



## Induksi Kalus Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D secara *In Vitro*

## Callus Induction of Gambir Plant (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) in Some 2,4-D Concentration Through *In Vitro*

Aprissilia Taifani Galuh Utomo<sup>1</sup>, Aprizal Zainal<sup>\*2</sup>, Yusniwati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

\*Penulis Korespondensi

Email: [ap\\_zainal@yahoo.com](mailto:ap_zainal@yahoo.com)

**Abstrak.** Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Robx.) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti katekin, floursein, asam catechutannat dan quercetin yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami, antioksidan, dan biopestisida. Tanaman gambir diperbanyak secara generatif melalui biji sehingga anakan yang dihasilkan memiliki tingkat variabilitas genetik yang tinggi. Teknologi kultur jaringan melalui kultur kalus mampu menyediakan kebutuhan bibit dalam jumlah yang banyak dengan sifat seragam dalam waktu singkat. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi 2,4-D terbaik serta pengaruhnya terhadap proses pembentukan dan pertumbuhan kalus eksplan gambir. Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan pemberian 2,4-D yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2 mg/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan daun gambir mampu membentuk kalus pada seluruh konsentrasi 2,4-D yang diberikan. Terbentuknya kalus tercepat didapatkan pada pemberian konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/L pada 17,86 HST dengan warna kalus putih kekuningan sebesar 56,7% dan bertekstur remah sebesar 76,7%.

**Kata kunci:** 2,4-D, BAP, katekin, kalus, proliferasi

**Abstract.** Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Robx.) contains secondary metabolite compounds such as catechins, floursein, catechutannic acid, and quercetin that can be utilized as natural dyes, antioxidants, and biopesticides. Gambir plants are propagated generatively through seeds so that the resulting saplings have a high level of genetic variability. In a short amount of time, callus culture using tissue culture technologies can produce vast numbers of uniformly shaped seedlings. This study was to determine the best concentration of 2,4-D and its effect on the formation and growth of gambier explant callus. The research design used a completely randomized design with the provision of 2,4-D consisting of 5 treatment levels, namely 0; 0.5; 1; 1.5; and 2 mg/L. The results indicated that gambir leaf explants were able to form callus at all concentrations of 2,4-D given. The concentration of 0.5 mg/L 2,4-D produced the fastest callus development at 17.86 days after planting, with whitish-yellowing callus color by 56.7% and friable texture by 76.7%.

**Keywords:** 2,4-D, BAP, catechin, callus, proliferation

### 1. Pendahuluan

Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) tergolong tanaman berbunga hasil hutan bukan kayu yang bernilai ekonomis. Bagian gambir yang dimanfaatkan adalah daun dan ranting yang

berkhasiat sebagai anti-oksidan, anti-bakteri, biopestisida, bahan baku industri tekstil dan penyamak kulit (Anggraini *et al.*, 2011; Dhalimi, 2006). Bagian tanaman tersebut memiliki kandungan *quercetin*, katekin, asam *catechutannat*, dan *flourescein* (Aditya & Ariyanti, 2016). Gambir merupakan komoditas unggulan Sumatera barat dalam memenuhi kebutuhan ekspor (Hardianti *et al.*, 2020; Yudha, 2017). Indonesia mengekspor 96,88% gambir dan Sumatera Barat menyumbang sebanyak 16.375 Kg pada tahun 2021 (Hendra, 2023). Menurut (BPS Sumatra Barat, 2023) luas perkebunan gambir tahun 2022 adalah 28.837 Ha dengan hasil panen yang diperoleh yaitu 13.877 ton/Ha. Ketersediaan bibit gambir berkualitas perlu diupayakan untuk memenuhi permintaan gambir yang terus meningkat setiap tahunnya. Namun, produktivitas gambir masih tergolong rendah yaitu 481,222 kg/Ha. Rendahnya produktivitas gambir disebabkan oleh konservasi, teknik budidaya dan pengolahan lahan yang dilakukan secara konvensional (Zainal *et al.*, 2023).

Petani Sumatra Barat menggunakan bibit gambir yang dibudidayakan secara konvensional melalui biji. Akibatnya mutu fisiologis dan kesehatan tanaman sering terabaikan, sifat yang diturunkan tidak seragam, tahan terhadap penyakit yang diwariskan dari induk, dan keragaman yang tinggi di lapangan akibat persilangan bebas oleh tanaman (Vujnović *et al.*, 2023; Zainal *et al.*, 2020).

