

## PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH TERHADAP INDUKSI KALUS TANAMAN GAMBIR (*Uncaria gambir Roxb.*) ASAL PAKPAK BHARAT

(*The Effect of Plant Growth Regulator on Callus Induction of Gambier (*Uncaria gambir Roxb.*) from Pakpak Bharat*)

Nida Wafiqah Nabila M. Solin\*, Luthfi Aziz Mahmud Siregar, Mohammad Basyuni, Revandy Iskandar Muda Damanik

Program Studi Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Sumatera Utara  
JL. Dr. A. Sofian No. 3 Medan 20155, Sumatera Utara, Indonesia

\*Email korespondensi: [nida.wafiqah@uin-suska.ac.id](mailto:nida.wafiqah@uin-suska.ac.id)

### ABSTRACT

*Callus induction is a crucial stage in plant tissue culture, especially for species such as *Uncaria gambir*, which holds high potential in the pharmaceutical and agricultural industries. This study aims to evaluate the effectiveness of two combinations of plant growth regulators (PGRs)—2,4-D with kinetin versus NAA with BAP—in inducing high-quality callus based on morphological parameters: time of callus emergence, callus texture, and callus color. The study was conducted using a non-factorial Complete Randomized Design (CRD), consisting of two experimental series. The first series comprised 12 combinations of 2,4-D (0, 1, 2, and 3 ppm) with kinetin (0.5, 1, and 1.5 ppm), while the second series consisted of 20 combinations of NAA (0, 0.25, 0.75, and 1 ppm) with BAP (0, 0.75, 1.5, and 2.25 ppm). The results showed that the combination of 2,4-D at 2 ppm without kinetin produced the earliest callus emergence (7.2 days), with 80% friable texture and a dominant greenish-white color (80%), which are key indicators of meristematic and viable callus. In contrast, NAA–BAP combinations generally resulted in slower callus formation (emergence >15 days), compact texture, and yellowish-white or greenish-white coloration. Statistical analysis revealed significant differences ( $p<0.05$ ) among treatments, demonstrating that the 2,4-D–kinetin combination is more effective in inducing callus, and recommended as the optimal protocol for callus culture and cell suspension culture in gambier plants.*

Keywords : auxin, cytokinin, friable callus, medicinal plant

### PENDAHULUAN

Tanaman gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) merupakan salah satu komoditas pertanian penting di Indonesia, khususnya di wilayah Sumatera Utara dan Sumatera Barat. Berdasarkan data statistik pertanian, Indonesia merupakan negara pengekspor gambir utama dunia yang mampu mengekspor gambir sebesar 19 ribu ton dengan nilai ekspor mencapai US\$ 57 juta pada tahun 2022. Pakpak Bharat merupakan penghasil gambir terbanyak di Sumatera Utara dengan total produksi 1128,0 ton/tahun dengan produktivitas 0,94 ton/Ha (Badan Pusat Statistik Sumatera Utara, 2021) ; (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2022). Gambir dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia karena kandungan senyawa metabolit sekunder katekin yang memiliki nilai ekonomi tinggi terutama sebagai bahan baku industri obat-obatan (Munggari et al., 2022; Wardana et al., 2023). Gambir juga telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan aditif untuk produksi pakan ruminansia (Pazla et al., 2025).

Pemanfaatan gambir untuk menghasilkan metabolit sekunder dapat dilakukan melalui perbanyakan vegetatif dan generatif, namun membutuhkan waktu produksi yang cukup lama dan memiliki keterbatasan bahan baku (Hernani et al., 2020). Permintaan gambir yang terus meningkat mengharuskan dilakukannya peningkatan ketersediaan ekstrak gambir berkualitas. Perbanyakan (mikropropagasi) dengan teknik kultur jaringan ditemukan berpotensi sebagai pelengkap pertanian tradisional dalam produksi industri metabolit tanaman bioaktif (Sharma et al., 2011). Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan kultur kalus dari tanaman obat penting karena kalus memiliki potensi besar sebagai alternatif produksi metabolit sekunder untuk penggunaan industri, sehingga mengurangi tekanan pada populasi alami (Dar et al., 2021).

Kalus adalah massa sel yang berproliferasi tanpa diferensiasi yang berarti. Kalus dapat diperoleh dari bagian manapun dari seluruh tanaman yang mengandung sel yang membelah. Untuk

memaksimalkan pembentukan senyawa tertentu, kalus sebaiknya berasal dari bagian tanaman yang diketahui memiliki produksi tinggi (Chattopadhyay et al., 2002). Kultur kalus merupakan langkah awal dalam menentukan produksi bahan metabolit sekunder. Perkembangan eksplan menjadi kalus dipengaruhi oleh media yang digunakan, jenis dan sumber eksplan, serta zat pengatur tumbuh dan konsentrasi yang digunakan (Utomo et al., 2024).

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik yang bekerja dalam konsentrasi rendah untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Penggunaan ZPT memiliki peran penting dalam proses kultur jaringan terutama dalam mengarahkan pertumbuhan kalus yang belum terdiferensiasi. Interaksi dan keseimbangan ZPT yang digunakan dalam media mampu menentukan pertumbuhan sel yang dikulturkan (Widyastuti dan Deviyanti, 2018). Dua kelompok ZPT yang sering digunakan dalam induksi kalus adalah auksin dan sitokin. Penggunaan auksin dan sitokin untuk menginduksi kalus dari eksplan tanaman baik secara tunggal maupun kombinasi telah digunakan secara luas dan terdokumentasikan dengan baik pada berbagai tanaman (Ikeuchi et al., 2013).

Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan kinetin sangat terkenal karena kemampuannya dalam mendorong pembentukan kalus. 2,4-D merupakan auksin sintetis yang meningkatkan pembelahan sel dan perkembangan kalus. Sementara Kinetin merupakan suatu jenis sitokin yang mendukung pembelahan sel dan pembentukan tunas, dan telah terbukti meningkatkan kualitas kalus bila digunakan bersama 2,4-D. NAA merupakan auksin sintetik yang banyak digunakan dalam kultur jaringan yang aplikasinya dalam konsentrasi tinggi mampu memicu terbentuknya kalus (Millenia et al., 2022). BAP merupakan sitokin yang berperan dalam memacu pertumbuhan tunas baru dan multiplikasi tunas pada tanaman, serta mempengaruhi pembentukan kalus pada kultur jaringan tanaman (Widyawati, 2010).

Penelitian gambir di bidang kultur jaringan telah dilakukan oleh Adri (2017) bahwa ZPT 2,4-D pada konsentrasi 1 mg/l dapat menginduksi embrio somatik tanaman gambir secara langsung. Menurut Utomo et al., (2024), kombinasi 2,4-D 0,5 mg/L dan 1 mg/L BAP mampu membentuk kalus pada umur 17,86 HST. Penelitian Zainal et al., (2023) menunjukkan bahwa perlakuan 6 ppm BAP ditambah 0,1 ppm NAA merupakan perlakuan optimal untuk meningkatkan jumlah dan tunas gambir.

Dar et al., (2021) melakukan penelitian untuk menemukan konsentrasi terbaik empat zat pengatur tumbuh (BAP, NAA, kinetin dan 2,4-D) pada *Atropa acuminata*, salah satu tanaman obat yang penting. Mereka menemukan bahwa kombinasi fitohormon yang berbeda dapat menghasilkan jenis dan derajat kalus yang berbeda. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komposisi ZPT yang optimal untuk induksi kalus tanaman gambir secara in vitro. Penelitian difokuskan pada dua kombinasi ZPT utama, yaitu 2,4-D dengan kinetin, serta NAA dengan BAP, dengan harapan dapat diperoleh formulasi yang paling efektif untuk menghasilkan kalus berkualitas untuk tujuan perbanyakannya melalui kultur kalus tanpa menskarifikasi seluruh tanaman.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian UIN Sultan Syarif Kasim Riau dari bulan Maret sampai dengan bulan Desember 2024.

### Bahan dan Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *laminar air flow cabinet*, *hotplate*, autoklaf, timbangan analitik, alumunium foil, plastik bening, lakban bening,karet gelang, kertas label, kertas HVS, tisu, cawan petri, gunting, pipet tetes, pinset, *scalpel*, botol kultur, gelas piala, gelas ukur, oven, lampu bunsen, *magnetic stirrer*,kertas pH, batang pengaduk, *hand sprayer*, alat tulis, rak kultur, dan kamera digital.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gambir asal Pakpak Bharat yang diperoleh dari rumah kasa Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Sultan Syarif Kasim Riau, media MS (*Murashige* dan *skoog*), zat pengatur tumbuh (2,4-D, NAA, kinetin dan BAP), gula, HCl 0,1 N, HCl 1 N, NaOH 0,1 N, aquadest steril, alkohol 70%, bayclin, fungisida Dithane M-45 80WP, bakterisida Agrept 20WP, tween 80 dan spritus.

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial, yang terdiri dari 2 seri percobaan. Seri pertama adalah 12 kombinasi konsentrasi 2,4-D dan Kinetin, dimana 2,4-D terdiri dari 4 taraf konsentrasi, yaitu 0, 0,5, 1, 2 dan 3 ppm dan Kinetin terdiri dari 3 taraf konsentrasi, yaitu 0, 0,5, 1 ppm. Seri kedua adalah 20 kombinasi konsentrasi NAA dan BAP, dimana NAA terdiri dari 5 taraf konsentrasi, yaitu 0, 0,25, 0,5, 0,75, dan 1

ppm dan BAP terdiri dari 4 taraf konsentrasi, yaitu 0, 0,75, 1,5 dan 2,25 ppm. Masing-masing unit percobaan terdiri dari 5 ulangan, sehingga terdapat 160 unit percobaan.

## Pelaksanaan Penelitian

### Sterilisasi alat

Semua alat seperti botol-botol kultur, petridish, pinset, scapel, dan lainnya dicuci bersih kemudian direndam menggunakan larutan byclin 20% selama 24 jam lalu dicuci kembali hingga bersih dengan air setelah itu dikeringkan dan seluruh alat tanam dibungkus kertas (kecuali botol kultur) untuk disterilkan dengan autoklaf pada tekanan 15 psi dan temperatur dengan suhu 121°C selama 45 menit. Alat-alat digunakan setelah disterilisasi disimpan ke dalam oven.

### Pembuatan Media Kultur

Siapkan alat dan bahan, kemudian buatlah larutan media kultur dengan komposisi 250 ml aquades, makro MS (1,11g/l), agar-agar (1,625 g/l), gula (7,5 g/l). Kemudian tuangkan semua larutan ke dalam gelas ukur dengan label perlakuan. Selanjutnya tambahkan larutan stok hormon 2,4-D dan kinetin ke dalam masing-masing gelas ukur sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Masukkan stirrer ke dalam masing-masing gelas ukur. Kemudian homogenkan dengan menggunakan magnetic stirrer kurang lebih satu jam ketika larutan telah homogen, ukurlah pH larutan dengan menggunakan pH meter. pH yang dikehendaki untuk pertumbuhan eksplan adalah 5-5,8. Apabila pH larutan terlalu rendah dapat ditambahkan larutan NaOH untuk menaikkan pH larutan, sebaliknya apabila terlalu tinggi dapat diturunkan menggunakan larutan HCL, dan dilanjutkan dengan *hotplat* hingga mendidih. Setelah mendidih larutan dituang kedalam botol kultur ± 25 ml setiap botolnya. Botol ditutup menggunakan plastic PP 0,3 mm dan diikat dengan karet. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1,5 Psi selama 30 menit. Setelah itu botol-botol ditempatkan pada rak-rak kultur dan dilakukan penyeprotan dengan alkohol 70%..

