
EFEKTIVITAS KONSENTRASI EKSTRAK KECAMBAH KACANG HIJAU DAN KOMPOSISI ZAT PENGATUR TUMBUH TERHADAP REGENERASI EKSPLAN ARTEMISIA (*Artemisia annua* L.) SECARA *IN VITRO*

Nova Laili Wisuda^{1*}, Silviana² dan Farida Yuliani³,

^{1,2,3}Fakultas Pertanian, Universitas Muria Kudus

*Email: nova.laili@umk.ac.id

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima 2 Mei 2023

Direvisi 5 Juni 2023

Disetujui 27 Juni 2023

Keywords:

Mung bean sprout extract, auxin, cytokinin, regeneration of Artemisia annua L.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata* L.) dan komposisi ZPT terhadap regenerasi eksplan artemisia (*Artemisia annua* L.) melalui teknik kultur jaringan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Muria Kudus. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei - September 2022. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 2 faktor dan 10 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau (A) yang terdiri dari 3 taraf yaitu (A0) 0 g/l, (A1) 1,25 g/l, dan (A2) 2,5 g/l. Faktor kedua adalah komposisi ZPT BAP dan NAA yaitu (B1) media MS + BAP 0,5 ppm, (B2) media MS + BAP 0,5 ppm + NAA 0,5 ppm, dan (B3) media MS + NAA 0,5 ppm. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak kecambah kacang hijau berpengaruh terhadap regenerasi eksplan *A.annua* secara *in vitro* khususnya dalam pembentukan tunas yaitu pada perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2) yang mampu menghasilkan muncul tunas tercepat dan jumlah tunas terbanyak. Komposisi ZPT (B) berpengaruh nyata terhadap muncul kalus dan bobot segar kalus *A.annua*. Terdapat interaksi antara kombinasi perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau (A) dan komposisi ZPT (B) terhadap regenerasi eksplan *A.annua* secara *in vitro* yang terjadi pada saat muncul kalus dan bobot segar kalus.

Abstract

This study aims to determine the concentration of green bean sprout extract (Vigna radiata L.) and ZPT composition on the regeneration of artemisia explants (Artemisia annua L.) through tissue culture techniques. The research was conducted at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Muria Kudus University. The research was conducted from May to September 2022. The study used a completely randomized design (CRD) which consisted of 2 factors and 10 replications. The first factor was the concentration of mung bean sprout extract (A) which consisted of 3 levels, namely (A0) 0 g/l, (A1) 1.25 g/l, and (A2) 2.5 g/l. The second factor is the composition of ZPT BAP and NAA, namely (B1) MS medium + BAP 0.5 ppm, (B2) MS medium + BAP 0.5 ppm + NAA 0.5 ppm, and (B3) MS medium + NAA 0.5 ppm. The results showed that mung bean sprout extract had an effect on the regeneration of A.annua explants in vitro, especially in shoot formation, namely MS + 1.25 g/l extract + 0.5 ppm BAP + 0.5 ppm NAA (A1B2) which was able to produce the fastest shoots and the highest number of shoots. ZPT composition (B) had a significant effect on callus appearance and callus fresh weight of A.annua. There was an interaction between the combination treatment of mung bean sprout extract concentration (A) and PGR composition (B) on regeneration of A.annua explants in vitro which occurred when callus appeared and callus fresh weight.

PENDAHULUAN

Tanaman artemisia (*Artemisia annua* L.) adalah salah satu tanaman bunga dari suku kenikir-kenikiran (*Asteraceae*). Tanaman ini biasanya hidup di daerah subtropis yang memiliki banyak spesies yaitu berkisar 200-400 spesies. Namun, tanaman artemisia ini juga mampu tumbuh dengan baik dan dapat dibudidayakan di daerah beriklim tropis yaitu dengan cara tanam pemuliaan (Gusmaini dan Nurhayati, 2007). Artemisia tumbuh baik pada tanah berpasir atau berlempung yang memiliki drainase baik dengan pH 5.5-8.5 (pH optimum 6-8), dan curah hujan 700- 1000 mm/tahun (Woerdenbag *et al.*, 1994 dalam Gusmaini dan Nurhayati, 2007). Artemisia berasal dari Asia dan telah tersebar ke beberapa negara antara lain seperti Argentina, Bulgaria, Prancis, Hungaria, Rumania, Italia, Spanyol, USA dan Yugoslavia. Tanaman artemisia telah diintroduksi dan telah dibudidayakan di India, Vietnam, Thailand, Myanmar, Madagaskar, Malaysia, USA, Brazil, Australia dan negara- negara Eropa (Laughlin, 1978).

Tanaman artemisia sejak lama telah digunakan di China sebagai obat tradisional untuk mengatasi penyakit. Artemisia merupakan satu-satunya jenis tanaman kenikir-kenikiran yang mengandung *artemisinin* dengan kadar yang cukup tinggi di alam. Kandungan artemisininnya bervariasi antara 0,1-1,8%. WHO telah merekomendasikan *artemisin* untuk pengobatan malaria yang dikombinasikan obat lain yang disebut dengan pengobatan *Artemisinin based Combination Therapy (ACT)*, karena berdasarkan penelitian sebelumnya terjadi resistensi pada *Plasmodium* terhadap beberapa jenis obat malaria (Peter, 2006 dalam Nurdiani, 2017). Serta sebagai antimalaria pada *Plasmodium falciparum*, meningkatkan kekebalan tubuh, dan dapat memenuhi kebutuhan gizi (Veronica *et al.*, 2020). Penyakit malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*.

Perbanyakan tanaman obat ini biasanya hanya dilakukan secara konvensional melalui stek anakan atau secara generatif melalui biji. Dampak terhadap perbanyakan secara konvensional secara generatif melalui biji menjadikan bibit yang tidak seragam. Berdasarkan teknik perbanyakan tersebut ditemukan kendala yaitu biji artemisia mempunyai viabilitas yang sangat rendah dan tidak mempunyai masa dormansi. Oleh karena itu, dilakukan teknik kultur jaringan (*in vitro*) untuk mendapatkan tanaman yang seragam dalam waktu yang relatif singkat. Beberapa teknik dalam kultur jaringan adalah dengan, kultur sel, kultur protoplas, kultur organ dan

embriogenesis somatik dan kultur kalus. Kalus adalah jaringan yang belum terdiferensiasi dan terbentuk saat sel tanaman mengalami pembelahan yang tidak teratur, sebagai akibat dari perlukaan pada permukaan *eksplan* dan pengaruh perlakuan zat pengatur tumbuh yang diberikan pada media kultur. Dalam budidaya kultur jaringan, mengregenerasi *eksplan* merupakan salah satu langkah penting karena, kalus mempunyai pertumbuhan yang abnormal dan berpotensi untuk berkembang menjadi akar, tunas dan embrioid lebih cepat, yang nantinya akan dapat membentuk *plantlet*.