Teknologi perbanyakan massal diperlukan untuk mendukung produksi bibit unggul gambir. Perbanyakan secara *in vitro* dapat digunakan karena sistem ini memiliki keunggulan untuk memperoleh tanaman baru dengan sifat serupa induknya (seragam), varietas tanaman yang homogen untuk klon atau bibit unggul (Kumar & Reddy, 2011; Xu *et al.*, 2022). Bhoite and Palshikar (2014); Zaman *et al.* (2021) menambahkan bahwa kultur jaringan mampu memproduksi tanaman bebas penyakit, bibit massa dalam kurun waktu yang lebih singkat, serta dapat meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder tanaman.

Auksin dan sitokinin merupakan fitohormon yang dapat tersedia secara alami atau disintesis secara artifisial di dalam media kultur. dapat memengaruhi arah perkembangan eksplan (Phillips & Garda, 2019). 2,4-*Dichlorophenoxyacetic Acid* tergolong auksin yang tidak terpengaruh oleh cahaya, bersifat stabil, dan tahan terhadap kerusakan akibat pemanasan selama sterilisasi. Auksin digunakan untuk mendorong pembelahan dan pemanjangan sel pada kalus, produksi senyawa metabolit sekunder yang lebih tinggi serta merangsang pertumbuhan akar pada eksplan. *Benzyl amino purin* merupakan golongan sitokinin yang mampu menstimulasi terjadinya proliferasi kalus lebih cepat dengan melakukan pemanjangan dan pembelahan sel serta dapat merangsang kalus bertunas (Rahayu *et al.*, 2003; Rosyidah *et al.*, 2014)

Sari (2009) melaporkan bahwa pemberian 10 mg/L 2,4-D + 5 mg/L Kinetin mampu membentuk kalus gambir dengan berat basah 368,77 mg/botol. Pemberian NAA 0,1 mg/L dan BAP 2,5 mg/L pada media kultur juga mampu membentuk 100% eksplan berkalus pada 19,60 HST (Mahmud, 2021). Penggunaan 2,4-D pada famili rubiaceae juga diteliti oleh Rahimah (2021). Hasil penelitian pada kopi arabika varietas Sigarar Utang menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D 2 mg/L + BAP 1 mg/L dapat membentuk 100% eksplan berkalus. Penggunaan 2,4-D perlu diteliti lebih lanjut dalam induksi kalus gambir varietas Udang. Penelitian bertujuan untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D terbaik serta pengaruhnya terhadap proses pembentukan dan pertumbuhan kalus eksplan daun gambir.

## 2. Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan bulan Januari–April 2023 bertempat di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas. Bahan penelitian adalah daun muda dari Planlet gambir varietas Udang, *Murashiige and Skoog Basal Medium with Vitamins*<sup>®</sup>, Sukrosa, 2,4-D, *bactoagar*, aquadest steril, *Benzyl Amino Purin* (BAP), alkohol 96% dan 70%, disinfektan (bahan aktif NaOCl 5,25%), plastik kaca, tisu, karet dan plastik wrapping. Alat penelitian adalah *hot plate magnetic stirrer*, gelas ukur, pinset, gunting, *timbangan analitik*, *Laminar Air Flow Cabinet*, spatula, *scalpel*, bunsen, botol kultur, erlenmeyer, *petridish*, kertas pH, autoklaf, dan alat tulis.

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi 2,4-*Dichlorophenoxy Acid* (2,4-D) yaitu A<sub>1</sub> : 0 mg/L; A<sub>2</sub> : 0,5 mg/L; A<sub>3</sub> : 1 mg/L; A<sub>4</sub> : 1,5 mg/L; dan A<sub>5</sub> : 2 mg/L. Perlakuan diulang sebanyak 5 kali dan terdapat 6 botol kultur pada setiap ulangan. Eksplan diinkubasi pada rak kultur selama 8 Minggu.

Pembuatan media tanam dilakukan dengan memasukan 300 ml aquades, 4,43 g/L *Murashiige and Skoog Basal Medium with Vitamins*<sup>®</sup>, 30 mg/L sukrosa, 1 mg/L BAP dan 2,4-D sesuai perlakuan kedalam Erlenmeyer. Selanjutnya 8 g/L *bactoagar* ditambahkan pada media dan volume larutan dicukupkan hingga 1 liter. Larutan kemudian dihomogenkan hingga mendidih menggunakan *hotplate magnetic stirrer* kecepatan 700 rpm. Larutan sebanyak 10 ml ditambahkan kedalam botol kultur, kemudian ditutup rapat. Media di sterilisasi selama 15 menit menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 Psi.