### Sterilisasi Daun Gambir

Tahap awal sterilisasi gambir adalah ambil daun gambir dari rumah kasa, kemudian masukkan ke dalam botol dan dibawa ke ruangan sterilisasi. Tahapan sterilisasi dilakukan mengikuti metode (Solin & Siregar, 2025), langkah awal dimulai dengan mencuci eksplan air mengalir selama 30 menit, dilanjutkan menggunakan tween 80 (3 tetes/L) selama 15 menit, kemudian bilas dengan aquades sebanyak 3 kali selama 3-5 menit, selanjutnya perendaman fungisida Dithane M-45 80WP sebanyak (3g/L) + bakterisida Agrept 20WP (3g/L) selama 30 menit, selanjutnya eksplan direndam dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit kemudian bilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali selama 3-5 menit, konsentrasi 20% lama perendaman 15 menit kemudian rendam dengan konsentrasi 10% selama 15 menit dan bilas sebanyak 3 kali selama 3-5 menit. Setelah itu eksplan disterilisasi dengan aquades steril.

### Penanaman Eksplan dan Induksi Kalus

Penanaman eksplan dilakukan dengan cara memotong bagian daun menggunakan scalpel kemudian menggunakan pinset diletakkan dalam petridish. Hasil potongan daun gambir ditanam di dalam botol yang mengandung media MS dan ZPT, berjumlah 1 eksplan per botol. Kemudian botol ditutup dengan alumunium foil dan plastik PP kemudian diikat dengan karet sebanyak 3 lapis. Semua botol kultur diberikan label kemudian disusun pada rak kultur sesuai dengan denah perlakuan.

### Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan di ruang kultur dengan menjaga kebersihan dan suhu ruangan. Di dalam ruang kultur dipasang lampu TL 20 watt. Kultur diberikan penyinaran dan disemprot alkohol 70% setiap harinya.

### Parameter Pengamatan

#### Hari Muncul Kalus

Pengamatan hari muncul kalus diamati setiap setelah eksplan ditanam. diawali dengan terjadinya pembengkakan pada permukaan eksplan daun serta daun menggulung selanjutnya disusul dengan terbentuknya kalus pada pinggir daun atau tulang daun akibat dari perlukaan.

### Percentase Eksplan Berkalus

Perhitungan dilakukan di akhir pengamatan yaitu 60 hst. Dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\frac{\text{jumlah eksplan berkalus}}{\text{total eksplan}} \times 100\%$$

### Warna Kalus

Pengamatan warna kalus diamati pada saat di hari terakhir pengamatan, yaitu 28 hst. Penentuan warna kalus ditetapkan berdasarkan keterangan warna kalus yaitu hijau, hijau keputihan, putih kekuningan, kuning kecoklatan, coklat dan sebagainya yang diamati dengan menggunakan RHS Colour Chart.

### Tekstur Kalus

Pengamatan tekstur kalus diamati pada saat di hari terakhir pengamatan, yaitu 28 hst dengan mengamati tekstur kalus yang terbentuk. Tekstur kalus dibedakan menjadi 3 macam: kalus kompak (*non friable*), remah (*friable*), dan perpaduan antara tekstur kalus kompak dan kalus remah (*intermediate*).

### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji ANOVA, apabila berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji BNJ dengan taraf 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Waktu Muncul Kalus

Waktu muncul kalus merupakan waktu pembentukan kalus pertama pada tanaman eksplan. yang ditandai dengan pembengkakan jaringan, atau benjolan putih akibat cedera jaringan tanaman eksplan. Eksplan yang mulai membentuk kalus dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Waktu Muncul Kalus

Waktu muncul kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk jenis eksplan dan zat pengatur tumbuh yang digunakan (Mayerni et al., 2020). Penelitian ini menggunakan daun muda sebagai eksplannya, sehingga dapat dilihat bahwa hampir semua perlakuan dapat memunculkan kalus sejak 7 HST sampai 25 HST (Tabel 1). Dalila et al., (2013) mengatakan bahwa eksplan daun muda terdiri dari sel-sel kompeten dalam jaringan parenkim yang aktif mengalami pembelahan sel, sehingga akan lebih responsif terhadap induksi kalus. Kalus tidak terbentuk pada perlakuan kontrol 1 (tanpa 2,4-D dan kinetin), dan baru terbentuk pada 28 HST pada kontrol 2 (tanpa NAA dan BAP), yang mengindikasikan bahwa zat pengatur tumbuh tanaman diperlukan untuk induksi kalus. Perlakuan 2,4-D dan kinetin serta BAP dan NAA secara umum menunjukkan bahwa 2,4-D lebih superior dibandingkan NAA dalam memicu pembelahan sel.

Tabel 1. Waktu Muncul Kalus

Kinetin	2,4-D			
	0 ppm	1 ppm	2 ppm	3 ppm
0 ppm	-	8.8 <sup>ab</sup>	7.2 <sup>a</sup>	7.6 <sup>a</sup>
0.5 ppm	15.2 <sup>cde</sup>	10.4 <sup>ab</sup>	10 <sup>ab</sup>	8.4 <sup>a</sup>
1 ppm	13 <sup>bc</sup>	9.8 <sup>ab</sup>	8.6 <sup>a</sup>	8.4 <sup>a</sup>
BAP				
NAA	0 ppm	0.75 ppm	1.5 ppm	2.25 ppm
0 ppm	28.1 <sup>l</sup>	18.8 <sup>defghij</sup>	16.2 <sup>cdef</sup>	16.9 <sup>cdefg</sup>
0.25 ppm	17.9 <sup>defghij</sup>	22.2 <sup>jk</sup>	20.6 <sup>ghij</sup>	15.1 <sup>cd</sup>
0.5 ppm	19.2 <sup>defghij</sup>	19.8 <sup>fgij</sup>	15.7 <sup>cdef</sup>	20.5 <sup>ghij</sup>
0.75 ppm	21.4 <sup>hijk</sup>	25.4 <sup>kl</sup>	17.9 <sup>defghij</sup>	17.2 <sup>cdefghi</sup>
1 ppm	18.7 <sup>defghij</sup>	21.5 <sup>ijk</sup>	17.1 <sup>cdefgh</sup>	19.5 <sup>efghij</sup>

