

**Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus
Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.)**

Skripsi



Ditha Klarissa Sutan

31210435

Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2025

**Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus
Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.)**

Skripsi

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



Ditha Klarissa Sutan

31210435

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi**

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2025

PERNYATAAN PENYERAHAN KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ditha Klarissa Sutan
NIM/NIP/NIDN : 31210435
Program Studi : Biologi
Judul Karya Ilmiah : Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap
Pertumbuhan Kalus Sambiloto (*Andrographis paniculata*
L.)

dengan ini menyatakan:

- a. bahwa karya yang saya serahkan ini merupakan revisi terakhir yang telah disetujui pembimbing/promotor/reviewer.
- b. bahwa karya saya dengan judul di atas adalah asli dan belum pernah diajukan oleh siapa pun untuk mendapatkan gelar akademik baik di Universitas Kristen Duta Wacana maupun di universitas/institusi lain.
- c. bahwa karya saya dengan judul di atas sepenuhnya adalah hasil karya tulis saya sendiri dan bebas dari plagiasi. Karya atau pendapat pihak lain yang digunakan sebagai rujukan dalam naskah ini telah dikutip sesuai dengan kaidah penulisan ilmiah yang berlaku.
- d. bahwa saya bersedia bertanggung jawab dan menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku berupa pencabutan gelar akademik jika di kemudian hari didapati bahwa saya melakukan tindakan plagiasi dalam karya saya ini.
- e. bahwa Universitas Kristen Duta Wacana tidak dapat diberi sanksi atau tuntutan hukum atas pelanggaran hak kekayaan intelektual atau jika terjadi pelanggaran lain dalam karya saya ini. Segala tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran dalam karya saya ini akan menjadi tanggung jawab saya pribadi, tanpa melibatkan pihak Universitas Kristen Duta Wacana.
- f. menyerahkan hak bebas royalti noneksklusif kepada Universitas Kristen Duta Wacana, untuk menyimpan, melestarikan, mengalihkan dalam media/format lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), dan mengunggahnya di Repositori UKDW tanpa perlu meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan pemilik hak cipta atas karya saya di atas, untuk kepentingan akademis dan pengembangan ilmu pengetahuan.
- g. bahwa saya bertanggung jawab menyampaikan secara tertulis kepada Universitas Kristen Duta Wacana jika di kemudian hari terdapat perubahan hak cipta atas karya saya ini.

h. bahwa meskipun telah dilakukan pelestarian sebaik-baiknya, Universitas Kristen Duta Wacana tidak bertanggung jawab atas kehilangan atau kerusakan karya atau metadata selama disimpan di Repositori UKDW.

i. mengajukan agar karya saya ini: *(pilih salah satu)*

- ☒ Dapat diakses tanpa embargo.
- ☐ Dapat diakses setelah 2 tahun.*
- ☐ Embargo permanen.*

Embargo: penutupan sementara akses karya ilmiah.

*Halaman judul, abstrak, dan daftar pustaka tetap wajib dibuka.

Alasan embargo *(bisa lebih dari satu)*:

- ☐ dalam proses pengajuan paten.
- ☐ akan dipresentasikan sebagai makalah dalam seminar nasional/internasional.**
- ☒ akan diterbitkan dalam jurnal nasional/internasional.**
- ☐ telah dipresentasikan sebagai makalah dalam seminar nasional/internasional ... dan diterbitkan dalam prosiding pada bulan ... tahun ... dengan DOI/URL ... ***
- ☐ telah diterbitkan dalam jurnal ... dengan DOI/URL artikel ... atau vol./no. ... ***
- ☐ berisi topik sensitif, data perusahaan/pribadi atau informasi yang membahayakan keamanan nasional.
- ☐ berisi materi yang mengandung hak cipta atau hak kekayaan intelektual pihak lain.
- ☐ terikat perjanjian kerahasiaan dengan perusahaan/organisasi lain di luar Universitas Kristen Duta Wacana selama periode tertentu.
- ☐ Lainnya (mohon dijelaskan)

**Setelah diterbitkan, mohon informasikan keterangan publikasinya ke repository@staff.ukdw.ac.id.

***Tuliskan informasi kegiatan atau publikasinya dengan lengkap.

Yogyakarta, 10 November 2025

Mengetahui,

Yang menyatakan,

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

Ditha Klarissa Sutan
31210435



LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Skripsi dengan judul:

**Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Sambiloto
(*Andrographis paniculata* L.)**

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

DITHA KLARISSA SUTAN

31210435

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 10 November 2025

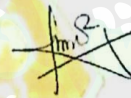
Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

(Ketua Tim Penguji)

:



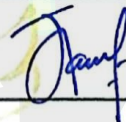
2. Ratih Restiani, S.Si., M.Biotech.

(Dosen Pembimbing I/Anggota Tim Penguji) :



3. Dwi Aditiyarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc.

(Dosen Pembimbing II/Anggota Tim Penguji) :



Yogyakarta, 10 November 2025

Disahkan oleh:

Dekan,

Ketua Program Studi,



Dr. Charis Amarantini, M.Si.

NIK. 914 E 155



Dwi Aditiyarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc.

NIK. 214 E 556

LEMBAR PERSETUJUAN NASKAH SKRIPSI

Judul Skripsi : Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan Kalus Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.)

Nama : Ditha Klarissa Sutan

NIM : 31210435

Pembimbing 1 : Ratih Restiani, S.Si., M.Biotech.

Pembimbing 2 : Dwi Aditiyarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc.

Hari/Tanggal Ujian : Minggu, 9 November 2025

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


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


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

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi,


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

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ditha Klarissa Sutan

NIM : 31210435

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.)

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan dari suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan 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, 7 November 2025

37ANX097820410

(Ditha Klarissa Sutan)

NIM: 31210435

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.)” dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program studi Bioteknologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana. Dinamika penulisan skripsi ini tentu tidak mudah, penulis mengalami berbagai kendala serta tantangan yang cukup menguji. Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