Keberhasilan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain yaitu pemilihan *eksplan*, sterilisasi *eksplan*, komposisi media dasar, penggunaan zat pengatur tumbuh serta faktor-faktor lingkungan dimana kultur ditempatkan. Penelitian ini menggunakan *eksplan* daun dari tanaman artemisia. Pentingnya penambahan ZPT pada media kultur dapat mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman (Davies, 1995 ; Gaba, 2005 dalam Lestari, 2011). ZPT yang sering digunakan untuk perbanyakan tunas ialah *auksin* dan *sitokinin* yang diberikan secara tunggal ataupun bersama-sama. Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur mampu meningkatkan konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen di dalam sel. Untuk memacu pembentukan tunas dapat dilakukan dengan memanipulasi dosis auksin dan sitokinin eksogen (Poonsapaya *et al.*, 1989 dalam Lestari, 2011). Ekstrak kecambah kacang hijau dapat menjadi alternatif pengganti zat pengatur tumbuh sintetik. Ekstrak kecambah kacang hijau konsentrasi 8 ppm merupakan konsentrasi optimal untuk pertumbuhan dan perbanyakan propagul pisang barangan (*Musa acuminata* Colla) secara *in vitro* (Latunra *et al.*, 2016). Konsentrasi senyawa zat pengatur tumbuh yang terkandung dalam ekstrak kacang hijau dengan konsentrasi 100 g/ml antara lain *auksin* 1,68 ppm, *giberelin* 39,94 ppm, dan *sitokinin* 96,26 ppm (Ulfa, 2014).

Pemanfaatan ekstrak kecambah kacang hijau sebagai zat pengatur tumbuh (ZPT) alami sebenarnya sudah pernah dilakukan pada penelitian-penelitian sebelumnya. Pada konsentrasi 50 g/l ekstrak kecambah kacang hijau mengandung hormon IAA 3,74%, IBA 1,88%, *Kinetin* 4,42%, *Zeatin* 4,09%, GA 1 1,50%, GA 3 2,33%, GA 4 1,71%, GA 12 1,39%, GA 13 1,12%, GA 17 1,17%, GA 19 1,16%, dan GA 28 1,17% (Sunandar *et al.*, 2017). Konsentrasi terbaik ekstrak tauge kacang hijau terhadap pertumbuhan tunas tanaman bawang merah yaitu pada P5 (media MS dan ekstrak tauge 8,0 mg/L dan kinetin 2,0 mg/l)

menghasilkan nilai rata-rata untuk parameter umur bertunas 2,67 HSS dan panjang tunas 5,13 cm (Hairuddin *et al.*, 2021). Konsentrasi ekstrak taoge kacang hijau 150 g/l memberikan pengaruh yang baik terhadap pertumbuhan angrek bulan dengan menunjukkan hasil yang tertinggi (Amilah dan Astuti, 2006). Hasil penelitian Corina *et al.* (2014) pada kultur biji jeruk siam (*Citrus nobilis*) penambahan konsentrasi ekstrak taoge 5, 10, dan 15% berpengaruh nyata terhadap jumlah *planlet*.

Komposisi *auksin* (NAA) dan *sitokinin* (BAP) dalam media *in vitro* mempunyai peran penting dalam induksi *eksplan*. Menurut Nasution (2018) penambahan beberapa konsentrasi BAP dan NAA pada media, berpengaruh terhadap regenerasi *eksplan* *eksplan* daun pasak bumi yaitu dengan perlakuan terbaik BAP 2 ppm+NAA 3 ppm dengan persentase kalus tumbuh 70%. Sedangkan menurut penelitian Wahyuni (2020), pengaplikasian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP berpengaruh terhadap induksi kalus tanaman gaharu dengan hasil terbaik diperoleh dari perlakuan NAA 3,0 ppm + BAP 0,5 ppm.

Berdasarkan uraian di atas perbanyak artemisia (*Artemisia annua* L.) secara kultur *in vitro* melalui *eksplan* daun masih belum banyak dilakukan dan perlu dilakukan penelitian untuk mencari konsentrasi aplikasi ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata* L.) serta komposisi ZPT yang tepat untuk regenerasi *eksplan* artemisia (*Artemisia annua* L.) secara kultur *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Mei-September 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan, Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muria Kudus.

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dua faktor perlakuan yaitu faktor pertama pemberian konsentasi ekstrak kecambah kacang hijau (A) yang terdiri dari tiga taraf yaitu (A0) 0 g/l, (A1) 1,25 g/l, dan (A2) 2,5 g /l. Faktor kedua komposisi zat pengatur tumbuh yaitu BAP dan NAA meliputi (B1) media MS + BAP 0,5 ppm (B2), media MS + BAP 0,5 ppm + NAA 0,5 ppm dan (B3) media MS + NAA 0,5 ppm.

Bahan yang digunakan sebagai *eksplan* adalah daun *A. annua* yang masih muda, terdapat pada urutan daun ke tiga dari bagian pucuk tanaman yang sudah membuka sempurna. Bahan lainnya yaitu bahan penyusun media Murashige and Skoog (MS), serta zat pengatur tumbuh yaitu ekstrak kecambah kacang hijau, BAP (*Benzyl Amino Purine*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*),

spiritus, aquades steril, kloroks 20%, dan alkohol 70%. Alat yang digunakan meliputi erlenmeyer, gelas ukur, *beaker glass*, cawan petri, botol kultur, pengaduk kaca, pipet, bunsen, korek api, pinset, gunting, spatula, kertas saring, kertas label, tissue, plastik, alumunium foil, sprayer (alcohol), timbangan analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, micropipette, autoclave, *Laminar Air Flow* (LAF).

Cara kerja terdiri dari beberapa tahap yaitu penyiapan *eksplan* Artemisia, sterilisasi alat, pembuatan larutan stok, menyiapkan ekstrak kecambah kacang hijau, pembuatan media MS sesuai perlakuan, sterilisasi *eksplan*, penanaman *eksplan*, pemeliharaan.

Analisis data secara deskriptif meliputi warna kalus, tekstur kalus, saat muncul tunas, dan saat muncul akar. Sedangkan data kuantitatif berupa tahap keberhasilan regenerasi dan pertumbuhan *eksplan*, lama masa kalus, saat muncul kalus, bobot kalus panjang akar dan jumlah akar.

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan analisis varian untuk mengetahui perbedaan rerata pengaruh antar perlakuan, apabila terdapat beda nyata akan dilanjutkan uji lanjutan yaitu uji *Least Significance Different* (LSD).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang dilakukan mengenai pengaruh konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata* L.) dan komposisi ZPT terhadap regenerasi *eksplan* artemisia (*Artemisia annua* L.) secara *in vitro* didapatkan hasil sebagai berikut.