Keterangan: Superskrip yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada taraf p<0,05

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa waktu muncul kalus tercepat terdapat pada perlakuan 2,4-D 2 ppm dan 2,4-D 3 ppm tanpa kinetin, yaitu pada hari ke-7.2 dan 7.6, tetapi tidak berbeda nyata dengan

perlakuan 2,4-D lainnya (Tabel 1). Hasil ini sama dengan yang diperoleh Daulay et al., (2025) pada induksi kalus gambir Cubadak, dimana pemberian 2,4-D sebesar 3 ppm dan 2 ppm tanpa kinetin dapat menumbuhkan kalus tercepat, yaitu pada hari ke-7.66 dan 8.55. Waktu muncul kalus pada penelitian ini lebih cepat daripada penelitian Utomo et al., (2024) pada gambir varietas Udang, dimana pemberian 2,4-D 2 mg/L + BAP 1 mg/L baru mampu membentuk kalus pada 20 HST. Pada tanaman Rubiaceae lainnya, *M. speciosa*, perlakuan 2,4-D tanpa kinetin ditemukan memiliki potensi organogenik yang lebih tinggi dan menghasilkan kalus remah. Tetapi kinetin, baik diaplikasikan sendiri maupun bersamaan dengan 2,4-D tidak dapat mendorong pertumbuhan kalus sebaik 2,4-D (Zuldin et al., 2013).

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa perlakuan kinetin 1 dan 1.5 ppm tanpa 2,4-D memiliki kemampuan menumbuhkan kalus yang lebih lama, dibanding perlakuan 2,4-D tanpa kinetin. Hasil ini juga sama dengan penelitian (Daulay et al., 2025), dimana pemberian kinetin 1 ppm tanpa 2,4-D merupakan waktu terlama untuk memunculkan kalus pada tanaman gambir varietas Cubadak. Ini mengindikasikan bahwa penambahan 2,4-D dapat mempercepat munculnya kalus dan pemberian kinetin tanpa 2,4-D dapat memperlambat pertumbuhan kalus. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dalila et al., (2013) bahwa 2,4-D penting untuk induksi kalus, dan penambahan kinetin berguna untuk mendorong pertumbuhan kalus.

Secara keseluruhan dapat dilihat bahwa 2,4-D dengan/atau tanpa kinetin secara signifikan mampu membentuk kalus lebih cepat (7.2 HST) dibanding kombinasi NAA dengan BAP yang dua kali lebih lama (15.1 HST). Sejalan dengan penelitian Sakpere, et al., (2014) bahwa ada peningkatan kalus yang signifikan dengan penambahan 2,4-D dan kinetin dibanding BAP dan NAA. Khalida et al., (2019) menyatakan bahwa 2,4-D merupakan auksin terbaik untuk menginduksi pembentukan kalus. Ini diduga karena 2,4-D merupakan auksin yang mempunyai daya aktivitas yang kuat (Thomas & Chaturvedi, 2008), yang berfungsi memicu pembentukan kalus (Dwitara et al., 2023) karena mengubah sel menjadi terdiferensiasi saat mulai membelah (Dalila et al., 2013).

Kecepatan muncul kalus bukan satu-satunya indikator keberhasilan kultur kalus, namun merupakan indikator utama efisiensi dan keberhasilan protokol kultur, konsentrasi optimal zat pengatur tumbuh, dan kualitas potensial kalus yang dihasilkan. Dengan demikian, setidaknya beberapa bentuk pembentukan kalus diduga melibatkan dedifferensiasi sel (Ikeuchi et al., 2013).

