Regenerasi Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L. Var Morakot) Melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal MIPA Universitas Airlanggga*, 127-130.
- Manuhara, Y. S., Kristanti, A. N., Utami, E. S., & Yachya, A. (2015). Effect of Sucrose and Potassium Nitrate on Biomass and Saponin Content of *Talinum paniculatum* Gaertn. Hairy Root in Balloon-type Bubble Bioreactor. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1027-1032.
- Marchev, A., Haas, C., Schulz, S., Georgiev, V., Steingroewer, J., Bley, T., & Pavlov, A. (2014). Sage *in vitro* cultures: a promising tool for the production of bioactive terpenes and phenolic substances. *Biotechnol Lett*, 211-221.
- Martinez, M. E., Jorquera, L., Poirrier, P., Díaz, K., & Chamy, R. (2021). Effect of the Carbon Source and Plant Growth Regulators (PGRs) in the Induction and Maintenance of an *In Vitro* Callus Culture of *Taraxacum officinale* (L) Weber Ex F.H. Wigg. *Agronomy*, 1-17.
- Masoumian, M., Ariff, A., Ahmad, S., & Maziah, M. (2011). Flavonoids Production in *Hydrocotyle bonariensis* Callus Tissues. *Journal of Medicinal Plants Research*, 1564-1574.
- Mastuti, R. (2017). *Dasar-Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Malang: UB Press.
- Mastuti, R., Batoro, J., & Waluyo, B. (2021). Pengaruh Elisitor Kitosan terhadap Kandungan Withanolid Tunas *In Vitro* Akses Tanaman *Physalis angulata* L. dari Pulau Madura. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 1-13.
- Munarti, & Surti, K. (2014). Pengaruh Konsentrasi IAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Stek Mikro Kentang secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Biologi*, 17-25.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*.
- Murthy, H. N., Lee, E.-J., & Paek, K.-Y. (2014). Production of Secondary Metabolites from Cell and Organ Cultures: Strategies and Approaches for Biomass Improvement and Metabolite Accumulation. *Plant Cell Tissue Organ Culture*.
- Nugroho, L. H., Sumardi, I., Wisnu, M., & Anggraeny, R. N. (2007). Distribusi dan Profil Kromatogram Minyak Atsiri pada Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang Ditumbuhkan secara *In Vitro* dan *In Vivo*. *Berkala Ilmiah Biologi*, 87-95.

- Park, J. S., Seong, Z. K., Kim, M. S., Ha, J. H., Moon, K. B., Lee, H. J., Kim, H. S. (2020). Production of Flavonoids in Callus Cultures of *Sophora flavescens* Aiton. *Plants*, 1-13.
- Pierik, R. L. (2010). *In Vitro Culture of Higher Plants*. Springer Netherlands.
- Pono, P., Restiani, R., & Aditayarini, D. (2021). Elisitasi Saponin dalam Kultur Kalus Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) Menggunakan Asam Salisilat. *Sciscitacio*, 45-53.
- Prashariska, K., Pitoyo, A., & Solichatun. (2021). Pengaruh *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) dan *Benzyl Amino Purine* (BAP) terhadap Induksi dan Deteksi Alkaloid Kalus Kamilen (*Matricaria chamomilla* L.). *Innofarm: Jurnal Inovasi Pertanian*, 104-114.
- Purwianingsih, W., Febri, S., & Kusdianti. (2016). Formation Flavonoid Secondary Metabolites in Callus Culture of *Chrysanthemum cinerariefolium* as Alternative Provision Medicine. *AIP Publishing*.
- Rahayu, B., Solichatun, & Anggarwulan, E. (2003). Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Biofarmasi*, 1-6.
- Rasud, Y., & Bustaman. (2020). Induksi Kalus secara *In Vitro* dari Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 67-72.
- Ravanfar, S. A., Karimi, E., Mehrabanjoubani, P., & Ebrahimi, M. (2018). Enhancement of Phenolic and Flavonoids Compounds, Antioxidant, and Cytotoxic Effects in Regenerated Red Cabbage by Application of Zeatin. *Natural Product Research*, 1-5.
- Rivai, R. R., & Helmanto, H. (2015). Induksi Kalus *Crhysanthemum indicum* untuk Meningkatkan Keragaman Genetik dari Sel Somatik. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 167-170.
- Royani, I., Zulkifli, L., & Sedijani, P. (2015). Induksi Kalus Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Varietas Kelinci dengan Perlakuan 2,4-D dan BAP. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 69-76.
- Sari, Y. P., Kusumawati, E., Saleh, C., Kustiawan, W., & Sukartingsih. (2018). Effect of Sucrose and Plant Growth Regulators on Callogenesis and Preliminary Secondary Metabolic of Different Explant *Myrmecodia tuberosa*. *Nusantara Bioscience*, 183-192.