Penanaman dilakukan di dalam LAFC yang sudah disterilisasikan menggunakan alkohol 70%. Daun muda dengan panjang  $\pm$  1 cm diambil menggunakan pinset dan bagian ujung daun digunting. Potongan eksplan ditanam dengan posisi daun adaxial menyentuh media. Perkembangan eksplan diamati dengan mengumpulkan data waktu pertama kalus muncul, persentase eksplan membentuk kalus (%), dan morfologi kalus. Uji F digunakan untuk

menganalisis data pada taraf nyata 5%. Apabila nilai  $Pr(>F)$  kurang dari 5%, analisis dilanjutkan menggunakan uji DNMRT (Duncan's New Multiple Range Test) dengan taraf 5%.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Waktu Muncul Kalus

Analisis variabel waktu muncul kalus didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata pada uji F taraf 5% (Tabel 1). Zat pengatur tumbuh 2,4-D yang diaplikasikan pada media MS mampu membentuk kalus eksplan gambir pada umur 17 – 24 HST. Media yang diberi 2,4-D menyebabkan terjadinya perubahan rasio auksin endogen, sehingga eksplan dapat menghasilkan kalus.

Tabel 1. Rata-rata waktu muncul kalus eksplan daun gambir dengan pemberian beberapa konsentrasi ZPT 2,4-D;

Konsentrasi 2,4-D (mg/L)	Waktu Muncul Kalus (HST)
0,0	24,76
0,5	17,86
1,0	20,64
1,5	19,56
2,0	20,30

**KK : 17,96%**

Angka-angka yang tertera pada kolom waktu muncul kalus menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji F pada taraf 5%,

Pada Tabel 1, media tanpa pemberian 2,4-D berhasil membentuk kalus pada 24,76 HST. Pembentukan kalus pada perlakuan tersebut lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan ZPT 2,4-D. Kalus pada media tanpa pemberian 2,4-D (0 mg/L) dengan penambahan BAP (1 mg/L) menunjukkan bahwa eksplan gambir mampu merespon sitokinin eksogen yang diberikan. Hal ini juga ditemukan pada penelitian Adri (2017) bahwa dengan pemberian 0,1 mg/L kinetin secara tunggal tanpa ditambahkan dengan 2,4-D eksplan gambir mampu membentuk kalus pada 8 MST.

Kalus muncul disebabkan oleh adanya respon eksplan yang bersifat meristematis terhadap media pertumbuhan yang diberikan. Daun muda gambir diduga mengandung auksin yang tinggi sehingga kalus dapat terbentuk walaupun auksin tidak ditambahkan pada media kultur. Sesuai dengan pernyataan Asra *et al.* (2020), auksin disintesis di dekat maristem pucuk dan jaringan-jaringan yang masih muda. Selain auksin, sitokinin juga merupakan faktor yang dapat memengaruhi pembentukan kalus. Kombinasi auksin dan sitokinin yang seimbang mampu meningkatkan laju pembentukan kalus pada tanaman (Purnamaningsih & Ashira, 2011).

Konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/L dapat merangsang terbentuknya kalus gambir pada 17,86 HST. Hal ini diduga karena auksin endogen pada tanaman gambir cukup tinggi sehingga hanya memerlukan sedikit konsentrasi auksin eksogen untuk dapat membentuk kalus. Kombinasi antara konsentrasi sitokinin dan auksin yang tepat dapat meningkatkan respon terhadap waktu

pembentukan kalus dibandingkan penggunaan sitokinin atau auksin secara tunggal (Junairiah *et al.*, 2018). Salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan waktu dalam pembentukan kalus adalah kemampuan eksplan untuk menanggapi nutrisi dan hara yang diberikan. Pernyataan ini juga dikemukakan oleh Yulianti *et al.* (2014) bahwa respon dari eksplan akan berbeda tergantung pada ZPT yang digunakan.

Pelukaan yang terjadi akibat dari proses penanaman pada eksplan menyebabkan nutrisi pada media berupa BAP dan 2,4-D dapat berdifusi ke dalam sel-sel sehingga membantu sel melakukan pembelahan. Rosyidah *et al.* (2014) menyatakan bahwa BAP dan 2,4-D mengaktifkan pompa proton berupa ion  $H^+$  untuk membantu pelunakan dinding sel pada membran plasma sehingga pH membran plasma dapat bersifat asam yaitu mendekati pH 4,5. Ikatan hidrogen dapat disebabkan oleh pompa proton yang aktif di dalam mikrofibril selulosa pada dinding sel eksplan gambir. Ketika ikatan hidrogen terputus, tekanan dinding sel akan berkurang, sehingga sel melentur. Perluasan sel pada jaringan tanaman dapat disebabkan oleh pecahnya berbagai protein/polisakarida yang berdifusi melalui dinding sel yang rapuh dan fleksibel akibat dari keasaman yang rendah (Hayati *et al.*, 2010).