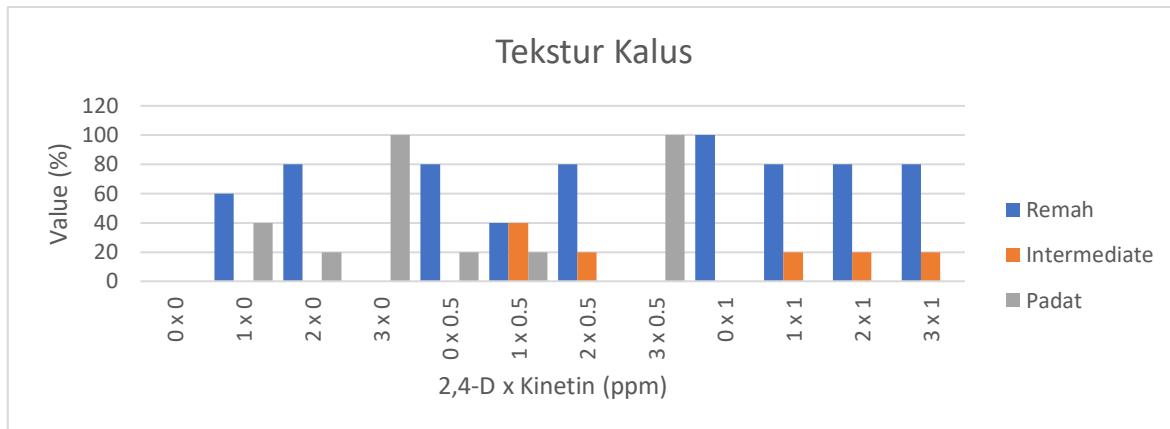
### **Morfologi Kalus**

Pemberian zat pengatur tumbuh juga mempengaruhi perkembangan, warna, dan tekstur kalus. Konsentrasi auksin yang tinggi dapat meningkatkan perkembangan kalus, tetapi sitokinin mempengaruhi warna kalus (Tarigan et al., 2024). Hasil pengamatan untuk parameter tekstur kalus dapat dilihat pada Gambar 2, dan hasil pengamatan untuk warna kalus dapat dilihat pada Gambar 3. Tekstur kalus merupakan parameter yang penting untuk melihat pertumbuhan dari suatu kalus. Tekstur kalus yang terbentuk dapat menentukan kualitas dari suatu kalus. Selain itu tekstur kalus dapat digunakan untuk mengetahui bahwa sel-sel tersebut merupakan sel yang masih aktif membelah dan sel-sel yang mengalami stagnasi dalam proses pembelahan sel (Putri et al., 2024). Tekstur kalus dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kompak, intermediet dan remah.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D 0-2 ppm dengan kinetin 0-1 ppm menghasilkan kalus remah 80%. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa 2,4-D mampu menginduksi kalus menjadi remah dengan mendorong pembelahan sel yang cepat dan dediferensiasi (Muthi'ah et al., 2023; Souza et al., 2014). Hal berbeda ditemukan pada perlakuan 3 ppm 2,4-D dengan 0 dan 0.5 ppm kinetin, dimana kalus bertekstur padat 100%. Ini diduga karena perlakuan auksin yang terlalu tinggi dapat membuat kalus menjadi kompak. Semakin tinggi konsentrasi auksin yang diberikan akan mempengaruhi peningkatan konsentrasi eksplan endogen (Astuti et al., 2020), sehingga sel-sel yang semula membelah mengalami penurunan aktifitas proliferasinya. Perbedaan tekstur kalus menjadi remah pada konsentrasi 3 ppm 2,4-D dengan penambahan sitokinin 1 ppm, diduga karena auksin dan sitokinin pada konsentrasi tersebut bekerja secara sinergis, sebagaimana yang dikatakan Syahid et al., (2010) bahwa kombinasi auksin dan sitokinin pada konsentrasi tepat mampu menghasilkan kalus dengan struktur remah.

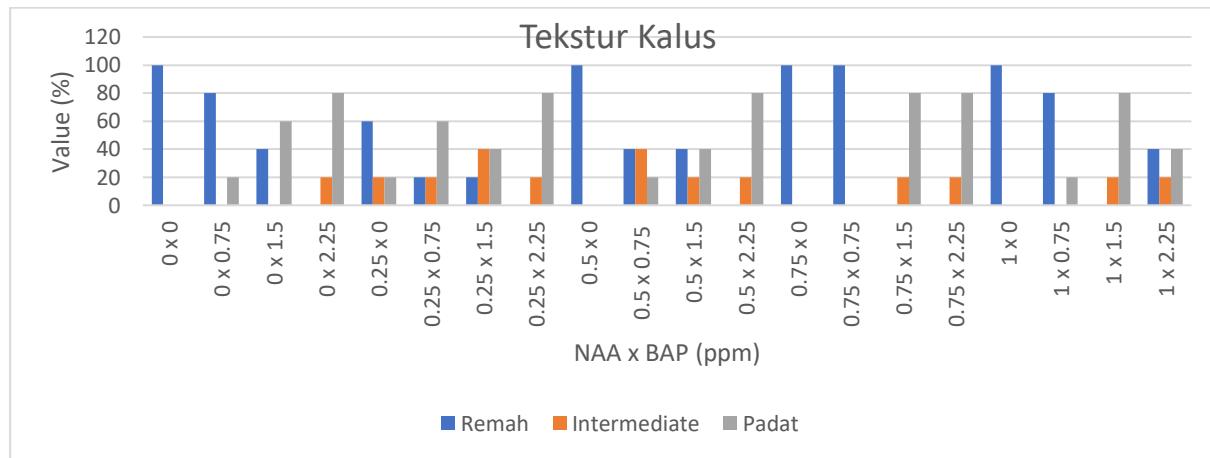
Dari gambar 2 dapat terlihat bahwa kombinasi 2,4-D dan kinetin lebih banyak menghasilkan kalus dengan tekstur remah dibanding kombinasi NAA dan BAP. Borejsza-Wysocki & Hrazdin, (1994) mengatakan bahwa 2,4-D mendorong peningkatan ukuran vakuola dan secara umum pembentukan kalus yang lebih longgar. Tekstur dari kalus remah, memiliki karakteristik sel-sel yang mudah rapuh dan renggang. Hal ini karena kalus dengan tekstur yang remah secara cepat dapat mengalami pembelahan untuk membentuk sel yang baru. George et al., (2008) mengatakan bahwa kalus yang baik adalah yang bersifat friable atau remah karena penyerapan nutrisi dan mediumnya akan lebih efisien akibat luas permukaan kalus yang kontak dengan medium tinggi. Rasud (2020) menambahkan bahwa kalus dengan tekstur yang remah memiliki karakter yang baik karena mudah untuk dipisah menjadi sel-sel

yang tunggal, dan mampu meningkatkan jumlah aerasi dari oksigen antar sel sehingga dapat mempermudah dalam melakukan perbanyak melalui kultur suspensi. Hal ini sangat ideal untuk keperluan produksi suspensi sel dan propagasi masal, karena kalus remah mudah terlepas dan tersebar dalam medium cair, memiliki tingkat pembelahan sel yang tinggi, dan lebih homogen secara seluler.