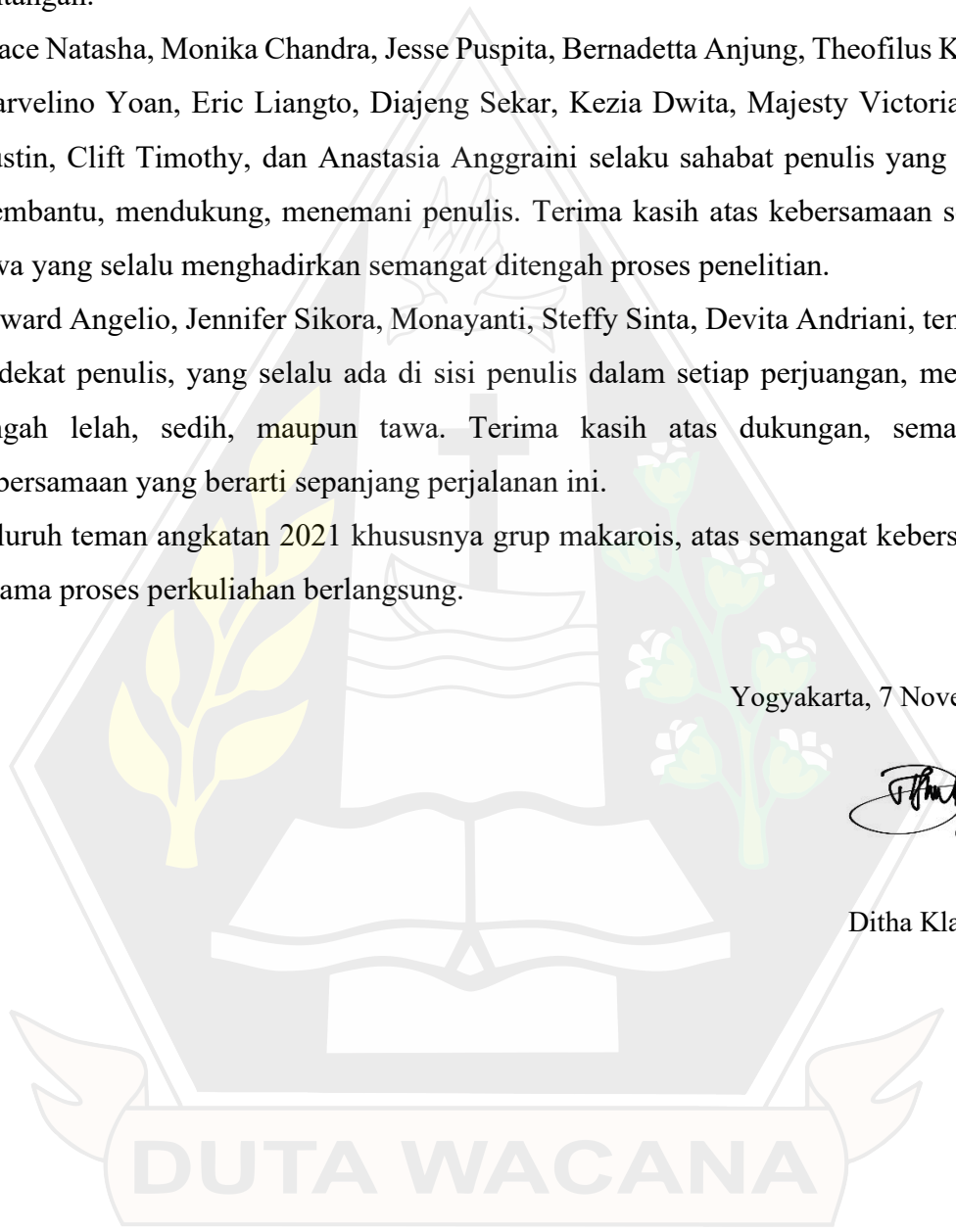
1. Ratih Restiani, S.Si., M.Biotech. selaku dosen pembimbing utama yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan penuh baik secara akademik maupun mental, selalu sabar dalam memberi arahan dan nasihat selama proses penelian, serta masukan yang sangat berharga selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Dwi Aditiyarini, S.Si., M.Biotech., M.Sc., selaku dosen pembimbing pendamping atas bantuannya sejak awal penulisan skripsi melalui nasihat dan arahan yang detail, tajam, dan pemikiran yang kritis sehingga penulis mendapat banyak masukan yang membangun dalam proses penelitian dari awal hingga akhir.
3. Dr. Laurentia Henrieta Permita Sari P,S.Si., selaku dosen wali yang selalu memberikan semangat dan dukungan baik untuk akademik dan mental bagi penulis dari awal proses perkuliahan hingga akhir penulisan skripsi.
4. Bapak R. Udjang Bintoro Stj Ibu Susi Rosana, selaku orang tua penulis dan Ibu Nafisah Kurniasari selaku kerabat dekat penulis yang selalu mendukung dan mendoakan penulis dari awal proses perkuliahan, penelitian, hingga akhir penulisan skripsi, serta memberikan semangat dalam proses penyelesaian naskah skripsi.
5. Gemma Galgani Kharisma, S.Si dan Wida Hening Sukma Crisdiati, S.Pd., selaku laboran yang senantiasa membantu penulis ketika proses penelitian, memberikan arahan dan nasihat yang bermakna, berdinamika bersama di lab atas.
6. Arvitya Belva Clianta Wicaksana, selaku sahabat penulis yang juga berjuang bersama dalam menyelesaikan skripsi, yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan bersedia menjadi rumah bagi penulis untuk berkeluh kesah, berbagi cerita dalam suka duka. Terima kasih atas dukungan penuh, semangat, dan kehadiran yang berarti selama proses penelitian.

7. Diva Yolanda Hutabarat dan Eunike Harjanto, selaku sahabat penulis dari awal perkuliahan, menjadi tempat paling aman dan nyaman bagi penulis untuk berbagi cerita, berkeluh kesah, dan berteduh. Terima kasih telah memberikan dukungan yang tak pernah putus dan tulus sejak awal perkuliahan, proses penelitian, hingga akhir penulisan skripsi, terima kasih atas semangat dan canda yang selalu hadir ditengah masa-masa penuh tantangan.
8. Grace Natasha, Monika Chandra, Jesse Puspita, Bernadetta Anjung, Theofilus Kurniawan, Marvelino Yoan, Eric Liangto, Diajeng Sekar, Kezia Dwita, Majesty Victoria, Kenneth Austin, Clift Timothy, dan Anastasia Anggraini selaku sahabat penulis yang senantiasa membantu, mendukung, menemani penulis. Terima kasih atas kebersamaan serta canda tawa yang selalu menghadirkan semangat ditengah proses penelitian.
9. Edward Angelio, Jennifer Sikora, Monayanti, Steffy Sinta, Devita Andriani, teman-teman terdekat penulis, yang selalu ada di sisi penulis dalam setiap perjuangan, menemani di tengah lelah, sedih, maupun tawa. Terima kasih atas dukungan, semangat, dan kebersamaan yang berarti sepanjang perjalanan ini.
10. Seluruh teman angkatan 2021 khususnya grup makarois, atas semangat kebersamaannya selama proses perkuliahan berlangsung.