- Sayd, S. S., & Shakour, Z. T. (2014). Phenolic Content and Related Antioxidant Activities in in vitro Cultures of *Cephalotaxus Harringtonia* L. Grown in Egypt. *Life Science Journal*, 990-996.
- Seswita, D. (2010). Som Jawa (*Talinum paniculatum*) Ginseng Indonesia Penyembuh Berbagai Penyakit. *WARTA Penelitian dan Pengembangan Tanaman*.
- Setiawati, T., Ayalla, A., Nurzaman, M., A.Kusumaningtyas, V., & Bari, I. (2020). Analisis Metabolit Sekunder Kultur Pucuk, Kalus, dan Tanaman Lapang *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Jurnal Ilmu Dasar*, 1-10.
- Setyani, W., Setyowati, H., & Ayuningtyas, D. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Terstandardisasi Daun Som Jawa (*Talinum paniculatum*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 44-51.
- Setyowati, H., & Setyani, W. (2019). Formulation of Chewable Lozenges of Som Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn) Leaves Extract Applied for *Candida albicans* Topical Infection. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 14-23.
- Sharma, G. K., Jagetiya, S., & Dashora, R. (2015). *General Techniques of Plant Tissue Culture*. United States: Lulu Press Inc.
- Shkondrov, A., Krasteva, I., Ionkova, I., Popova, P., Zarev, Y., Mihaylova, R., & Konstantinov, S. (2019). Production of Saponins from In Vitro Cultures of *Astragalus glycyphyllos* and Their Antineoplastic Activity. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 1413-1418.
- Suaib, & Sadimantara, I. G. (2014). *Kultur Jaringan Tanaman*. Kendari: Sulo Printing.
- Suparni, I., & Wulandari, A. (2012). *Herbal Nusantara: 1001 Ramuan Asli Indonesia*. Yogyakarta: ANDI.
- Sutini, Widuwurjani, Augustien, N., Guniarti, Pribadi, D. H., & Purwanto, D. A. (2020). Teknologi Kultur *In Vitro* untuk Produksi Metabolit Sekunder dan Pengembangan Tanaman yang Tahan Terhadap Perubahan Iklim. *Seminar Nasional Magister Agroteknologi Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Jawa Timur*, 30-36.
- Tan, S. H., Musa, R., Ariff, A., & Maziah, M. (2010). Effect of Plant Growth Regulators on Callus, Cell Suspension, and Cell Line. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* , 284-299.
- Ulva, M., Nurchayati, Y., Prihastanti, E., & Setiari, N. (2019). Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Varietas Permata F1 dari Jenis

- Eksplan dan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda secara *In Vitro*. *Life Science*, 160-169.
- Utami, P., & Puspaningtyas, D. E. (2013). *The Miracle of Herbs*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Wahyuni, S., & Hadipoentyanti, E. (1999). Karakteristik *Talinum paniculatum* Gaertn. dan *Talinum triangulare* Willd. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 5-6.
- Wardani, D. P., Solichatun, & Setyawan, A. D. (2004). Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4-Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Biofarmasi*, 35-43.
- Wijaya, R., Restiani, R., & Adityarini, D. (2020). Pengaruh Kitosan terhadap Produksi Saponin Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.). *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19*, 253-262.
- Xu, L. (2018). De Novo Root Regeneration from Leaf Explants: Wounding, Auxin, and Cell Fate Transition. *Current Opinion in Plant Biology*, 29-45.
- Yelnititis. (2012). Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 181-194.