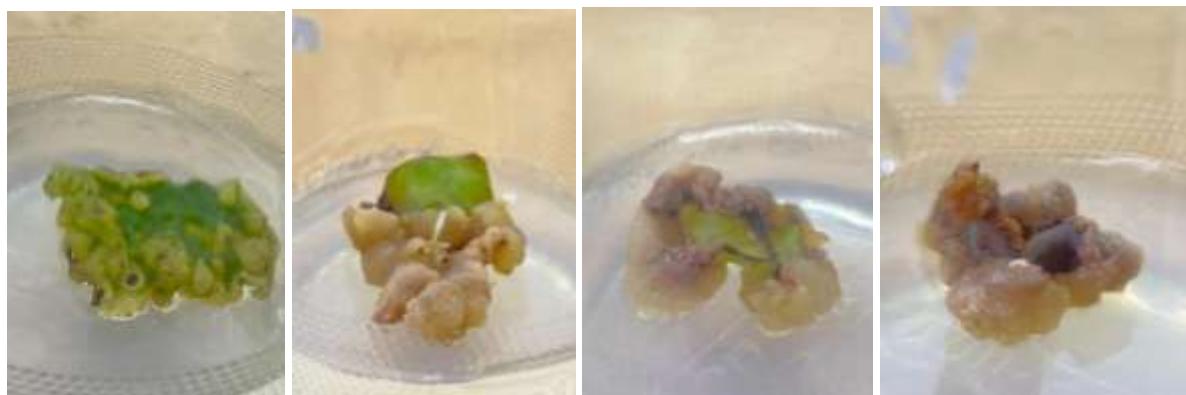
Gambar 2. Tekstur Kalus menggunakan ZPT 2,4-D dan Kinetin

Sebaliknya, pada gambar 3 terlihat bahwa kombinasi NAA dengan BAP menunjukkan pola yang lebih kompleks. Konsentrasi NAA 0-1 ppm tanpa BAP cenderung menghasilkan kalus remah, dan peningkatan konsentrasi BAP dengan maupun tanpa NAA cenderung meningkatkan persentase kalus padat. Junairiah et al., (2021) mengatakan bahwa tekstur kalus yang padat disebabkan oleh sitokin, yang berperan dalam transfer nutrisi. Lebih banyak sukrosa dalam medium yang melewati pembuluh floem menyebabkan tekanan turgor. Karena perbedaan kandungan cairan, tekanan turgor meningkat, memungkinkan osmosis untuk membawa nutrisi dan air dari medium ke dalam sel. Akibatnya, dinding sel akan menjadi lebih kaku, menghasilkan kalus yang padat. Dwitara et al., (2023) menambahkan bahwa kalus tipe kompak terdiri dari sel-sel padat yang sulit dipisahkan dan memiliki vakuola besar. Kalus tipe kompak cocok sebagai sumber metabolit sekunder karena kalus tipe kompak dapat mengakumulasi lebih banyak metabolit sekunder daripada kalus tipe remah.



Gambar 3. Tekstur Kalus menggunakan ZPT NAA dan BAP

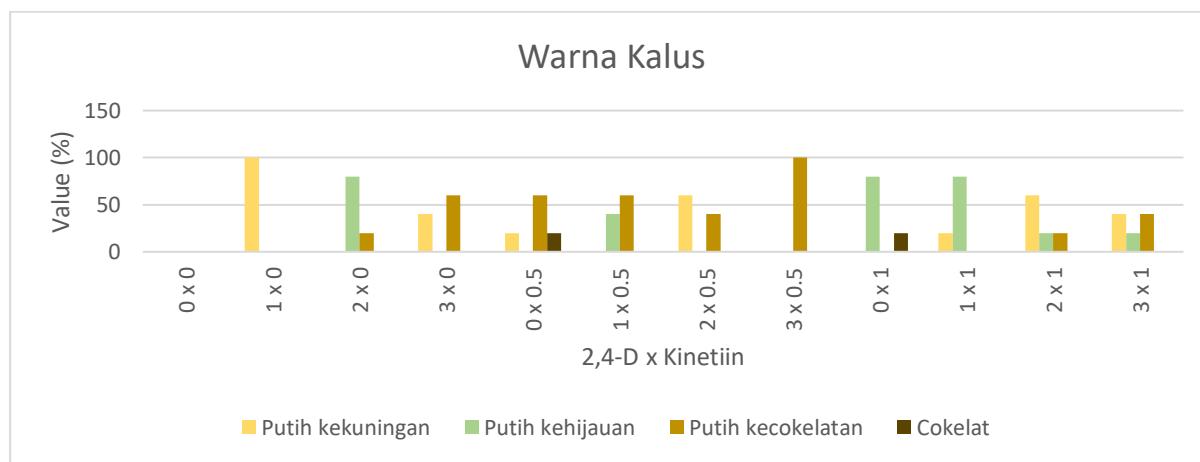
Warna kalus merupakan indikator penting yang mencerminkan status fisiologis dan metabolisme jaringan. Hasil pengamatan menunjukkan variasi warna kalus yang signifikan antar perlakuan, yang berkorelasi dengan komposisi ZPT yang digunakan. Menurut Rasud (2020), warna kalus menggambarkan penampilan visual sel-sel kalus sehingga dapat diketahui tingkat keaktifan pembelahan sel-selnya. 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 (Utomo et al., 2024).



Gambar 4. Warna Kalus: (A). Putih Kehijauan, (B). Putih Kekuningan, (C). Putih Kecokelatan, (D). Cokelat

Gambar 4 menunjukkan perbedaan warna kalus yang diamati, yang terbagi menjadi warna putih kehijauan, putih kekuningan, putih kecokelatan dan coklat. Kondisi warna kalus yang bervariasi disebabkan oleh adanya pigmentasi, cahaya, dan bagian tanaman yang digunakan sebagai sumber eksplan. Hal ini sesuai dengan penelitian Sari et al., (2018) yang menyatakan bahwa variasi warna kalus dipengaruhi oleh pigmentasi, jenis eksplan, dan pengaruh cahaya.