1. Tahap Keberhasilan Regenerasi dan Pertumbuhan Eksplan *A.annua*

Tabel 1 menunjukkan ada 3 kombinasi perlakuan yang mampu menumbuhkan kalus dengan tingkat keberhasilan 100% yaitu MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A0B1), MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A2B1), dan MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A2B2). Terdapat 2 kombinasi perlakuan mampu menumbuhkan kalus dengan tingkat keberhasilan 80% yaitu MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1) dan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2).

Tabel 1. Presentase Keberhasilan Regenerasi dan Pertumbuhan Eksplan *A.annua* Akibat Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT

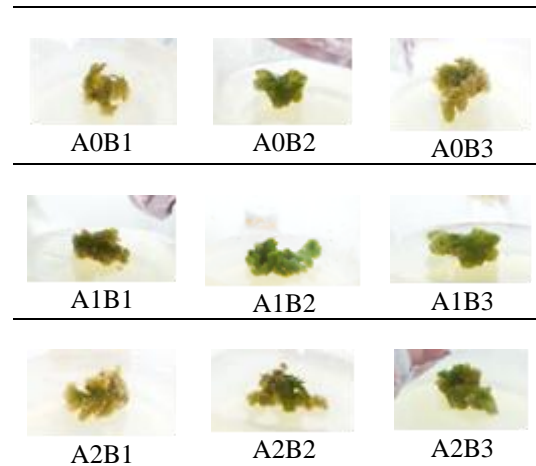
Perlakuan	Kalus	Tunas	Akar	Tunas +Akar (Planlet)
A0B1	100%	0%	0%	0%
A0B2	0%	0%	100%	0%
A0B3	0%	0%	100%	0%
A1B1	80%	20%	0%	0%
A1B2	80%	0%	0%	20%
A1B3	0%	0%	100%	0%
A2B1	100%	0%	0%	0%
A2B2	100%	0%	0%	0%
A2B3	0%	0%	100%	0%

Kombinasi perlakuan yang mampu menumbuhkan akar dengan tingkat keberhasilan 100% yaitu MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A0B2), MS+0 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A0B3), MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A1B3), dan MS+2,5 g/l ekstrak +NAA 0,5 ppm (A2B3). Sedangkan untuk pembentukan tunas hanya mampu dihasilkan dari perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak +BAP 0,5 ppm (A1B1). Begitu juga dengan pembentukan *planlet* (tunas & akar) hanya dapat dihasilkan oleh perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2). Kedua perlakuan tersebut masing-masing hanya mampu menunjukkan tingkat keberhasilan pertumbuhan *planlet* 20% pada tiap kriteria pembentukannya. Semua perlakuan yang diujikan mampu menumbuhkan eksplan. Sejalan dengan pendapat Davies, 1995; Gaba, 2005 dalam Lestari, 2011 bahwa pentingnya peran ZPT pada media kultur dalam mengontrol proses biologi pada jaringan tanaman.

Pada media yang diberi perlakuan BAP tanpa pemberian ekstrak kecambah (A0B1) hanya muncul kalus. Tetapi pada perlakuan BAP yang ditambah dengan ekstrak kecambah 1,25 g/l (A1B1) mampu menghasilkan tunas. Namun jika konsentrasi ekstrak ditingkatkan menjadi 2,5 g/l (A2B1) akan kembali memunculkan kalus. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kecambah diduga mengandung ZPT golongan auksin.

2. Saat Muncul Kalus

Perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau (A) pada beberapa taraf memberikan pengaruh sangat nyata terhadap parameter saat muncul kalus eksplan *A. annua*. Begitu juga dengan perlakuan komposisi ZPT (B) yang mampu memberikan pengaruh yang sangat nyata pada saat muncul kalus eksplan *A. annua*. Terdapat interaksi antara perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau dan komposisi ZPT terhadap parameter pengamatan saat muncul kalus.



Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Saat Muncul Kalus *A. annua* (HST)

Uji LSD 5% pada tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap saat muncul kalus. Perlakuan konsentrasi ekstrak 2,5 g/l (A2) memunculkan kalus paling cepat yaitu dengan rata-rata 17,80 HST. Sedangkan perlakuan yang memunculkan kalus paling lambat dengan rata-rata 18,83 HST terjadi pada perlakuan konsentrasi ekstrak 1,25 g/l (A1) meskipun perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan penambahan konsentrasi ekstrak 0 g/l yang mampu memunculkan kalus dengan rata-rata 18,63 HST.

Perlakuan komposisi ZPT pada tabel 4.2 menunjukkan adanya beda nyata antar perlakuan terhadap saat muncul kalus. Kemunculan kalus tercepat dengan rata-rata 13,13 HST yaitu pada perlakuan pemberian NAA 0,5 ppm (B3). Sedangkan perlakuan yang memunculkan kalus paling lambat yaitu pada penambahan BAP 0,5 ppm (B1) dengan rata-rata 21,83 HST.

Tabel 2. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Saat Muncul Kalus *A.annua* (HST)

Perlakuan	Rerata Saat Muncul Kalus (HST)
Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (g/l)	
A0	18,63 a ¹⁾
A1	18,83 a
A2	17,80 b
Komposisi ZPT (ppm)	
B1	21,83 a
B2	20,30 b
B3	13,13 c
Interaksi A dan B (+) ²⁾	
Kombinasi Perlakuan	
A0B1	20,00 ab
A0B2	18,70 bc
A0B3	14,20 e
A1B1	20,90 a
A1B2	21,00 a
A1B3	11,60 f
A2B1	21,60 a
A2B2	18,20 cd
A2B3	10,60 f

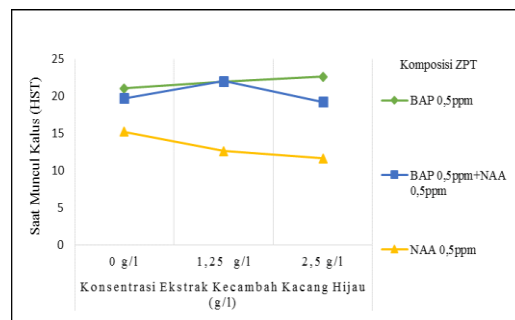
Keterangan :

¹⁾ : angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada pengujian LSD (Least Significance Different) pada taraf 5%

²⁾(-) : Tidak ada interaksi antara A dan B,

(+) : Ada interaksi antara A dan B

Kombinasi perlakuan pada Tabel 2 menunjukkan adanya beda nyata terhadap kemunculan kalus. Perlakuan MS+2,5 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A2B3) dan MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A1B3) memunculkan kalus tercepat masing-masing adalah 10,60 HST dan 11,60 HST. Perlakuan antar keduanya tidak ada beda nyata terhadap kemunculan kalus tetapi memberikan pengaruh yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A0B1), MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A0B2), MS+0 g/l ekstrak NAA 0,5 ppm (A0B3), MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1), MS+1,25g/lekstrak+BAP0,5ppm+NAA0,5ppm(A1B2), MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A2B1), dan MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A2B2).