Yogyakarta, 7 November 2025



Ditha Klarissa Sutan

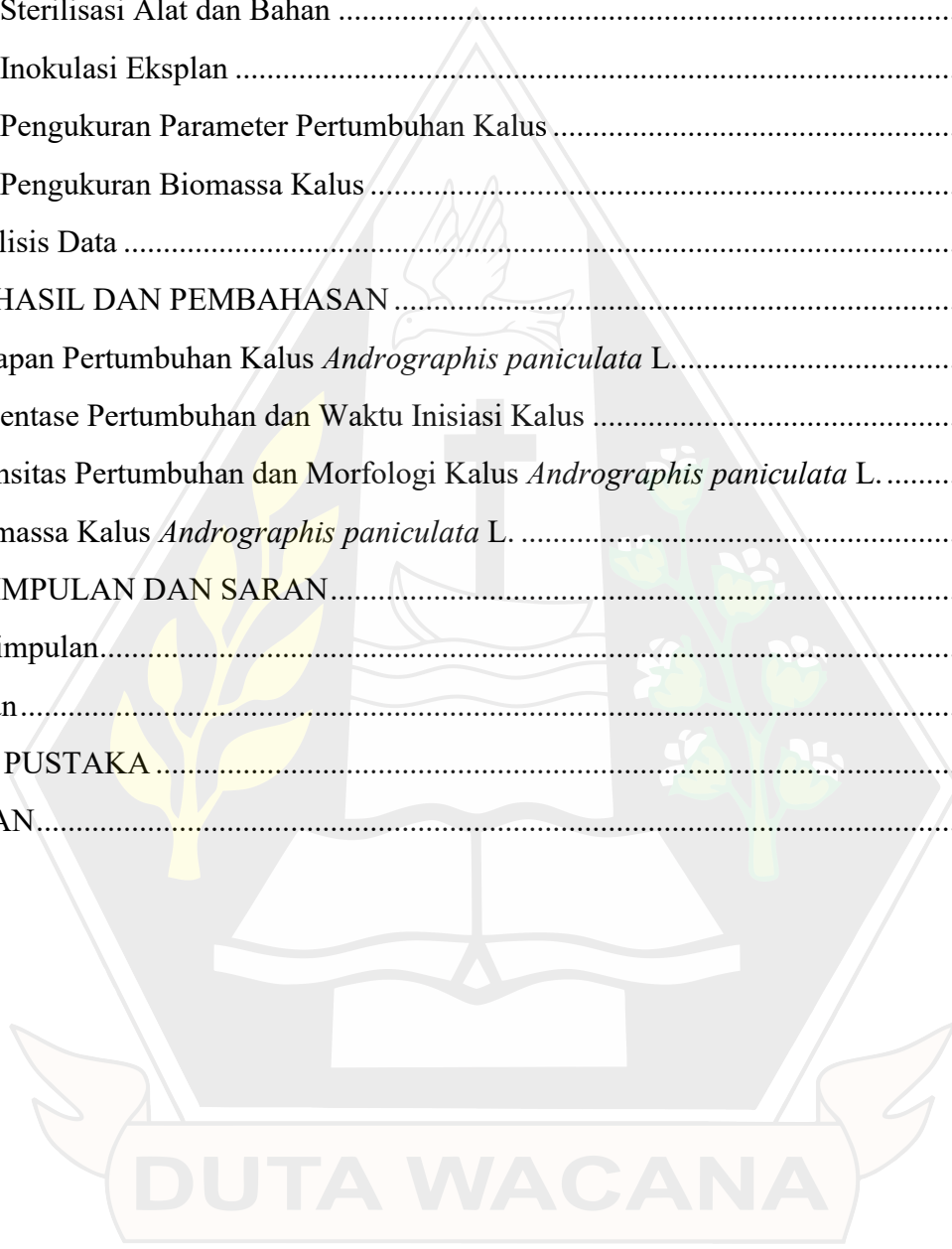


DUTA WACANA

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL LUAR.....	i
HALAMAN SAMPUL BAGIAN DALAM.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN NASKAH SKRIPSI.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Sambiloto.....	5
2.2 Profil Metabolit Sekunder Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> L.).....	6
2.3 Prinsip Kultur <i>in vitro</i>	7
2.4 Kultur Kalus.....	7
2.5 Tahapan Pertumbuhan Kalus	8
2.6 Faktor Keberhasilan Kultur <i>in vitro</i>	8
2.7 Zat Pengatur Tumbuh (ZPT).....	9
2.7.1 Auksin.....	9
2.7.2 Sitokinin	10
BAB III METODE PENELITIAN	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.2 Bahan.....	11

3.3 Alat	11
3.4 Desain Penelitian	11
3.5 Tahapan Penelitian	12
3.6 Cara Kerja	13
3.6.1 Pembuatan Media <i>Murashige and Skoog</i> (MS) + Asam Askorbat	13
3.6.2 Sterilisasi Alat dan Bahan	13
3.6.3 Inokulasi Eksplan	14
3.6.4 Pengukuran Parameter Pertumbuhan Kalus	14
3.6.5 Pengukuran Biomassa Kalus	16
3.7 Analisis Data	16
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Tahapan Pertumbuhan Kalus <i>Andrographis paniculata</i> L.....	18
4.2 Persentase Pertumbuhan dan Waktu Inisiasi Kalus	20
4.3 Intensitas Pertumbuhan dan Morfologi Kalus <i>Andrographis paniculata</i> L.	22
4.5 Biomassa Kalus <i>Andrographis paniculata</i> L.	26
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	27
5.1 Kesimpulan.....	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN.....	32



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kombinasi dan Konsentrasi 2,4-D dan BAP	12
Tabel 3.2 Skoring Intensitas Pertumbuhan Kalus	15
Tabel 4.1 Pengaruh Variasi Konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap Persentase Pertumbuhan dan Waktu Inisiasi Kalus selama 28 Hari Pengamatan	20
Tabel 4.2 Intensitas Kalus <i>Andrographis paniculata</i> L.	23
Tabel 4.3 Morfologi Kalus <i>Andrographis paniculata</i> L.	24



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi tanaman <i>Andrographis paniculata</i> L. (a) Tanaman <i>Andrographis paniculata</i> L. (b) Daun <i>Andrographis paniculata</i> L. (c). Buah <i>Andrographis paniculata</i> L.	5
Gambar 3.1 Standar Skoring Pertumbuhan Kalus.	15
Gambar 4.1 Persentase Kontaminasi <i>Andrographis paniculata</i> L.....	17
Gambar 4.2 Pertumbuhan kalus <i>Andrographis paniculata</i> L. pada media MS dengan penambahan 2,4-D 1,5 mg/L dan BAP 1 mg/L. Keterangan: (a) Hari ke-2, (b) Hari ke-4, (c) Hari ke-6, (d) Hari ke-8, (e) Hari ke-10 (f) Hari ke-12, (g) Hari ke-14, (h) Hari ke-16, (i) Hari ke-18, (j) Hari ke-20, (k) Hari ke-22, (l) Hari ke-24, (m) Hari ke-26, (n) Hari ke-28.....	19
Gambar 4.3 Pengaruh Kombinasi ZPT 2,4-D dan BAP terhadap Biomassa Kalus	26



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Persentase Pertumbuhan kalus <i>Andrographis paniculata</i> L.	32
Lampiran 2. Data dan Analisis Statistik ANOVA Waktu Inisiasi Kalus <i>Andrographis paniculata</i> L.	32
Lampiran 3. Tabel Data Berat Biomassa Kalus.....	34
Lampiran 4. Persentase Kontaminasi.....	35
Lampiran 5. Foto Pengamatan Eksplan	35
Lampiran 6. Borang Pemantauan.....	36



ABSTRAK

Pengaruh Kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap Pertumbuhan Kalus

Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.)