### 3.2. Persentase Eksplan Hidup Membentuk Kalus (%)

Hasil analisis variabel persentase eksplan hidup membentuk kalus menunjukkan pengaruh yang berbeda signifikan berdasarkan uji DNMRT taraf 5% (Tabel 2). Zat pengatur tumbuh 2,4-D di dalam media pertumbuhan memiliki dampak yang signifikan terhadap perkembangan kalus pada eksplan. Media tanpa 2,4-D mampu membentuk 38% eksplan kalus. Respon berbeda ditunjukkan pada media dengan konsentrasi 0,5 sampai 2 mg/L 2,4-D yang berhasil menghasilkan 100% eksplan berkalus.

Tabel 2. Persentase eksplan daun gambir yang mampu membentuk kalus pada beberapa konsentrasi ZPT 2,4-D;

Konsentrasi 2,4-D (mg/L)	Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)
0,0	38 b
0,5	100 a
1,0	100 a
1,5	100 a
2,0	100 a

**KK : 7,94%**

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata berdasarkan hasil analisis uji DNMRT pada taraf nyata 5%.

Tingginya persentase terbentuknya kalus menandakan bahwa 2,4-D mampu mendorong terjadinya pembelahan sel pada jaringan tanaman dan memproses dediferensiasi untuk menginduksi kalus secara optimal. 2,4-D dapat memengaruhi metabolisme RNA dan merangsang pertumbuhan dan perkembangan kalus dengan mengatur metabolisme protein selama proses

transkripsi molekul RNA. 2,4-D membantu proses permeabilitas sel terhadap air, mengurangi tekanan pada dinding sel, dan meningkatkan tekanan osmotik (Robles-Martínez *et al.*, 2016) Sintesis protein yang meningkat memengaruhi pertumbuhan kalus dan meningkatkan pasokan energi untuk pertumbuhan kalus (Maftuchah *et al.*, 1998 dalam Rahayu *et al.*, 2003)

Rendahnya persentase terbentuknya kalus pada perlakuan tanpa 2,4-D diduga karena eksplan mengalami stagnansi. Stagnansi pada eksplan merupakan keadaan dimana eksplan tidak mati tetapi juga tidak mengalami pertumbuhan dimulai dari setelah penanaman hingga batas waktu tertentu. Sukamto *et al.* (2017) menjelaskan bahwasanya kemampuan dan respon jaringan tanaman akan berbeda-beda dalam beregenerasi dan berkembang dalam kultur *in vitro*. Oleh karena itu, agar pembelahan sel dapat terjadi dengan cepat diperlukan konsentrasi yang seimbang antara zat pengatur tumbuh sitokinin dan auksin.

### 3.3. Morfologi Kalus

Kualitas suatu kalus ditentukan berdasarkan warna dan tekstur yang dapat dilihat secara visual pada kalus. Berdasarkan hasil pengamatan, penambahan ZPT 2,4-D pada media dasar menunjukkan respon yang tidak sama terhadap warna dan tekstur kalus (Tabel 3). Kalus yang memiliki pigmen berwarna terang menunjukkan bahwa kalus tumbuh dan berkembang dengan baik. Sebaliknya, pigmen berwarna gelap menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus kurang baik atau tidak baik. Perubahan warna pada kalus menunjukkan bahwa sel mengalami fase pertumbuhan yang berbeda (Gambar 1).

Tabel 3. Data Hasil Pengamatan Secara Visual Terhadap Warna dan Tekstur Kalus Gambir Pada Pemberian ZPT 2,4-D;

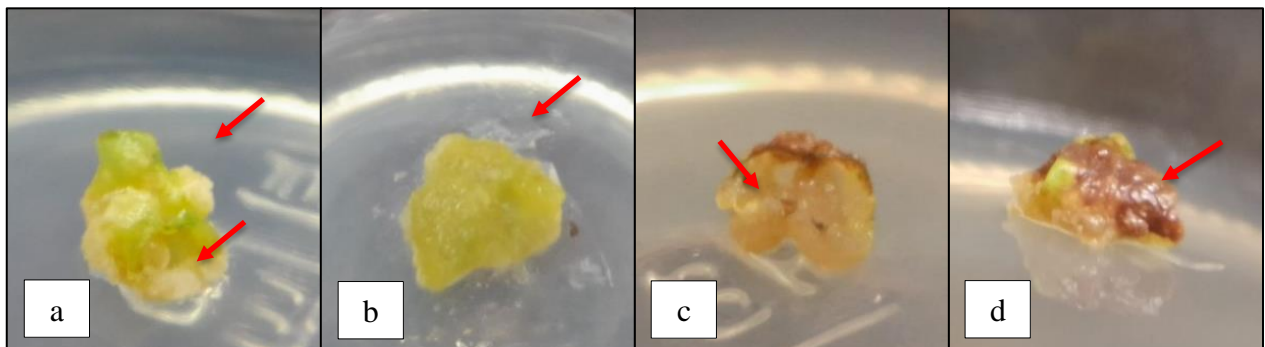
Konsentrasi 2,4-D (mg/L)	Warna Kalus	Tekstur Kalus
0	Putih Kekuningan, Putih Kecoklatan	Kompak
0,5	Putih, Putih Kekuningan, Putih Kecoklatan	Kompak, Dominan Remah
1	Putih Kekuningan, Putih Kecoklatan, Coklat	Kompak, Dominan Remah
1,5	Putih, Putih Kekuningan, Putih Kecoklatan	Kompak, Dominan Remah
2	Putih, Putih Kekuningan, Putih Kecoklatan, Coklat	Kompak, Dominan Remah