Gambar 2. Grafik Interaksi Antara Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Saat Muncul Kalus *A. annua* (HST)

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada media MS+BAP 0,5 ppm (B1) semakin tinggi konsentrasi ekstrak, kemunculan kalus semakin lambat. Pada perlakuan yang tidak diberi ekstrak (A0) kalus muncul pada 20,00 HST, pada pemberian konsentrasi ekstrak 1,25 g/l kalus muncul 20,90 HST dan pada pemberian ekstrak 2,5 g/l kalus muncul pada 21,60 HST. Pada media MS+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (B2) pemberian ekstrak kecambah 1,25 g/l memperlambat kemunculan kalus. Tetapi ketika konsentrasi ekstrak ditingkatkan menjadi 2,5 g/l, kalus muncul lebih cepat. Jika pada media tidak diberi ekstrak kecambah (ekstrak kecambah 0 g/l), kalus akan muncul pada 18,70 HST, pada pemberian ekstrak 1,25 g/l kalus muncul pada 21,00 HST dan pada pemberian ekstrak 2,5 g/l kalus muncul lebih cepat menjadi 18,20 HST. Berbanding terbalik dengan perlakuan NAA 0,5 ppm, awal muncul kalus menjadi cepat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau yang diberikan. Pada konsentrasi 0 g/l ekstrak kecambah yang dikombinasikan dengan NAA 0,5 ppm rata-rata memunculkan kalus sangat cepat yaitu 14,20 HST, setelah konsentrasi ekstrak ditingkatkan menjadi 1,25 g/l kalus muncul lebih cepat menjadi 11,6 HST. Sedangkan ketika konsentrasi ekstrak ditingkatkan menjadi 2,5 g/l kalus muncul lebih cepat menjadi 10,60 HST.

Berdasarkan uraian di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa pada medium MS+BAP 0,5ppm semakin tinggi konsentrasi ekstrak, kalus muncul semakin lambat sedangkan pada media MS+BAP 0,5ppm+NAA 0,5ppm semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin cepat muncul kalus dan pada medium MS+NAA 0,5ppm semakin tinggi konsentrasi ekstrak, kalus muncul semakin cepat.

3. Lama Masa Kalus

Parameter lama masa kalus merupakan salah satu cara mengetahui berapa lama waktu yang diperlukan bagi kalus mampu beregenerasi menjadi tunas atau akar. Lama masa kalus hanya

berlaku untuk eksplan yang dapat beregenerasi menjadi tunas dan akar. Jika kalus tidak beregenerasi maka tidak dihitung.

Tabel 3. Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Lama Masa Kalus *A. annua* (Hari)

Perlakuan	Rerata Lama Masa Kalus Sampai Muncul Tunas (Hari)
A1B1	24,50 ± 0,70
Perlakuan	Rerata Lama Masa Kalus Sampai Muncul Akar (Hari)
A0B2	21,00 ± 0,56
A0B3	5,20 ± 0,62
A1B3	3,20 ± 0,42
A2B3	14,50 ± 2,54
Perlakuan	Rerata Lama Masa Kalus Sampai Muncul Tunas +Akar (<i>planlet</i>) (Hari)
A1B2	13,80 ± 1,13

Tabel 3 menunjukkan eksplan yang mampu beregenerasi menjadi tunas adalah dari perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1) dengan rata-rata masa kalus 24,50 HST. Eksplan yang mampu beregenerasi menjadi akar adalah MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A0B2), MS+0 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A0B3), MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A1B3), dan MS+2,5 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A2B3) dengan masing-masing masa kalus 21,00 hari; 3,20 hari; 5,20 hari; dan 14,50 hari. Sedangkan untuk eksplan yang mampu beregenerasi menjadi *planlet* (tunas dan akar) adalah perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2) dengan rata-rata masa kalus 13,80 hari.

Hasil menunjukkan bahwa pada semua medium MS yang hanya mengandung NAA dan menggunakan ekstrak kecambah akan muncul akar, termasuk pada medium yang mengandung BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm tetapi tidak diberi ekstrak kecambah, (A0B2) juga menghasilkan akar. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kecambah kacang hijau diduga mengandung hormon auksin.

4. Warna Kalus

Warna kalus dapat dipergunakan sebagai indikator pertumbuhan eksplan yang dibudidayakan secara *in vitro* karena menggambarkan penampilan visual terhadap tingkat keaktifan pembelahan sel-sel kalus (Nulfitriani *et al.* 2017). Jaringan kalus yang dihasilkan suatu eksplan biasanya memunculkan

warna yang beragam (Indah dan Ermavitalini, 2013). Kalus dapat dikatakan baik jika permukaan kalus didominasi oleh warna hijau. Menurut Robbiani (2010) dalam Fitriyani (2014), warna kalus dapat mengindikasikan adanya klorofil dalam jaringan, semakin hijau warna kalus maka semakin banyak pula kandungan klorofil di dalamnya.

Pada gambar hasil pengamatan terhadap warna kalus dan tabel 4 yang menunjukkan bahwa sebagian besar kalus yang terbentuk dari eksplan daun *A.annua* adalah hijau dan beberapa perlakuan berwarna hijau kekuningan.

Warna kalus hijau dihasilkan oleh perlakuan MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A0B1), MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1), MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A2B1), dan MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A2B2). Kalus yang berwarna hijau tersebut ukurannya semakin membesar. Warna hijau pada kalus mengidentifikasi adanya kandungan klorofil pada jaringan. Kalus yang berwarna hijau selain mengandung banyak klorofil tetapi juga memiliki ukuran yang cukup besar yang menandakan bahwa kalus beregenerasi dengan baik dan sel-selnya masih aktif membelah (Lizawati, 2010 dalam Fitriyani, 2014).

Tabel 4. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Warna Kalus *A. annua*

Perlakuan	Warna Kalus
A0B1	hijau
A0B2	hijau keuningan
A0B3	hijau kekuningan
A1B1	hijau
A1B2	hijau keuningan
A1B3	hijau kekuningan
A2B1	hijau
A2B2	hijau
A2B3	hijau kekuningan

Warna kalus hijau kekuningan dihasilkan oleh perlakuan MS+0 g/l +BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A0B2), MS+0 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A0B3), MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2), MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A1B3), dan MS+2,5 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A2B3). Meskipun kalus berwarna hijau kekuningan tetapi ukurannya masih mampu membesar. Kalus yang berwarna hijau kekuningan tersebut merupakan kalus yang tumbuh dengan baik karena kalus masih aktif melakukan metabolisme dalam sel (Leupin (2000) dalam Fitriyani (2014)).

5. Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai pertumbuhan kalus. Tekstur kalus yang dihasilkan suatu eksplan yang dikultur cenderung berbeda-beda. Menurut Deli *et al.* (2015) tekstur kalus tergantung pada jenis tanaman, komposisi media, zat pengatur tumbuh dan kondisi kultur saat inisiasi dan pemeliharaan kalus.

Sesuai hasil pengamatan yang dilakukan pada minggu ke-4 terhadap tekstur kalus menunjukkan bahwa sebagian besar kalus yang terbentuk mempunyai tekstur yang remah (*friable*) dan terdapat beberapa perlakuan yang bertekstur kompak (*non friable*) (). Tekstur kalus terbagi atas 3 kriteria yaitu remah (*friable*) dan kompak (*non friable*) dan campuran antar keduanya (Setiawati *et al.* 2019). Kalus yang bertekstur remah memiliki struktur sel yang renggang dan mudah rapuh. Sedangkan kalus kompak memiliki struktur sel yang rapat dan menghasilkan tonjolan yang padat (Santoso dan Nursandi 2003).

Tabel 5. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Tekstur Kalus *A.annua*

Perlakuan	Tekstur
-----------	---------

A0B1	remah (<i>friable</i>)
A0B2	remah (<i>friable</i>)
A0B3	remah (<i>friable</i>)
A1B1	kompak (<i>non friable</i>)
A1B2	remah (<i>friable</i>)
A1B3	remah (<i>friable</i>)
A2B1	remah (<i>friable</i>)
A2B3	remah (<i>friable</i>)

Kalus yang bertekstur remah (*friable*) dihasilkan oleh perlakuan MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A0B1), MS+0 g/l +BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A0B2), MS+0 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A0B3), MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2), MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A1B3), MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A2B1), dan MS+2,5 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A2B3).

Menurut Mahadi *et al.* (2016) dalam Setiawati *et al.* (2019) kalus yang memiliki tekstur remah mampu mengalami pembelahan sel yang cepat jika dibandingkan dengan kalus yang bertekstur kompak. Menurut Rosmaina *et al.* (2015), tekstur kalus remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi dan mampu meningkatkan aerasi oksigen antar sel.

Sedangkan kalus yang bertekstur kompak (*non friable*) dihasilkan oleh perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1) dan MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A2B2). Tekstur kalus kompak dianggap baik karena mampu mengakumulasi metabolit sekunder lebih banyak (Indah dan Ermavitalini, 2013). Menurut Mahadi *et al.* (2016), tekstur kalus kompak disebabkan adanya lignifikasi sehingga teksturnya menjadi keras. Tekstur kalus kompak merupakan efek dari sitokinin dan auksin yang mempengaruhi potensial air dalam sel yang menyebabkan penyerapan air dari medium ke dalam sel meningkat, sehingga sel menjadi lebih kaku (Dwi *et al.* 2012).

6. Bobot Segar

Perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau (A) dan perlakuan komposisi ZPT (B) memberikan pengaruh sangat nyata terhadap bobot segar kalus *A.annua*. Terdapat interaksi antara perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau dan komposisi ZPT terhadap bobot segar kalus. Uji lanjut LSD 5% pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap bobot segar kalus *A. annua*. Perlakuan tanpa pemberian

ekstrak (0 g/l / A0) menghasilkan bobot segar kalus tertinggi dengan rata-rata 0,78 g. Sedangkan untuk bobot segar terendah dihasilkan oleh perlakuan konsentrasi ekstrak 1,25 g/r (A1) dengan rata-rata 0,43 g. Perlakuan konsentrasi ekstrak 1,25 g/liter (A1) tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi ekstrak 2,5 g/l (A2) tetapi, keduanya akan memberikan pengaruh yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi ekstrak 0 g/l (A0).

Tabel 6. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Bobot Segar Kalus *A.annua* (g)

Perlakuan	Rerata Bobot Segar Kalus (g)
Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (g/l)	
A0	0,78 a ¹⁾
A1	0,43 b
A2	0,47 b
Komposisi ZPT (ppm)	
B1	0,42 a
B2	0,60 a
B3	0,65 b
Interaksi A dan B	(+) ²⁾
Kombinasi Perlakuan	
A0B1	0,42 b
A0B2	0,87 a
A0B3	1,04 a
A1B1	0,43 b
A1B2	0,55 b
A1B3	0,33 cd
A2B1	0,42 b
A2B2	0,39 bc
A2B3	0,60 b

Keterangan :

¹⁾ : angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada pengujian LSD (Least Significance Different) pada taraf 5%

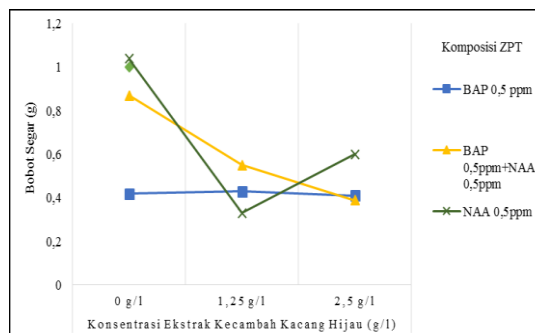
²⁾(-) : Tidak ada interaksi antara A dan B,

(+) : Ada interaksi antara A dan B

Perlakuan komposisi ZPT pada tabel 4.5 menunjukkan adanya beda nyata antar perlakuan terhadap bobot segar kalus *A. annua*. Bobot segar kalus tertinggi dengan rata-rata 0,65 g dihasilkan oleh perlakuan media MS+NAA 0,5 ppm (B3). Sedangkan bobot segar kalus terendah dengan rata-rata 0,42 g yaitu pada perlakuan media MS+BAP 0,5 ppm (B1). Perlakuan media MS+NAA 0,5 ppm (B3) dan media MS+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (B2) tidak terdapat beda nyata, tetapi akan berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan media MS+BAP 0,5 ppm (B1).

Kombinasi perlakuan pada tabel 6 menunjukkan adanya beda nyata terhadap parameter pengamatan bobot segar kalus *A.annua*. Perlakuan MS+0 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A0B3) menghasilkan bobot segar kalus tertinggi dengan rata-rata 1,04 g. Tetapi perlakuan MS+0 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A0B3) tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A0B2) yang memiliki rata-rata 0,87 g. Bobot segar kalus terendah rata-rata 0,33 g oleh perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A1B3).

Rata-rata bobot segar kalus pada perlakuan MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A0B2) dan MS+0 g/l+NAA 0,5 ppm (A0B3) tidak berbeda nyata, tetapi keduanya akan berpengaruh nyata jika dibandingkan dengan perlakuan media MS+0 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A0B1), MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1), MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2), MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5 ppm (A1B3), MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A2B1), MS+2,5 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A2B2), dan MS+2,5 g/l ekstrak +NAA 0,5 ppm (A2B3).