DITHA KLARISSA SUTAN

Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) merupakan tanaman herbal yang berasal dari Asia Tenggara yang diketahui memiliki khasiat untuk mengatasi berbagai penyakit seperti demam, masalah pencernaan, serta untuk meningkatkan imun tubuh. Kandungan metabolit sekunder utama, seperti *andrographolide*, seringkali tidak stabil dan bervariasi dalam produksinya karena dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya seperti perbedaan suhu, cahaya, dan ketersediaan nutrisi. Oleh karena itu, teknik kultur kalus diterapkan sebagai upaya untuk menghasilkan kalus secara cepat, stabil, dan terkontrol. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh kombinasi ZPT 2,4-D dan BAP serta menentukan kombinasi konsentrasi yang optimal dalam menginduksi dan mendukung pertumbuhan kalus *Andrographis paniculata* L. Eksplan daun *Andrographis paniculata* L. ditanam pada media *Murashige and Skoog* (MS) dan asam askrobat yang dilengkapi dengan sembilan kombinasi perlakuan 2,4-D dan BAP. Pengamatan dilakukan selama 28 hari, meliputi persentase pertumbuhan, waktu inisiasi, intensitas dan morfologi kalus, persentase kontaminasi dan pengukuran biomassa kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan tanpa ZPT tidak menghasilkan kalus (0%), yang menegaskan bahwa perlu penambahan ZPT dalam induksi kalus. Persentase pertumbuhan kalus tertinggi mencapai 80% pada beberapa kombinasi. Kombinasi perlakuan 2,4-D 1,5 mg/L dan BAP 1 mg/L terbukti paling optimal dengan waktu inisiasi kalus tercepat, yaitu 17 hari, intensitas kalus tinggi, morfologi kalus hijau dan kompak, serta menghasilkan biomassa kalus tertinggi sebesar 0,314 gr. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dasar mengenai pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap pembentukan serta pertumbuhan kalus *Andrographis paniculata* L. sebagai langkah awal pengembangan kultur kalus untuk meningkatkan ketersediaan bahan baku obat herbal yang berkualitas dan stabil.

Kata Kunci: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), *Andrographis paniculata* L., benzyl amino purin (BAP), kalus, kultur *in vitro*.

DUTA WACANA

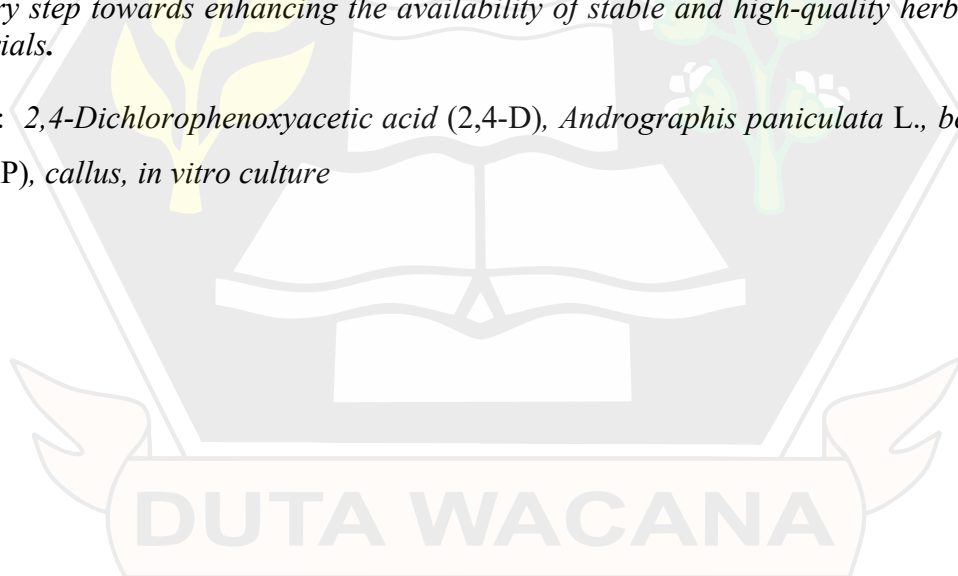
ABSTRACT

The Effect of the Combination of 2,4-D and BAP on the Growth of Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) Callus

DITHA KLARISSA SUTAN

*Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) is a herbaceous plant native from Southeast Asia known for its efficacy in treating various ailments such as fever, digestive problems, and for boosting body immunity. The production of its main secondary metabolite, such as andrographolide, is often unstable and varies due to conventional environmental conditions. Therefore, the callus culture technique is applied as a biotechnological effort to produce cellular biomass and secondary metabolites of Sambiloto quickly, stably, and controllably. This research aims to test the effect of combining Plant Growth Regulators (PGR) 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) and BAP (6-Benzylaminopurine), and to determine the optimal concentration combination for inducing and supporting the callus growth of *Andrographis paniculata* L. *A. paniculata* leaf explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with nine different combinations of 2,4-D and BAP, as well as a control without PGR. Observations were conducted for 28 days, including the percentage of growth, initiation time, intensity, morphology, and measurement of callus biomass. The results showed that the control treatment (without PGRs) did not produce any callus (0%), confirming the necessity of adding PGRs for callus induction. The highest callus growth percentage reached 80% in several combinations. Based on the biomass analysis, the combination treatment of 1,5 mg/L 2,4-D and 1 mg/L BAP (D₁B₂) proved to be the most optimal, yielding the highest callus biomass of 0,314 gr. The formed calli had a yellowish-green morphology with a compact to intermediate texture. This study provides crucial fundamental scientific information for developing an *A. paniculata* callus culture protocol as a preliminary step towards enhancing the availability of stable and high-quality herbal medicine raw materials.*

Keywords: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), *Andrographis paniculata* L., benzyl amino purin (BAP), callus, in vitro culture



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman flora dan fauna yang cukup tinggi. Keanekaragaman flora memberikan potensi besar dalam berbagai bidang seperti bahan baku industri mebel dan industri makanan dari hasil perkebunan, rempah-rempah, serta tanaman obat. Tanaman obat menjadi bagian penting dalam pengobatan alternatif. Sejak zaman dahulu, masyarakat Indonesia memanfaatkan berbagai tanaman obat untuk mengatasi berbagai penyakit karena didukung oleh kepercayaan akan khasiatnya. Penggunaan tanaman obat juga berfungsi sebagai upaya untuk menjaga keanekaragaman hayati serta kearifan lokal. Pengembangan tanaman obat akan terus dilakukan untuk meningkatkan efektivitas dan ketersediaannya.