Warna putih kekuningan pada kalus menunjukkan bahwa sel aktif membelah (Sorentina *et al.*, 2013). Kalus yang berwarna terang merupakan jaringan embriogenik dimana sel tersebut memiliki polisakarida simpanan dalam bentuk pati dan berpotensi menjadi kalus embriogenik (Ariati *et al.*, 2012; Rusdianto & Indrianto, 2012).

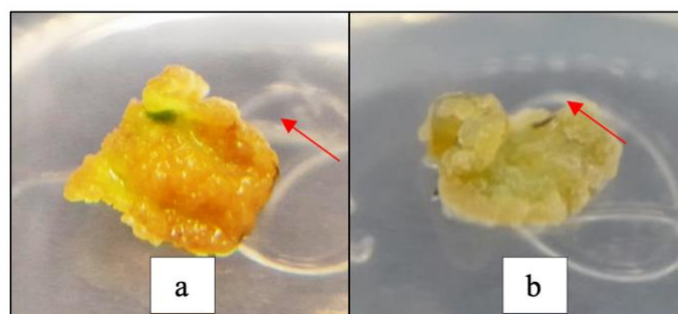
Kalus berwarna coklat atau coklat kehitaman tidak dapat meregenerasi sel, sehingga disebut sebagai kalus non-embriogenik. Perubahan warna menjadi kecoklatan atau menghitam (*browning*) merupakan tanda bahwa terjadi penurunan kemampuan hidup pada kalus. *Browning* merupakan hal umum yang terjadi pada eksplan tanaman berkayu (Hutami, 2008).

Marlin *et al.* (2012) mengemukakan bahwa tanaman yang telah dilukai akan menghasilkan bahan kimia fenolik yang apabila terakumulasi dalam media akan membatasi penyerapan nutrisi oleh eksplan sehingga menyebabkan kematian eksplan. Kuinon yang bersifat racun akan terbentuk ketika senyawa fenol mengalami oksidasi sehingga sel-sel tanaman akan mati. Menurut Ru *et al.* (2013) metabolisme *Reactive Oxygen Species* yang tidak seimbang memicu terjadinya *browning*. Hal ini terjadi akibat aktivitas pada enzim peroksidase di membran lipid yang menyebabkan hilangnya keutuhan membran sel sehingga senyawa fenolik berakumulasi secara berlebihan. Mellidou *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa permeabilitas membran sel yang berubah akan memulai proses pigmentasi atau pencoklatan akibat substrat dan enzim keluar dari sitosol

Pencoklatan pada kalus juga dapat disebabkan oleh respons kalus terhadap lingkungan tumbuh atau ketika kalus memasuki fase stasioner (kematian sel akibat penuaan). Penambahan BAP menghambat perombakan protein dan butir-butir pati di dalam sel sehingga memperlambat proses penuaan (senesen) sel (Sari & Isda, 2021).



Gambar 1. Warna yang terdapat pada kalus gambir pada pemberian 2,4-D umur 8 MST. a) kalus warna putih (2,4-D konsentrasi 0,5 mg/L), b) kalus warna putih kekuningan (2,4-D konsentrasi 1,5 mg/L), c) kalus warna putih kecoklatan (2,4-D konsentrasi 2 mg/L) d) kalus warna coklat (2,4-D konsentrasi 1 mg/L)



Gambar 2. Tekstur yang terbentuk pada kalus gambir pada pemberian 2,4-D umur 8 MST. a) kalus bertekstur kompak (2,4-D konsentrasi 1 mg/L), b) kalus bertekstur remah (2,4-D konsentrasi 0,5 mg/L).

Sugiyarto *and* Kuswandi (2014) menyatakan bahwa komposisi media, sumber eksplan dan ZPT yang digunakan memengaruhi tekstur kalus yang terbentuk. Proses osmosis memungkinkan air untuk menembus dinding sel ketika terdapat ZPT golongan auksin pada media tumbuh. Selain itu, auksin mampu meningkatkan plastisitas dinding sel sehingga terjadi pemanjangan sel, serta meningkatkan aerasi oksigen di dalam sel (Budisantoso *et al.*, 2017).