Gambar 3. Grafik Interaksi Antara Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Bobot Segar Kalus *A.annua* (g)

Gambar 3 menunjukkan bobot segar *A. annua* pada perlakuan media MS+BAP 0,5 ppm (B1) yang dikombinasikan dengan konsentrasi ekstrak 0 g/l (A0) menghasilkan rata-rata bobot segar kalus 0,42 g, setelah konsentrasi ekstrak dinaikan menjadi 1,25 g/l (A1) rata-rata bobot segar kalus meningkat menjadi 0,43 gram, tetapi ketika konsentrasi dinaikan menjadi 2,5 g/l (A3) bobot segar kalus justru menurun menjadi 0,42 gram. Pada media MS+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (B2) yang dikombinasikan dengan ekstrak kecambah kacang hijau bobot segar kalus

semakin menurun seiring dinaikannya konsentrasi ekstrak.









Berdasarkan uraian di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, bobot segar kalus semakin menurun.

7. Saat Muncul Tunas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yang mampu menghasilkan tunas yaitu perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak +BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2) dan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1). Perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2) dari 10 ulangan yang ditanam, hanya 2 ulangan yaitu ulangan 3 dan 4 yang mampu menghasilkan tunas sedangkan sisanya tetap menjadi kalus hingga akhir pengamatan yaitu minggu ke-12.

Perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm (A1B1) dari 10 ulangan yang ditanam, hanya 2 yaitu ulangan ke-9 dan ke-10 yang mampu menghasilkan tunas sedangkan sisanya tetap menjadi kalus hingga akhir pengamatan yaitu minggu ke-12. Pada ulangan ke-9 perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak +BAP 0,5 ppm (A1B1) tunas muncul pada 46 HST dengan jumlah 2 tunas, sedangkan ulangan ke-10 tunas muncul pada 45 HST dengan jumlah 2 tunas. Perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2) ulangan ke-3 tunas muncul pada 36 HST dengan jumlah 5 tunas, sedangkan pada ulangan ke-4 perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2) tunas muncul pada 33 HST dengan jumlah 1 tunas.

Hasil menunjukkan bahwa saat muncul tunas tercepat diperoleh dari perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2) dan jumlah tunas terbanyak diperoleh dari perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5 ppm+NAA 0,5 ppm (A1B2). Hal ini sesuai dengan pernyataan Wareing dan Philips (1981) yang menyatakan bahwa sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin mampu menstimulasi pembelahan sel tanaman dan memacu sel-sel untuk berdiferensiasi.

Perlakuan	Saat Muncul Tunas	Jumlah Tunas
A1B1		
	46 HST	Jumlah tunas 2
A1B1		
	45 HST	Jumlah tunas 2
A1B2		
	36 HST	Jumlah tunas 5
A1B2		
	33 HST	Jumlah tunas 1

Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Saat Muncul Tunas *A.annua* (HST)











Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kecambah kacang hijau berpengaruh sangat nyata terhadap regenerasi eksplan artemisia khususnya dalam pembentukan tunas. Hal ini dibuktikan pada media MS+BAP 0,5ppm+NAA 0,5ppm yang mampu memunculkan tunas dan akar (*planlet*) ketika diberi tambahan ekstrak kecambah konsentrasi 1,25 g/l. Tetapi, pada medium yang sama tanpa pemberian ekstrak kecambah hasil kultur mengarah ke pertumbuhan akar. Begitu juga pada medium MS+BAP 0,5ppm ketika dikombinasikan dengan ekstrak kecambah konsentrasi 1,25 g/l mampu memunculkan tunas. Namun, ketika konsentrasi ekstrak kecambah ditingkatkan menjadi 2,5 g/l pada media yang sama akan memunculkan kalus. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kecambah kacang hijau mengandung auksin yang relatif mampu memunculkan tunas jika dikombinasikan dengan BAP. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Ulfa (2014) dan Khair *et al.* (2013) bahwa kecambah kadang hijau mengandung hormon auksin yang memiliki fungsi dalam pembelahan sel, pertumbuhan akar (pada kultur *in vitro*), fototropisme, geotropism, partenokarpi, apikal, dominan, pembentukan kalus dan repirasi.. Auksin dapat mempengaruhi kinerja sitokinin, hormon sitokinin merupakan ZPT yang mempengaruhi munculnya tunas, apabila pemberian auksin dalam konsentrasi yang tepat

maka transpor sitokinin sesuai dengan fungsinya untuk menginisiasi munculnya tunas (Pamungkas dan Nopiyanto, 2020).

8. Saat Muncul Akar

Secara teoritis media kultur yang digunakan untuk membentuk akar adalah yang mengandung golongan ZPT auksin. Namun penelitian ini bisa digunakan untuk menganalisis apakah ekstrak kecambah kacang hijau mengandung ZPT golongan auksin atau tidak.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua eksplan mampu memunculkan akar. Pada penelitian ini perlakuan yang menghasilkan akar dapat dilihat pada tabel 4.7. Perlakuan MS+0 g/l ekstrak+ BAP 0,5ppm+NAA 0,5ppm (A0B2) rata-rata akar muncul pada 39,70 HST dengan panjang akar 2 cm dan jumlah akar 1,60 helai. Pada perlakuan MS+0 g/l ekstrak+NAA 0,5ppm (A0B3) rata-rata akar muncul pada 31,60 HST dengan panjang akar 3,15 cm dan jumlah akar 5,70 helai. Perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+BAP 0,5ppm+NAA 0,5ppm (A1B2) rata-rata akar muncul pada 34,80 HST dengan panjang akar 3,35 cm dan jumlah akar 4,20 helai. Pada perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5ppm (A1B3) rata-rata akar muncul pada 14,80 HST dengan panjang akar 5,30 cm dan jumlah akar 18,60 helai. Sedangkan pada perlakuan MS+2,5 g/l ekstrak +NAA 0,5ppm (A2B3) rata-rata akar muncul pada 14,50 HST dengan panjang akar 3,10 cm dan jumlah akar 10,30 helai.

Perlakuan	Saat Muncul Akar	Panjang dan Jumlah Akar
A0B2	 39,70 HST	 Panjang akar: 2 cm Jumlah akar : 1,60 helai
A0B3	 31,60 HST	 Panjang akar: 3,15 cm Jumlah akar : 5,70 helai
A1B2	 34,80 HST	 Panjang akar: 3,35 cm Jumlah akar : 4,20 helai
A1B3	 14,80 HST	 Panjang akar: 5,30 cm Jumlah akar : 18,60 helai
A2B3	 14,50 HST	 Panjang akar: 3,10 cm Jumlah akar : 10,30 helai

Gambar 5. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kecambah Kacang Hijau dan Komposisi ZPT Terhadap Saat Muncul Akar *A.annua* (HST)

Berdasarkan hasil penelitian rata-rata akar muncul tercepat yaitu pada perlakuan MS+2,5 g/l ekstrak +NAA 0,5ppm (A2B3). Akar terpanjang yaitu pada perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5ppm (A1B3). Sedangkan jumlah akar terbanyak dihasilkan oleh perlakuan MS+1,25 g/l ekstrak+NAA 0,5ppm (A1B3). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kecambah kacang hijau diduga mengandung hormon auksin,

sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak, akar muncul semakin cepat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau berpengaruh terhadap regenerasi eksplan *A. annua* secara *in vitro* khususnya dalam pembentukan tunas. Jika ekstrak diberikan ke media tanpa pemberian ZPT mampu menghasilkan kalus.