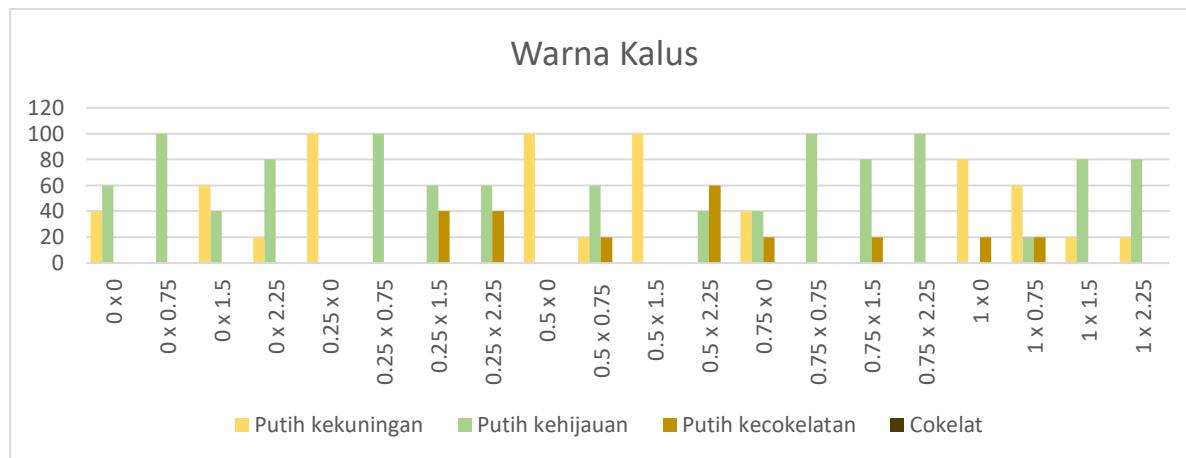
Dari data warna kalus (Gambar 5 dan 6) terlihat pola yang menarik berkaitan dengan kombinasi ZPT yang digunakan. Pada kombinasi 2,4-D dengan Kinetin, warna putih kehijauan cenderung mendominasi pada konsentrasi Sitokinin yang lebih tinggi atau sama dengan auksin, misalnya pada perlakuan 1 ppm Kinetin tanpa 2,4-D dan 1 ppm 2,4-D dengan 1 ppm Kinetin. Pada kombinasi NAA dengan BAP, warna putih kehijauan juga ditunjukkan pada konsentrasi BAP 1.5 ppm dan 2.25 ppm dengan dan tanpa NAA. Kalus yang memiliki warna putih kehijauan menunjukkan bahwa kualitas kalus tersebut baik karena dapat menunjukkan adanya perkembangan pigmen klorofil dalam jaringan, dan hal ini diduga karena penambahan sitokinin, baik kinetin maupun BAP di dalam media. Kinetin dan BAP merupakan hormon sitokinin yang mendorong pembentukan klorofil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahayu & Mardini (2015) bahwa warna hijau pada kalus akibat efek sitokinin dalam pembentukan klorofil. Sitokinin yang ditambahkan pada media dapat menghambat perombakan butir klorofil karena sitokinin mampu mengaktifkan proses metabolisme dalam sintesis protein (Lina et al., 2013). Kalus yang menghasilkan warna hijau keputihan merupakan ciri-ciri kalus yang baik karena pada kalus yang berwarna keputihan merupakan kalus yang masih aktif membelah sehingga apabila dilanjutkan ke tahap proliferasi sampai ke tahap regenerasi bisa berkembang ke fase fase selanjutnya (Dewanti et al., 2023).



Gambar 5. Warna Kalus menggunakan ZPT 2,4-D dan Kinetin

Gambar 5 dan 6 juga menunjukkan bahwa kalus berwarna putih kekuningan ditemukan pada konsentrasi sitokinin yang lebih rendah daripada auksin, misalnya pada perlakuan 1 ppm 2,4-D tanpa kinetin, juga pada perlakuan NAA 0.25, 0.5 dan 1 ppm tanpa BAP yang semuanya menghasilkan kalus putih kekuningan 100%. Sari et al., (2018) menyatakan bahwa kalus berwarna kuning disebabkan oleh proses degradasi klorofil, kekurangan kinetin, dan rendahnya konsentrasi kinetin. Tetapi kalus yang berwarna putih masih dapat dikatakan bahwa kalus tersebut memiliki kualitas yang baik. Warna kalus

putih hingga putih kekuningan mempunyai sel yang masih aktif melakukan pembelahan tetapi belum mengandung klorofil (Isda & Salsabilla, 2022). Ibrahim et al., (2013) menambahkan bahwa kalus berwarna kekuningan dan putih kekuningan merupakan kalus embriogenik, yang diharapkan mampu berkembang menjadi embrio somatik.



Gambar 6. Warna Kalus menggunakan ZPT NAA dan BAP

Perlakuan konsentrasi 1 ppm kinetin menghasilkan tekstur berwarna cokelat (*browning*) sebesar 20%. Selain itu, warna putih kecokelatan juga muncul 100% pada perlakuan 3 ppm 2,4-D dengan 0.5 ppm kinetin. Khoiriyah et al., (2023) mengatakan bahwa browning umumnya disebabkan oleh senyawa fenolik yang biasanya muncul dan terakumulasi saat eksplan dilukai, biasanya disebabkan oleh aktivasi enzim Polyphenol Oxidase (PPO). Warna cokelat pada kalus disebabkan oleh adanya zat fenolik pada eksplan dan akan mempengaruhi warna cokelat dan pembentukan kalus pada eksplan. Selain itu warna cokelat juga dapat dipengaruhi oleh konsentrasi hormon yang diberikan kurang sesuai sehingga penyerapan unsur hara pada media tanam juga tidak sesuai dengan kondisi eksplan yang di tanam. Fenomena ini disebabkan oleh oksidasi fenol yang dihasilkan oleh eksplan. Fenol bersifat toksik bagi sel dan menyebabkan kematian eksplan. Hal ini merupakan kemunduran fisiologis eksplan (Dwitara et al., 2023).

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi 2 ppm 2,4-D tanpa kinetin dapat menghasilkan kalus lebih cepat (7.2 hari), dan menghasilkan kalus remah (80%) serta warna putih kehijauan (80%) yang baik untuk induksi kalus dan dapat dijadikan sebagai protocol proliferasi kalus untuk tujuan suspensi sel selanjutnya. Sementara kombinasi terbaik NAA dan BAP mampu memunculkan kalus pada 0.25 ppm NAA dan 2.25 ppm BAP (15.2 hari) dengan tekstur kompak 80% dan warna putih kehijauan 60%. Kalus kompak biasanya mengandung banyak metabolit sekunder karena tersusun atas struktur yang padat serta didalamnya terkandung banyak air, tetapi pembelahan sel dari kalus friable lebih cepat daripada kalus kompak (Prashariska & Pitoyo, 2021). Warna kalus kuning dan putih kekuningan baik untuk embrio somatic dan warna putih kecokelatan dan cokelat merupakan ciri bahwa kalus mulai mengalami penurunan regenerasi (Setiawan et al., 2020).