Tekstur pada kalus memengaruhi proses pembelahan sel pada eksplan. Pada penelitian ini, tekstur kalus yang diperoleh adalah kalus remah dan kompak. Tekstur kalus pada eksplan gambir dapat dilihat pada Gambar 2. Pembelahan sel akan lebih cepat terjadi pada kalus bertekstur remah dibandingkan dengan pembelahan sel yang terjadi pada kalus bertekstur kompak (Junairiah *et al.*, 2019). Wahyuni *et al.* (2020) menjelaskan pada kalus bertekstur remah, hubungan antar sel yang dimiliki rapuh dan celah antar sel besar, serta dinding sel belum mengalami lignifikasi sehingga memudahkan pemisahan kalus. Kalus dengan tekstur kompak sulit untuk dipisahkan karena mempunyai hubungan antar sel yang rapat. Chaniago *and* Harahap (2018) juga menyampaikan bahwa sel-sel yang membelah dengan aktif pada awalnya tetapi setelah itu menunjukkan penurunan aktivitas proliferasi akan menghasilkan kalus yang kompak.

#### 4. Kesimpulan

Zat pengatur tumbuh 2,4-D memiliki kemampuan menghasilkan kalus eksplan gambir pada pemberian beberapa konsentrasi ketika dikombinasikan dengan 1 mg/L BAP. Terbentuknya kalus tercepat didapatkan pada pemberian konsentrasi 0,5 mg/L 2,4-D pada umur 17,86 HST dengan warna kalus putih kekuningan sebesar 56,7% dan bertekstur remah sebesar 76,7%.

#### Daftar Pustaka

- Aditya, M., & Ariyanti, P. R. (2016). Manfaat Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai Antioksidan. *Majority*, 5(3), 129. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:89798429>
- Adri, R. F. (2017). Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Menara Ilmu*, 11(75), 155–165. <https://jurnal.umsb.ac.id/index.php/menarailmu/article/view/156>
- Anggraini, T., Tai, A., Yoshino, T., & Itani, T. (2011). Antioxidative activity and catechin content of four kinds of *Uncaria gambir* extracts from West Sumatra, Indonesia. *African Journal of Biochemistry Research*, 5(1), 33–38. <https://academicjournals.org/journal/AJBR/article-full-text-pdf/11A9BF212127>
- Ariati, S. N., Suwastika, I. N., Waeniati, & Muslimin. (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. <https://doi.org/10.22487/25411969.2012.v1.i1.1022> <https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/ejurnal/mipa/article/view/1022>
- Asra, R., Samarlina, R. A., & Silalahi, M. (2020). *Hormon Tumbuhan*. UKI Press. <http://repository.uki.ac.id/id/eprint/1579%0A>
- Bhoite, H. A., & Palshikar, G. S. (2014). Plant Tissue Culture: A Review. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(6), 520–294. <https://www.wjpsonline.com/index.php/wjps/article/view/plant-tissue-culture-review>
- BPS Sumatra Barat. (2023). *Luas Lahan dan Produksi Gambir Menurut Kabupaten/Kota di*