Beberapa tanaman obat yang umum ditemukan di Indonesia yaitu kunyit, jahe, lidah buaya, brotowali, daun sirsak, dan lain-lain (Sasmi *et al.*, 2017). Salah satu tanaman obat yang cukup umum di Indonesia adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) yang sering digunakan sebagai pengobatan alternatif berbagai penyakit seperti demam hingga gangguan pencernaan. Tanaman ini dikenal memiliki rasa yang sangat pahit (Sani *et al.*, 2016). Kepahitan tersebut terutama disebabkan oleh keberadaan senyawa golongan diterpenoid lakton seperti *andrographolide*, yang merupakan komponen utama penyebab rasa pahit pada tanaman ini. Intensitas rasa pahit berkorelasi kuat dengan kandungan *andrographolide* dan turunannya seperti *neoandrographolide* serta *14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide*, yang terdeteksi melalui analisis *electronic tongue technology* sebagai senyawa kunci penentu rasa pahit. Beberapa penelitian menyatakan bahwa *Andrographis paniculata* L. memiliki potensi sebagai anti inflamasi, antivirus, antimikroba, serta sebagai imunomodulator (Shan *et al.*, 2025; Yu *et al.*, 2025). Bagian daun sambiloto banyak dimanfaatkan karena mengandung senyawa aktif *andrographolide* yang memiliki aktivitas biologis sebagai antipiretik, antiinflamasi, dan imunostimulan. Kandungan senyawa tersebut menyebabkan sambiloto memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan banyak digunakan dalam industri fitofarmaka serta obat herbal tradisional maupun modern. Kebutuhan bahan baku sambiloto terus meningkat seiring dengan meningkatnya minat masyarakat terhadap produk obat herbal alami (Jufri & Utami, 2013). Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) dikenal luas karena khasiat obatnya. Secara tradisional, tanaman ini digunakan untuk mengobati berbagai penyakit termasuk demam, influenza, peradangan, diabetes, dan infeksi. Di Bali, tanaman ini digunakan untuk

menjaga kadar lipid darah dan stamina, terutama dalam konteks pencegahan aterosklerosis. Selain itu, tanaman ini berpotensi sebagai agen fotoprotektif karena kandungan antioksidannya yang tinggi (Ulfa *et al.*, 2025)

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) yang tumbuh di dataran rendah umumnya menunjukkan pertumbuhan dan hasil yang lebih baik dibandingkan tanaman yang hidup di dataran tinggi. Hal ini disebabkan oleh kondisi lingkungan seperti suhu yang lebih hangat, intensitas cahaya yang tinggi, ketersediaan nutrisi yang memadai, dan pH tanah yang lebih stabil, sehingga mendukung aktivitas fisiologis tanaman secara optimal. Suhu dan cahaya yang lebih tinggi di dataran rendah mempercepat proses fotosintesis dan metabolisme primer, menghasilkan biomassa yang lebih besar dan jumlah cabang yang lebih banyak. Aktivitas metabolik yang meningkat ini juga berkontribusi pada peningkatan akumulasi metabolit sekunder, termasuk *andrographolide* sebagai senyawa bioaktif utama yang memberikan rasa pahit dan khasiat farmakologis pada sambiloto (Pujiasmanto *et al.*, 2007). Namun, produksi sambiloto di lapangan sering kali tidak stabil akibat variasi genetik antar individu hasil perbanyakan konvensional serta perbedaan kondisi lingkungan antar lokasi tanam yang memengaruhi kadar metabolit sekundernya. Untuk mengatasi ketidakstabilan ini, penerapan teknik kultur *in vitro* menjadi solusi efektif karena memungkinkan pengendalian faktor tumbuh seperti cahaya, nutrisi, dan hormon secara konsisten, sehingga dihasilkan tanaman dengan karakter genetik seragam serta kestabilan kandungan metabolit sekunder yang lebih terjaga (Sutini *et al.*, 2020).

Sambiloto memiliki potensi yang tinggi karena diketahui memiliki senyawa bioaktif yang mampu berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, immunomodulator, bahkan antikanker (Priya M. Dandekar *et al.*, 2024; Rifai, 2022). Potensi tersebut disebabkan oleh adanya kandungan metabolit sekunder seperti polifenol, flavonoid, *andrographolide*, dan diterpenoid (Dwivedi *et al.*, 2021). Sebagai upaya memenuhi kebutuhan metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat, umumnya memerlukan banyak tanaman untuk diekstraksi, sedangkan kandungan bioaktif senyawa berbeda-beda berdasarkan faktor lingkungannya. Kebutuhan tanaman yang cukup tinggi akan sulit terpenuhi jika hanya mengandalkan cara konvensional. Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder pada sambiloto secara cepat, merata, dan stabil. Salah satu caranya adalah dengan dilakukannya pengembangan secara bioteknologi, yaitu melalui kultur *in vitro*. Perbanyakan melalui kultur *in vitro* dapat menghasilkan bibit *Andrographis paniculata* L. yang berkualitas dan seragam. Selain itu, perbanyakan melalui *in vitro* memiliki waktu yang lebih singkat jika dibandingkan perbanyakan konvensional seperti penanaman

melalui bibit maupun stek. Maka dari itu, kultur *in vitro* dapat menghasilkan jumlah bibit yang lebih banyak dengan kualitas yang seragam dan stabil. Tak hanya itu, tanaman hasil perbanyakan secara *in vitro* juga dapat meningkatkan nilai ekonomis karena prosuk yang dihasilkan tentu memiliki jaminan kualitas yang lebih baik.

Kultur *in vitro* menciptakan kondisi yang terkontrol dan aseptik untuk mendukung pertumbuhan serta perkembangan tanaman secara optimal. Teknik kultur *in vitro* juga berperan penting dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder secara efisien untuk memenuhi kebutuhan bahan baku tanaman obat (Kadapi *et al.*, 2024). Melalui pendekatan ini, perbanyakan sambiloto dapat dilakukan dalam waktu yang relatif singkat, yaitu sekitar 4-6 minggu (Monika *et al.*, 2022), jauh lebih cepat dibandingkan dengan penanaman konvensional yang umumnya memerlukan 13-128 hari hingga masa panen. Berbagai tipe kultur *in vitro* dapat diterapkan, seperti kultur embrio, kultur tunas, dan kultur suspensi sel, namun salah satu yang paling banyak digunakan adalah kultur kalus. Tujuan utama penggunaan kultur kalus adalah untuk memperoleh jaringan tanaman yang dapat tumbuh dan beregenerasi dalam kondisi aseptik dan terkendali, sehingga kualitas dan kuantitas metabolit yang dihasilkan dapat terjaga. Kalus memiliki sifat totipoten, artinya setiap selnya mampu berkembang menjadi jaringan atau organ baru. Karena sel-selnya aktif membelah, kalus menjadi sistem biologis yang ideal untuk produksi metabolit sekunder dan dapat dimanfaatkan dalam berbagai rekayasa bioteknologi tanaman.

Dalam kultur *in vitro*, keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan eksplan ditentukan oleh beberapa faktor penting seperti adanya zat pengatur tumbuh (ZPT). ZPT berperan untuk merangsang pertumbuhan tanaman (Damanik *et al.*, 2017). Jenis dan konsentrasi yang digunakan akan memengaruhi pertumbuhan maupun perkembangan eksplan dalam membentuk tunas, akar, hingga kalus.

Jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) yang umum digunakan dalam induksi kalus adalah kombinasi auksin dan sitokinin. Salah satu jenis auksin yang sering digunakan ialah 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D), karena efektif dalam menginduksi proses dediferensiasi dan pembelahan sel pada berbagai spesies tanaman. Hormon ini bekerja dengan menstimulasi ekspresi gen yang berperan dalam pembentukan kalus melalui peningkatan aktivitas enzim hidrolitik dan perubahan polaritas sel (Kumianjati *et al.*, 2015). Selain itu, sitokinin yang umum digunakan untuk kultur kalus adalah 6-benzylaminopurine (BAP), yang berfungsi dalam merangsang pembelahan sel, menjaga aktivitas metabolik, dan mengatur pertumbuhan jaringan hasil induksi. BAP dipilih karena terbukti mampu mendukung pertumbuhan kalus yang lebih kompak serta meningkatkan potensi regenerasi jaringan bila dikombinasikan

dengan 2,4-D (Li *et al.*, 2012; Bello *et al.*, 2025). Kombinasi kedua hormon tersebut telah banyak digunakan dan terbukti efektif dalam menginduksi serta mempertahankan pertumbuhan kalus pada berbagai tanaman obat, termasuk *Andrographis paniculata* L.

Penelitian oleh Dawande & Sahay (2020), menyatakan bahwa kombinasi ZPT 2 mg/L dan 1 mg/L BAP sebagai perlakuan optimal untuk pertumbuhan kalus *Andrographis paniculata* L. namun penelitian tersebut menggunakan hipokotil sebagai eksplannya. Namun, pada penelitian ini menggunakan eksplan daun karena daun diketahui lebih aktif secara fisiologis, dan jaringan pada daun lebih bersifat totipoten. Penelitian mengenai efek kombinasi 2,4-D dan BAP pada tanaman sambiloto masih terbatas, terutama terkait dengan karakteristik morfologis dan biomassa kalus yang terbentuk. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) dan untuk mengidentifikasi konsentrasi kombinasi optimal yang mendukung pembentukan dan pertumbuhan kalus tanaman.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apa pengaruh kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata* L.)?
2. Pada konsentrasi berapa kombinasi 2,4-D dan BAP optimal dalam mendukung pertumbuhan kalus sambiloto? (*Andrographis paniculata* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh dari kombinasi 2,4-D dan BAP terhadap pertumbuhan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata* L.).
2. Mengetahui kombinasi konsentrasi yang optimal dalam mendukung pertumbuhan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti, penelitian ini diharapkan bermanfaat dalam menjadi dasar informasi ilmiah dalam menentukan kombinasi ZPT yang paling efisien dalam kultur kalus *Andrographis paniculata* L.
2. Bagi akademisi, dapat bermanfaat dalam memperkaya informasi ilmiah mengenai kultur kalus *Andrographis paniculata* L. dan membuka peluang penelitian lanjutan.
3. Bagi masyarakat, hasil penelitian ini dapat memberikan pemahaman mengenai potensi sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) sebagai sumber bahan obat herbal alami, sehingga dapat mendorong pemanfaatan dan budidaya tanaman ini secara lebih luas dan berkelanjutan.

BAB V

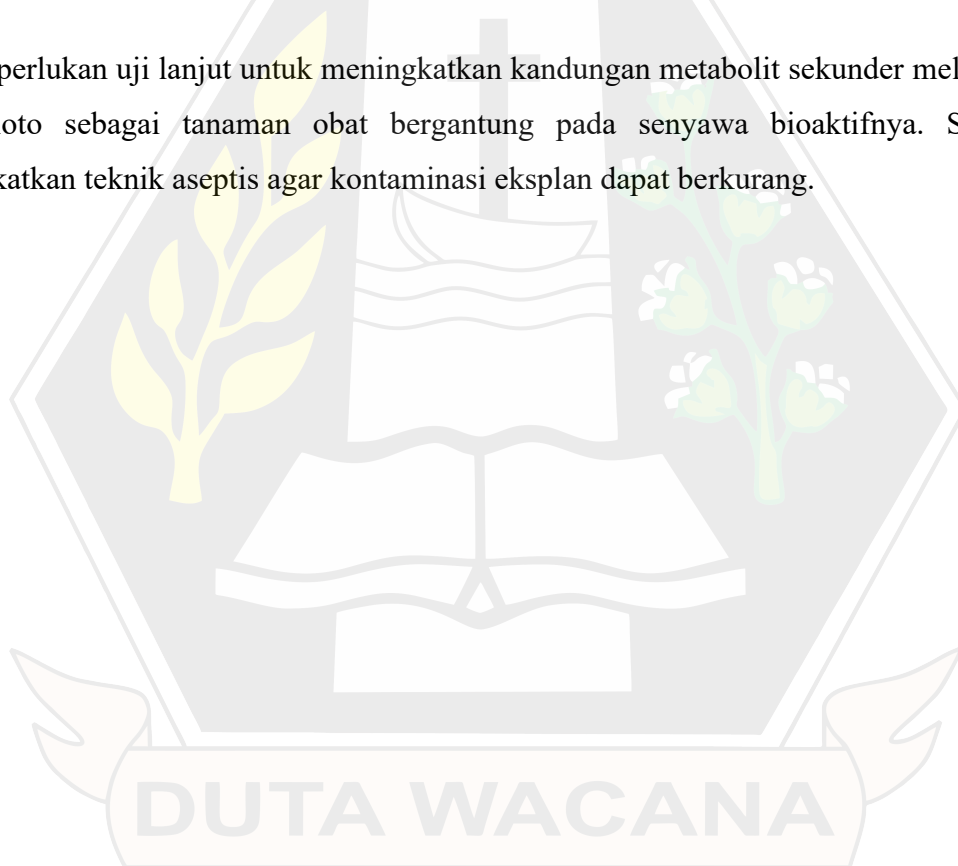
SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kombinasi 2,4-D dan BAP memengaruhi pertumbuhan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) perlakuan tanpa penambahan ZPT tidak menunjukkan adanya pertumbuhan kalus (0%), sedangkan perlakuan dengan penambahan ZPT memiliki persentase pertumbuhan sebesar 80%, 60%, dan 50%.
2. Kombinasi ZPT paling optimal dalam mendukung pertumbuhan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) adalah perlakuan 1,5 mg/L 2,4-D dan 1 mg/L BAP. Perlakuan ini memiliki waktu inisiasi kalus tersingkat, yaitu 17 HST, morfologi kalus hijau dan remah yang mengindikasikan aktivitas fisiologis dan pembelahan sel yang aktif, serta biomassa tertinggi yaitu 0,314 gr.

5.2 Saran

Diperlukan uji lanjut untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder melihat potensi sambiloto sebagai tanaman obat bergantung pada senyawa bioaktifnya. Serta, perlu ditingkatkan teknik aseptis agar kontaminasi eksplan dapat berkurang.