Perlakuan komposisi ZPT berpengaruh terhadap regenerasi eksplan *A. annua* secara *in vitro* khususnya pada parameter saat muncul kalus dan bobot segar kalus. Kalus yang terbentuk rata-rata bertekstur remah (*friable*) dan berwarna hijau kekuningan.

Terdapat interaksi antara kombinasi perlakuan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau dan komposisi ZPT terhadap regenerasi eksplan *A.annua* secara *in vitro* yang terjadi pada awal muncul kalus dan bobot segar kalus.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, M. 2019. Induksi Akar Tunas Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Secara *In Vitro* pada Media MS dan N6 dengan Menggunakan Beberapa Konsentrasi NAA. Skripsi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Asmara, D.T. 2019. Pengaruh Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna Radiata* (L) R.Wilczek) Pada (*Grammatophyllum Scriptum* (Lidl) B1.) Secara *In Vitro*. Undergraduate (S1) Thesis Universitas Islam Negeri Walisongo. Semarang.
- Ashriani, E.N., 2020. Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga Seri Pertanian Praktis. Banjar : Pustaka Bina Putera.
- Azizi, A.A.A., I. Roostika, dan E. Darda. 2017. Multiplikasi Tunas *In Vitro* Berdasarkan Jenis Eksplan Pada Enam Genotipe Tebu (*Saccharum officinarum* L.). Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 23(2) : 90–97.
- Basri, A.H.H., 2016. Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyak Tanaman Bebas Virus. Agricra Ekstensia. 10 (1): 64-73.
- Bimasri, J. 2014. Peningkatan Produksi Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Di Tanah Gambut Melalui Pemberian Pupuk N Dan P. Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal : 613-620.
- Corina, I.P., Mukarlina, dan L. Riza. 2014. Respon Pertumbuhan Kultur Jeruk Siam (*Citrus nobillis* var. Microcarpa) dengan Penambahan Ekstrak Tauge dan Benzilaminopurin (BAP). Protobion. 3 (2) : 120-124.
- Dewi, N., I.S. Dewi, dan I. Roostika. 2016. Pemanfaatan Teknik Kultur *In Vitro* untuk Konservasi Plasma Nutfah Ubi-ubian. Jurnal AgroBiogen. 10(1):34-44.
- Deli, N.R., Z.A. Noli, dan S. Suwirmen. 2015. Respon Pertumbuhan Nodus *Artemisia vulgaris* L. pada Medium *Murashige-Skoog* dengan Penambahan Beberapa Zat Pengatur Tumbuh Secara *In Vitro*. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 4(3).
- Dinika, A.R., N.W. Saputro, K. Sulandjari dan H. Rahmi. 2021. Organogenesis Kalus Tanaman Krisan (*Chrysanthemum indicum* L.) dengan Penggunaan Kinetin dan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*). Jurnal Agrium. 18(1) : 72-79.
- Dwi, N.M., Waeniati, Muslimin, dan I.N. Suwastika. 2012. Pengaruh Penambahan Air Kelapa dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2-4-D Pada Medium MS Dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau (*Vitis vinifera* L.). Jurnal National Science. 1(1).53-63.
- Fauziah, A., dan W. Widoretno. 2015. Regenerasi Tanaman dari Eksplan Kalus Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Secara *In Vitro*. Jurnal Biotropika. 3(1) : 32-35.
- Fitriyani, W. 2014. Respon Pertumbuhan Kalus Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) Pada Media MS Dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D yang Dikombinasikan dengan Air Kelapa. Malang.
- Gunawan, L.W. 1998. Teknik Kultur Jaringan. Bogor: PAU IPB.
- Gusmaini, G. dan H. Nurhayati. 2007. Potensi Pengembangan Budidaya *Artemisia annua* L. Di Indonesia. Perspektif. 6 (2) : 57-67.
- Hairuddin, R., V. Rahman dan U. Z. Hamdani. 2021. Mikropropagasi Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan ZPT Kinetin dan Variasi ZPT Ekstrak Tauge. Artikel Rahman. Diakses 16 Maret 2022.
- Handayani, I., L. Nazirah, M. Ismadi, Rusdi dan Rd. S. Handayani. 2020. Pengaruh Konsentrasi BAP Pada Perkecambahan Biji Pamelon Asal Aceh Secara *In Vitro*. Jurnal Agrium .17(2) :149-155.
- Hapsoro, Dwi dan Yusnita. 2018. Kultur Jaringan : Teori dan Praktik. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Harjadi SS. 2009. *Zat Pengatur Tumbuh*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Indah, P.N., dan D. Ermavitalini. 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 ITS. 2(1).
- Isnaeni, S., L. Chaidir dan D. Novie. 2018. Pengaruh Pertumbuhan Tanaman Nilam Aceh (*Pogostemon cablin* Benth.) Dengan Penambahan Naftalen Asam Asetat (NAA). Jurnal Hexagro. 2 (1) : 11-15.
- Japar. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Tauge Pada Medium *Murashige and Skoog* (MS) Terhadap Pertumbuhan *Planlet* Krisan (*Chrysanthemum* sp.) Secara *In Vitro*. Skripsi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Medan.
- Khatima, K., 2022. Induksi Kalus Tanaman Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) dengan 2,4-D pada Berbagai Sumber Eksplan Secara *In Vitro*. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Khair, H., Meizal dan Hamdani, Z.R. (2013). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Bawang Merah Dan Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Stek Tanaman Melati Putih (*Jasminum sambac* L.). Jurnal Agrium.18 (2).
- Kinansi, R.R., R. Mayasari dan D.A. Pratomawati. 2017. Pengobatan Malaria Kombinasi Artemisinin (ACT) Di Provinsi Papua Barat Tahun 2013. BALABA. 13 (1): 43-54.
- Kurnianingsih, R., M.Ghazali, S. Rosidah, A. Muspiah, S.P. Astuti, dan A. Nikmatullah. 2020. Pelatihan Teknik Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan. JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri). 4 (5) : 888-896.
- Lasmaria, Y., L. Fitriani dan Seprianingsih. 2016. Pengaruh Pupuk Organik Terhadap Pertumbuhan Kacang Hijau (*Phaseolus ratiatus* L.). Hal :1-7.
- Latunra, A.I., Baharuddin dan M. Tuwo. 2016. Respon Pertumbuhan Propagul Pisang Barangan (*Musa acuminata* Colla) dengan Ekstrak Kecambah Kacang Hijau Secara *In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional from Basic Science to Comprehensive Education. 104-108.
- Laughlin, J.C. 1978. The Effect of Band Placed Nitrogen and Phosphorus Fertilizer on The Yield of Poppies (*Papaver somniferum* L.) Grown on Krasnozern Soil. Acta Horticulturae. 73: 165-172.
- Lestari, E.G. 2011. Peran Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan. Jurnal Agrobiogen. 7(1) : 63-68.
- Madah, A. 2017. Pengaruh Ekstrak Kecambah Kacang Hijau Terhadap Multiplikasi Tanaman Hias Krisan (*Chrysanthemum morifolium* L.) Secara *In Vitro*. Diploma Thesis UIN Sunan Gunung Djati. Bandung.
- Mahadi I, W. Syafi'i dan Y. Sari. 2016. Induksi Kalus Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*) Menggunakan Hormon 2,4-D dan BAP dengan Metode *In Vitro*. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia. 21(2): 84-89.
- Nasution, U.R. 2018. Pengaruh Konsentrasi BAP dan NAA Terhadap Induksi Kalus Daun Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Secara *In Vitro*. Skripsi thesis. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim .Riau.
- Nulfitriani, Z. Basri dan, I. N.Suwastika. 2017. Induksi Kalus dan Inisiasi Tunas Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu. e-Jurnal Mitra Sains. 5 (2).11-18.
- Octaviani, I., Z.A. Noil dan Suwirman. 2016. Pertumbuhan dan Kadar Artemisinin Cina Baru (*Artemisia Vulgaris* L). Pada Intensitas Cahaya dan Komposisi Media Tanam yang Berbeda. Laboratorium Fisiologi dan Kultur Jaringan Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas. Jurnal Biocelbes. 10 (2): 43-51.
- Pamungkas S.S.T dan R.Nopiyanto. 2020. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Alami Dari Ekstrak Tauge Terhadap Pertumbuhan Pembibitan Budchip Tebu (*Saccharum officinarum* L.) varietas Bululawang (BL). Mediagro, 16 (1): 68-80.
- Purita, S.Y., N.R. Ardiani dan N. Basuki. 2017. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh Jenis BAP Terhadap Pertumbuhan Planlet Sub Kultur Jaringan Tanaman Nanas (*Ananas Comosus* L. Merr). Jurnal Produksi Tanaman. 5(7) : 1207-1212.
- Putri, R.R.D., Suwirman dan N. Nasir. 2018. Pengaruh *Naphthalene Asam Asetat* (NAA) pada Pertumbuhan Akar Pisang Raja Kinalun Secara *In Vitro*.Jurnal Biologi Universitas Andalas. 6 (1).
- Rasud,Y. dan Bustaman. 2020. Regenerasi eksplan Secara *In Vitro* dari Daun Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI). 25 (1):67-72.
- Rasud,Y., Z. Basri., dan N. Sahiri. 2019. Induksi Kalus Cengkeh dari Eksplan Daun Menggunakan 2,4-D Secara *In Vitro*.