- Provinsi Sumatera Barat 2020-2022*. <https://sumbar.bps.go.id/indicator/54/597/1/luas-lahan-dan-produksi-gambir-menurut-kabupaten-kota-di-provinsi-sumatera-barat.html>
- Budisantoso, I., Amalia, N., & Kamsinah, K. (2017). In Vitro Callus Induction from Leaf Explants of *Vanda* sp Stimulated by 2,4-D. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(3), 492–497. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i3.11018>
- Chaniago, Y. D. S., & Harahap, F. (2018). Pertumbuhan Kalus pada Eksplan Batang Manggis (*Garcinia mangostana* L. ) yang Ditanam Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Dan Pembelajarannya*. <https://digilib.unimed.ac.id/id/eprint/35514/1/Article.pdf>
- Dhalimi, A. (2006). Permasalahan Gambir (*Uncaria gambir* L.) di Sumatera Barat dan Alternatif Pemecahannya. *Perspektif: Review Penelitian Tanaman Industri*, 5(1), 46–59. <https://media.neliti.com/media/publications/158899-ID-permasalahan-gambir-uncaria-gambir-l-di.pdf>
- Hardianti, D., Ibnuusina, F., & Alfikri. (2020). Sistem pemasaran gambir dengan pendekatan scp (Structure, Condoct, Performance) Di Kecamatan Kapur IX, Kabupaten Lima Puluh Kota. *Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh*, 447–463. <http://repository.pppnp.ac.id/id/eprint/521>
- Hayati, S. K., Nurchayati, Y., & Setiari, N. (2010). Induksi Kalus dari Hipokotil Alfalfa (*medicago sativa* l.) secara in vitro dengan Penambahan Benzyl Amino Purine (BAP) dan  $\alpha$ -Naphtalene Acetic Acid (NAA). *Bioma*, 12(1), 6–12. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/bioma/article/view/3350>
- Hendra, M. N. (2023). *Dua Tahun Terakhir, Produksi Komoditas Gambir di Sumbar Meningkatkan Signifikan*. *Bisnis Sumatra*. <https://sumatra.bisnis.com/read/20230314/534/1637291/dua-tahun-terakhir-produksi-komoditas-gambir-di-sumbar-meningkat-signifikan>
- Hutami, S. (2008). Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 4(2), 83–88. <https://doi.org/10.21082/jbio.v4n2.2008.p83-88>
- Junairiah, Rachmah, A., Manuhara, Y. S. W., Ni'matuzahroh, Sulistyorini, L., & Surahmaida. (2019). Pengaruh Hormon Indole Butyric Acid (IBA) dan 6-Benzyl Amino Purin (BAP) terhadap Induksi Kalus *Piper betle* L. var *Nigra*. *Journal of Pharmacy and Science*, 4(2), 85–90. <https://doi.org/10.53342/pharmasci.v4i2.141> [http://repository.akfarsurabaya.ac.id/274/2/Artikel\\_pengaruh%20hormon%20indole%20butiric%20acid.pdf](http://repository.akfarsurabaya.ac.id/274/2/Artikel_pengaruh%20hormon%20indole%20butiric%20acid.pdf)
- Junairiah, Sofiana, D. A., Manuhara, Y. S. W., & Surahmaida. (2018). Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl. dengan Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Sitokinin. *Journal of Pharmacy and Science*, 3(2), 41–46. <https://www.neliti.com/id/publications/346158/induksi-kalus-piper-retrofractum-vahl-dengan-zat-pengatur-tumbuh-auksin-dan-sito>
- Kumar, N., & Reddy, M. P. (2011). In vitro Plant Propagation: A Review. *Journal of Forest Science*, 27(2), 61–72. <https://doi.org/10.7747/JFS.2011.27.2.1>
- Mahmud, S. (2021). *Induksi Tunas dari Eksplan Tanaman Gambir (Uncaria gambir (Hunter) Roxb) Pada Beberapa Konsentrasi BAP Secara In Vitro* [Thesis]. <http://scholar.unand.ac.id/92918/>
- Marlin, Yulian, & Hermansyah. (2012). Inisiasi kalus embriogenik pada kultur jantung pisang 'curup' dengan pemberian sukrosa, bap dan 2,4-D. *Jurnal Agrivigor*, 11(2), 276–284. [https://repository.unib.ac.id/6959/1/008-AGRIVIGOR AGUSTUS 2012 HAL 276-284 edit des-2.pdf](https://repository.unib.ac.id/6959/1/008-AGRIVIGOR%20AGUSTUS%202012%20HAL%20276-284%20edit%20des-2.pdf)
- Mellidou, I., Buts, K., Hatoum, D., Ho, Q. T., Johnston, J. W., Watkins, C. B., ..., & Nicolai, B. M. (2014). Transcriptomic events associated with internal browning of apple during postharvest storage. *BMC Plant Biology*, 14(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0328-x>
- Phillips, G. C., & Garda, M. (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 55(3), 242–257.