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadpoor, F., Zare, N., Asghari, R., & Sheikhzadeh, P. (2022). Sterilization protocols and the effect of plant growth regulators on callus induction and secondary metabolites production in in vitro cultures *Melia azedarach* L. *AMB Express*, 12(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01343-8>
- Ali, H., Karsani, S. A., Othman, R., & Yaacob, J. S. (2018). Production of coloured callus in *Orthosiphon stamineus* Benth and antioxidant properties of the extracted pigments. *Pigment & Resin Technology*, 47(3), 196–207. <https://doi.org/10.1108/PRT-01-2017-0009>
- Anjarsari, I. R. D., Hamdani, J. S., Suherman, C., Nurmala, T., Khomaeni, H. S., & Rahadi, V. P. (2021). Studi pemangkasan dan aplikasi sitokinin-giberelin pada tanaman teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) produktif klon GMB 7. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 49(1), 89-96. <https://doi.org/10.24831/jai.v49i1.32046>
- Basri, A. H. H. (2016). Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. *Agrica Ekstensi*, 10(1), 64-73.
- Bello, O., Fajimi, O., Esan, E., & Obembe, O. (2025). Comparative Morphological Effect of Plant Growth Regulators on Callus Induced from in vitro-grown Leaf Explants of *Solanecio bialafrae*. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 12(3). <https://doi.org/10.22059/ijhst.2024.374632.817>
- Bhati, K., Gupta, A., Jatav, P., & Kumari, P. (2023). Phytochemical Screening, Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Andrographis paniculata*. *Advances in Zoology and Botany*, 11(1), 74–84. <https://doi.org/10.13189/azb.2023.110108>
- Chaâbani, G., Tabart, J., Kevers, C., Dommès, J., Khan, M. I., Zaoui, S., Chebchoub, L., Lachaâl, M., & Karray-Bouraoui, N. (2015). Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid combined to 6-Benzylaminopurine on callus induction, total phenolic and ascorbic acid production, and antioxidant activities in leaf tissue cultures of *Crataegus azarolus* L. var. Aronia. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(2), 16. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1769-4>
- Dawande, A. A., & Sahay, S. (2020). Copper sulphate elicitation of optimized suspension culture of *Andrographis paniculata* Nees yields unprecedented level of andrographolide. *Journal of Microbiology, Biotechnology & Food Sciences*, 9(4), 688-694. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.9.4.688-694>
- Duan, S., Xin, R., Guan, S., Li, X., Fei, R., Cheng, W., Pan, Q., & Sun, X. (2022). Optimization of callus induction and proliferation of *Paeonia lactiflora* Pall. And Agrobacterium-mediated genetic transformation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 996690. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.996690>
- Dwivedi, M. K., Sonter, S., Mishra, S., Singh, P., & Singh, P. K. (2021). Secondary metabolite profiling and characterization of diterpenes and flavones from the methanolic extract of *Andrographis paniculata* using HPLC-LC-MS/MS. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 184. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00292-6>
- Emeliya, E., Rahayu, T., Jayanti, G. E., & Agisimanto, D. (2024). Uji Beberapa Jenis Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Protocorm Like Body (PLB) Anggrek (*Dendrobium* sp.) Pada Media MS Dalam Bentuk Thin Liquid Film. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 9(1), 29–38. <https://doi.org/10.14710/baf.9.1.2024.29-38>
- Farjaminezhad, R., & Garoosi, G. (2019). New biological trends on cell and callus growth and azadirachtin production in *Azadirachta indica*. 3 *Biotech*, 9(8), 309. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1836-z>
- Handayani, R. S., Maisura, M., & Rizki, A. (2018). Pengaruh Letak Posisi Eksplan dan Sitokinin Pada Perkecambahan Biji Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Lokal Aceh Secara in-Vitro. *Jurnal Agrium*, 14(2), 1. <https://doi.org/10.29103/agrium.v14i2.874>

- Jufri, A., & Utami, N. (2013). Budidaya Sambiloto Di Antara Tegakan Tanaman Tahunan Pada Wilayah Perkebunan. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 14(1). <https://doi.org/10.29122/jsti.v14i1.897>
- Junairiah, J., Purnomo, P., Utami, E. S. W., Ni'matuzahroh, N., & Sulistyorini, L. (2018). Callus Induction of *Piper betle* L. Var Nigra Using 2,4-Dichlorofenoxyacetic Acid and 6-Benzil Aminopurin. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 10(3), 588–596. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v10i3.15962>
- Kadapi, M., Sunarso, C., Erizon, M. S., Maharani, N. D., Hakim, M. S., & Zahra, I. H. A. (2024). Teknologi kultur in vitro untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder pada berbagai tanaman obat. *Jurnal Agrosains dan Teknologi*, 9(1), 18-29. <https://doi.org/10.24853/jat.9.1.18-29>
- Khatun, R., Sengupta, S., & Bhattacharya, M. (2024). Phytochemical Analysis Of *Andrographis Paniculata* Leaf For Their Antibacterial And Antioxidant Potential. *International Journal of Engineering Science Technologies*, 8(4). <https://doi.org/10.29121/ijoest.v8.i4.2024.623>
- Krestiani, V., & Rukmi, R. (2015). Kajian Konsentrasi Naa Dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Kalus Dari Kotiledon Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness.) Secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi Muria Kudus*, 6(1), 16-20.
- Lee, K. Y., Nam, D.-H., Jeon, Y., Park, S. U., Cho, J., Gulandaz, M. A., Chung, S.-O., & Lee, G.-J. (2024). Exploring the Production of Secondary Metabolites from a Halophyte *Tetragonia tetragonoides* through Callus Culture. *Horticulturae*, 10(3), 244. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10030244>
- Li, F., Cui, X., Feng, Z., Du, X., & Zhu, J. (2012). The effect of 2, 4-D and kinetin on dedifferentiation of petiole cells in *Arabidopsis thaliana*. *Biologia plantarum*, 56(1), 121-125. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0026-1>
- Lizawati, L., Neliyati, N., & Zulkarnain, Z. (2020). The effect of 2, 4-D and 2-iP on callus proliferation and development on immature leaf explants of Liberica coffee (*Coffea liberica* L.). *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*, 27(1), 39-42.
- Lone, S. M., Hussain, K., Malik, A., Magray, M., Hussain, S. M., Rashid, M., & Farwah, S. (2020). Plant Propagation through Tissue Culture – A Biotechnological Intervention. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(7), 2176–2190. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.907.254>
- Lukito, E. W., Iswantini, D., Antariksa, B., Rafi, M., & Wahyudi, S. T. (2024). Screening and Identification of Metabolites from Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Ethanol Extract for Pro-Inflammatory Cytokines Inhibitory through In Silico and In Vitro Approaches. *Pharmacognosy Journal*, 16(1), 131–140. <https://doi.org/10.5530/pj.2024.16.18>
- Mayerni, R., Satria, B., Wardhani, D., & Chan, S. (2020). Effect of auxin (2,4-D) and cytokinin (BAP) in callus induction of local patchouli plants (*Pogostemon cablin* Benth.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 583(1), 012003. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/583/1/012003>
- Mendhulkar, V. D., Mayekar, A. J., & Nangare, A. S. (2015). Callus Cytology and Electrophoretic Protein Profiling in Cultured Cells in *Andrographis paniculata* (L.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. <https://globalresearchonline.net/journalcontents/v34-1/25>
- Monika, M. A., Bhuiyan, M. S. U., Sarker, K. K., Dina, M. M. A., & Sultana, S. (2022). Ex-Situ Conservation of An Endangered Medicinal Plant *Andrographis Paniculata* By Plant Tissue Culture. *Journal of Horticultural Sciences*, 17(2), 467–478. <https://doi.org/10.24154/jhs.v17i2.1425>
- Noli, Z. A., Hanafi, M., Idris, M., & Hany, I. P. (2024). Effect of Kinetin Concentration on Callus Induction of *Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm Under in Vitro Conditions. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(1b), 532–539. <https://doi.org/10.29303/jbt.v24i1b.8162>