- Jurnal Ilmu Pertanian. Universitas Tadulako Palu. 2(3): 1-7.
- Razavi, S.M., H. Arshneshin dan A. Ghasemian. 2016. In Vitro Callus Induction and Isolation of Volatile Compounds in Callus Culture (*Lallemantia iberica* M. Beib.) Fisch. & C.A.Mey. Journal of Plant Process and Function. 5(18).
- Rita, S., Mukarlina dan R. Linda. 2017. Respon Pertumbuhan Tunas Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Mill.) dengan Penambahan Ekstrak Taoge dan BAP (*Benzyl Amino Purine*). Jurnal Protobiont. 6 (3) : 142 – 146.
- oyani, I dan Fatmawati A. 2016. Pengaruh Konsentrasi NAA dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Tanaman Krisan Secara *In Vitro*. Jurnal Ilmiah Biologi “Bioscientist”. 4 (2).
- Samudera, A.A., H. Rianto dan Historiawati. 2019. Pengakaran *In Vitro* Eksplan Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Varietas Bululawang Pada Berbagai Konsentrasi NAA dan Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Planlet Tebu. Jurnal Ilmu Pertanian Tropika dan Subtropika. 4 (1) : 5 – 13.
- Santoso,U., dan F. Nursandi. 2003. Kultur Jaringan Tanaman. Malang: Pusbitan UMM.
- Sauji, A. (2018) Induksi Akar Kultur *Artemisia annua* L. Dalam Medium MS (*Murashige and Skoog*) yang Diperkaya dengan Air Kelapa dan ZPT NAA. Skripsi Universitas Muria Kudus. Kudus.
- Setiawati, T., A. Ayalla dan A. Witri. 2019. Regenerasi eksplan Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) dengan Penambahan Berbagai Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains (EduMatSains). 3(2) :119-132.
- Suminar, E., Sumadi , S. Mubarok , T. Sunarto dan N.S. E. Rini. 2017. Percepatan Penyediaan Benih Sumber Kedelai Unggul Secara *In Vitro*. Jurnal Agrikultura. 28 (3): 126-135.
- Syahid, S.F., L. Seti. 2022. Regenerasi Kalus Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) *In Vitro*. Jurnal Biologi Universitas Andalas.10 (1).
- Umarie, I., W. Widiarti dan A. Wahab. 2012. Respon Pertumbuhan Eksplan Tomat Pada Pembiakan Kultur Jaringan Terhadap Imbangan ZPT Auksin dan Sitokinin Secara *In Vitro*. Agritrop.
- Umrotin, E. 2018. Pengaruh penambahan zat pengatur tumbuh NAA (*Naphtalene Asetic Acid*) dan BAP (*6-Benzyl amino purine*) terhadap induksi kalus metabolit delima hitam (*Punica granatum* L.var.) Secara *In Vitro*. Skripsi. Universitas islam negeri maulana malik ibrahim. Malang.
- Veronica, E., I. Amelia, K.A. Yunatan, N.K.S.D. Chrismayanti dan A.N. Mahendra .2020. Potensi Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oliefera*) dan Artemisia (*Artemisia annua*) sebagai Antimalaria *Plasmodium falciparum*. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada. 9(2).
- Wahyuni, A., B. Satria dan A. Zainal. 2020. Regenerasi eksplan Gaharu dengan NAA dan BAP Secara *In Vitro*. Jurnal Penelitian Agronomi. 22(1): 39-44.
- Wareing, P.F., dan I.D.J. Phillips. 1981. Growth and Differentiation in Plant. Pergamon Press 3rdEd.
- World Health Organization. 2006. Monograph on Good Agricultural and Collection Practices (GACP) For *Artemisia annua* L. Geneva, World Health Organization.