<https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>

- Purnamaningsih, R., & Ashira, M. (2011). Pengaruh BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus dan Kandungan Artemisinin Dari *Artemisia annua* L. *Berita Biologi*, 10(4), 481–489. [https://biologyjournal.brin.go.id/index.php/berita\\_biologi/article/view/766](https://biologyjournal.brin.go.id/index.php/berita_biologi/article/view/766)
- 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(1), 11. <https://doi.org/10.13057/biofar/f010101>
- Rahimah, L. (2021). *Induksi Kalus Kopi Arabika (Coffea arabica L.) Melalui Aplikasi 2,4-Diklorofenoksi Asetat dan Benzil Amino Purin Secara In Vitro* [Thesis]. <http://scholar.unand.ac.id/id/eprint/74773>
- Robles-Martínez, M., Barba-De la Rosa, A. P., Guéraud, F., Negre-Salvayre, A., Rossignol, M., & Santos-Díaz, M. D. S. (2016). Establishment of callus and cell suspensions of wild and domesticated *Opuntia* species: study on their potential as a source of metabolite production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 124(1), 181–189. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0886-0>
- Rosyidah, M., Ratnasari, E., & Rahayu, Y. (2014). Induksi kalus daun melati (*Jasminum sambac*) dengan penambahan berbagai konsentrasi Dichlorophenoxyacetic Acid (2, 4-D) dan 6-Benzylamino Purin (BAP) pada media MS secara In Vitro. *Jurnal Biologi*, 3(3), 147–153. <https://core.ac.uk/download/pdf/230675457.pdf>
- Ru, Z., Lai, Y., Xu, C., & Li, L. (2013). Polyphenol Oxidase (PPO) in Early Stage of Browning of *Phalaenopsis* Leaf Explants. *Journal of Agricultural Science*, 5(9), 57–64. <https://doi.org/10.5539/jas.v5n9p57>
- Rusdianto, & Indrianto, A. (2012). Induksi Kalus Embriogenik pada Wortel (*Daucus carota* L.) Menggunakan 2,4-Diclorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Bionature*, 13(2), 136–140. <https://ojs.unm.ac.id/bionature/article/view/1439>
- Sari, D. Y. I. (2009). Pengaruh Sumber Eksplan dan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Pembentukan Kalus Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Sainmatika : Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 6(1). <https://doi.org/10.31851/sainmatika.v6i1.790> <https://jurnal.univpgri-palembang.ac.id/index.php/sainmatika/article/view/790>
- Sari, M., & Isda, M. N. (2021). The Response of Callus Formation from *Tacca Chantrieri* Leaves with Various Concentrations of 2,4-D and BAP by In Vitro. *Jurnal Biologi UNAND*, 9(1), 8. <https://doi.org/10.25077/jbioua.9.1.8-17.2021>
- Sorentina, M. S. M., Haliani, H., Muslimin, M., & Suwastika, I. N. (2013). Induksi kalus bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) lokal palu pada medium MS dengan penambahan 2,4-D (2,4-asam dikloropenoksi asetat) dan air kelapa. *Online Jurnal of Natural Science*, 2(2), 55–63. <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/ejurnalfmipa/article/view/1646/1090> <https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/ejurnalfmipa/article/view/1646>
- Sugiyarto, L., & Kuswandi, P. C. (2014). Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Benzyl Aminopurin (BAP) terhadap pertumbuhan kalus daun binahong (*Anredera cordifolia* L.) serta analisis kandungan flavonoid total. *Jurnal Penelitian Saintek*, 19(1), 23–30. <https://journal.uny.ac.id/index.php/saintek/article/view/2322>
- Sukamto, D. S., Maharani, L., & Lestari, I. P. (2017). Perbandingan Konsentrasi ZPT (BAP dan NAA) Pada Media MS Terhadap Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Muda Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). *Jurnal Bionature*, 18(2), 123–128. <https://doi.org/10.35580/bionature.v18i2.6143>
- Vujnović, Z., Bogdan, S., Lanšćak, M., Markić, A. G., Zorić, N., Bogunović, S., & Ivanković, M. (2023). Preliminary Work on Generative Seedling Production and Clone Selection of European Black Poplar (*Populus nigra* L.). *South-East European Forestry*, 14(1), 101–109. <https://doi.org/10.15177/seefer.23-02>
- Wahyuni, A., Satria, B., & Zainal, A. (2020). Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara

- In Vitro. *Agrosains : Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), 39. <https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>
- Xu, J. J., Beleski, D. G., & Vendrame, W. A. (2022). Effects of culture methods and plant growth regulators on in vitro propagation of *Brassavola nodosa* (L.) Lindl. hybrid. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 58(6), 931–941. <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10276-7>
- Yudha, A. P. (2017). *Peluang Ekspor Gambir dan Biji Pinang*. In Kementerian Perdagangan (p. 8). <https://issuu.com/wartaekspor/docs/052017>
- Yulianti, F., Purwito, A., Husni, A., & Dinarti, D. (2015). Induksi Tetraploid Tunas Pucuk Jeruk Siam Simadu (*Citrus nobilis* Lour) Menggunakan Kolkisin secara In Vitro. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 43(1), 66–71. <https://doi.org/10.24831/jai.v43i1.9593>
- Zainal, A., Anwar, A., Gustian, Fitriawati, & Yunita, R. (2023). The Effects of Several Concentrations of BAP and Source of Explants to Gambier Shoot Induction (*Uncaria gambier* (Hunter) Roxb). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1160. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1160/1/012021>
- Zainal, A., Anwar, A., & Lopita, S. (2020). Identification of Gambier Plant [*Uncaria gambier* [Hunter] Roxb] Pollination System. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 497. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/497/1/012009>
- Zaman, M. A. K., Azzeme, A. M., Ramle, I. K., Normanshah, N., Shaharuddin, N. A., Ahmad, S., & Abdullah, S. N. A. (2021). Prolonged incubation of callus on auxin herbicide 2,4-D displayed significant effect on alkaloid production in callus of the woody medicinal plant *Polyalthia bullata*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 57(5), 749–759. <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10194-0>