- Pan, Z., Zhu, S., Guan, R., & Deng, X. (2010). Identification of 2,4-D-responsive proteins in embryogenic callus of Valencia sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck) following osmotic stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 103(2), 145–153. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9762-0>
- Patuhai, A., Wahab, P. E. M., Yusoff, M. M., Dewir, Y. H., Alsughayyir, A., & Hakiman, M. (2023). Plant Growth Regulator- and Elicitor-Mediated Enhancement of Biomass and Andrographolide Production of Shoot Tip-Culture-Derived Plantlets of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. (Hempedu Bumi). *Plants*, 12(16), 2953. <https://doi.org/10.3390/plants12162953>
- Priya M. Dandekar, Pooja V. Kotwal, Aslamkha C. Pathan, & Aasma I. Sheikh. (2024). Review on Evaluation of Phytochemical Analysis of Kalmegh (*Andrographis Paniculata*) Leaf Extract. *International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology*, 292–305. <https://doi.org/10.48175/IJARSCT-15045>
- Pujiasmanto, B., Moenandir, J., Syamsulbahri, S., & Kuswanto, K. (2007). Study on the morphology and agroecology of creat (*Andrographis paniculata* ness.) in various habitat. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 8(4). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d080416>
- Rifai, N. (2022). Pemanfaatan Sambiloto Untuk Meningkatkan Imunitas Tubuh Pekerja Industri Pariwisata Indonesia Di Masa Pandemi Covid-19. *Bogor Hospitality Journal*, 5(2). <https://doi.org/10.55882/bhj.v5i2.26>
- Saleem, Y., Ali, A., Naz, S., Jamil, M., & Naveed, N. H. (2022). Amelioration of lead toxicity by ascorbic acid in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) under in vitro condition. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(56), 85160–85171. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21882-8>
- Sasmi, J., Mahdi, N., & Kamal, S. (2017). Jenis Tanaman Yang Digunakan Untuk Obat Tradisional Di Kecamatan Kluet Selatan. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*, 5(1), 36. <https://doi.org/10.22373/biotik.v5i1.2974>
- Shan, X., Li, S., Liu, J., Wang, C., Wei, Y., Shi, J., Zhang, X., & Gu, L. (2025). The Therapeutic Potential of Andrographolide and Its Derivatives in Inflammatory Diseases. *Pharmacology Research & Perspectives*, 13(5), e70161. <https://doi.org/10.1002/prp2.70161>
- Singh, S., Pandey, P., Ghosh, S., & Banerjee, S. (2018). Anti-cancer labdane diterpenoids from adventitious roots of *Andrographis paniculata*: Augmentation of production prospect endowed with pathway gene expression. *Protoplasma*, 255(5), 1387–1400. <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1211-7>
- Sutini, Widiwujani, Ardianto, C., Khotib, J., Purwanto, D. A., & Muslihatin, W. (2020). Production of the secondary metabolite catechin by in vitro cultures of *Camellia sinensis* L. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 31(5), 20190357. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0357>
- Tajidin, N. E., Shaari, K., Maulidiani, M., Salleh, N. S., Ketaren, B. R., & Mohamad, M. (2019). Metabolite profiling of *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees. Young and mature leaves at different harvest ages using 1H NMR-based metabolomics approach. *Scientific Reports*, 9(1), 16766. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52905-z>
- Tarigan, S. D. S., Astarini, I. A., & Astiti, N. P. A. (2023). Inisiasi Kalus Bangle (*Zingiber purpureum* Roscoe) pada Beberapa Kombinasi 2.4-D dan Kinetin. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 14(2), 93–99. <https://doi.org/10.29244/jhi.14.2.93-99>
- Ulfa, R., Fatmah, F., & Utomo, S. W. (2025). Short Communication: Community knowledge and uses of sambiloto (*Andrographis paniculata*) in an Urban Herbal Village, Surabaya, East Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 26(8). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d260830>

- Waryastuti, D. E. (2017). *TEMULAWAK (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)*. 5.
- Wijaya, R., Restiani, R., & Aditiyarini, D. (2020). Pengaruh kitosan terhadap produksi saponin kultur kalus daun ginseng jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.). *In Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 6, No. 1, pp. 253-262).
- Xu, H., Lan, S., Lin, S., Wang, A., Luo, Y., Wang, J., & Yang, Z. (2025). Exploring the Active Constituents of *Andrographis paniculata* in Protecting the Skin Barrier and the Synergistic Effects with Collagen XVII. *Antioxidants*, 14(1), 118. <https://doi.org/10.3390/antiox14010118>
- Yaacob, J. S., Ramli, M. A., Abd Rahim, M. H., Robert Selvaraj, A. M., & Nyanasaigran, L. (2022). Comparative Analysis on the Role of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in the Expression of Bioactive Compounds in Callus of *Capsicum frutescens*. *Sains Malaysiana*, 51(10), 3171–3182. <https://doi.org/10.17576/jsm-2022-5110-05>
- Yu, Q., Zhu, L., Ding, X., & Lou, Y. (2025). Integration of network pharmacology and experimental validation to explore the pharmacological mechanism of andrographolide against asthma. *Bioresources and Bioprocessing*, 12(1), 30. <https://doi.org/10.1186/s40643-025-00869-6>
- Zaman, T., & Islam, S. M. S. (2024). Influence Of Plant Growth Regulators On Efficient Callus Induction And Regeneration Using Five Rice Genotypes In Bangladesh. *Journal of Bio-Science*, 32(1), 83–94. <https://doi.org/10.3329/jbs.v32i1.74990>
- Zhang, Z., Shao, S., Pan, D., & Wu, X. (2024). Role, residues and microbial degradation of plant growth regulators (PGRs): A scoping review. *Advanced Agrochem*, 3(1), 43–46. <https://doi.org/10.1016/j.aac.2024.01.004>