## KESIMPULAN

Kombinasi perlakuan terbaik untuk induksi kalus tanaman gambir adalah kombinasi 2,4-D 2 ppm dengan kinetin 0 ppm, karena menghasilkan waktu pertumbuhan kalus tercepat (7.2 hari), kalus remah (80%) dan warna kalus putih kehijauan (80%) yang diharapkan dapat menjadi protocol induksi kalus yang selanjutnya dapat digunakan dalam proliferasi kalus dan induksi suspensi sel.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adri, R. F. (2017). Pengaruh 2,4-D terhadap Induksi Embrio Somatik Tanaman Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*). *Menara Ilmu*, XI(1)(75), 135–141.
- Astuti, R. D., Harahap, F., & Edi, S. (2020). Callus induction of mangosteen (*garcinia mangostana l.*) in vitro with addition of growth regulators. *Journal of Physics: Conference Series*, 1485(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1485/1/012029>
- Badan Pusat Statistik Sumatera Utara. (2021). *Luas Tanaman dan Produksi Gambir Tanaman Perkebunan Rakyat menurut Kabupaten/Kota - Badan Pusat Statistik Provinsi Sumatera Utara*.

- <Https://Sumut.Bps.Go.Id/Id/Statistics-Table/2/MjEzlzl=/Luas-Tanaman-Dan-Produksi-Gambir-Tanaman-Perkebunan-Rakyat-Menurut-Kabupaten-Kota.Html>  
<https://sumut.bps.go.id/id/statistics-table/2/MjEzlzl=/luas-tanaman-dan-produksi-gambir-tanaman-perkebunan-rakyat-menurut-kabupaten-kota.html>
- Borejsza-Wysocki, W., & Hrazdin, G. (1994). Establishment of callus and cell suspension cultures of raspberry idaeus cv. Royalty). In *Plant Cell, Issue and Organ Culture* (Vol. 37). Kluwer Academic Publishers.
- Chattopadhyay, S., Farkya, S., Srivastava, A. K., & Bisaria, V. S. (2002). Bioprocess Considerations for Production of Secondary Metabolites by Plant Cell Suspension Cultures. In *Biotechnol. Bioprocess Eng* (Vol. 7).
- Dalila, Z. D., Jaafar, H., & manaf, A. A. (2013). *Effects of 2,4-D and Kinetin on Callus Induction of Barringtonia racemosa Leaf and Endosperm Explants in Different Types of Basal Media*. 12(1), 21.
- Dar, S. A., Nawchoo, I. A., Tyub, S., & Kamili, A. N. (2021). Effect of plant growth regulators on in vitro induction and maintenance of callus from leaf and root explants of Atropa acuminata Royal ex Lindl. *Biotechnology Reports*, 32. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00688>
- Daulay, M. R., Shofiah, R., & Nabila, N. W. (2025). INDUKSI KALUS GAMBIR VARIETAS CUBADAK (Uncaria gambir ROXB.) DENGAN PEMBERIAN 2,4-D DAN KINETIN SECARA IN VITRO. *Seminar Nasional Integrasi Pertanian Dan Peternakan*, 3(1), 211–221. <https://semnasfpp.uinsuska.ac.id/index.php/snipp>
- Direktorat Jenderal Perkebunan. (2022). *Statistik Perkebunan Non Unggulan Nasional 2020-2022*. Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian Republik Indonesia. <https://ditjenbun.pertanian.go.id/template/uploads/2022/11/BUKU-STATISIK-NON-UNGGULAN-2020-2022.pdf>
- Dwitara, G. A. C., Hariyanto, S., Purnobasuki, H., Junairah, & Utami, E. S. W. (2023). Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and kinetin on callus induction and growth of Physalis angulata L. leaf explants. *Open Access Research Journal of Biology and Pharmacy*, 8(2), 027–032. <https://doi.org/10.53022/oarjbp.2023.8.2.0027>
- George, E. F. ., Hall, M. A. ., & Klerk, G.-J. de. (2008). *Plant propagation by tissue culture*. Springer.
- Ibrahim, M. S. D., Hartati, S. R., Purwito, A., & Sudarsono. (2013). Induksi Kalus Embriogenik dan Daya Regenerasi Kopi Arabika menggunakan 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid dan 6-Benzyladenine. *Buletin RISTRI*, 4, 91–98.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: Mechanisms of induction and repression. In *Plant Cell* (Vol. 25, Issue 9, pp. 3159–3173). American Society of Plant Biologists. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
- Isda, M. N., & Salsabilla, M. J. (2022). In Vitro Callus Induction in Tacca (Tacca chantrieri Andre) Leaf Explants on Murashige and Skoog Media with Different Concentrations of Sucrose. *Jurnal Biologi UNAND*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.25077/jbioua.10.1.1-9.2022>
- Junairah, Wulandari, D. A., Utami, E. S. W., & Zuraidassanaaz, N. I. (2021). Callus induction and secondary metabolite profile from elephantopus scaber L. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 6(1). <https://doi.org/10.22146/JTBB.59234>
- Khalida, A., Aneloi Noli Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan, Z., & Biologi, J. (2019). Induksi Kalus Anggrek Lilin (Aerides odorata Lour.) dengan Pemberian beberapa Konsentrasi 2,4 Diklorofenoksiasetat (2,4 D) Callus Induction of Aerides odorata Lour. by Adding 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)*, 7(2), 109–117.
- Khoiriyah, S., Santosa, D., Purwantini, I., Ilmu Farmasi, M., Farmasi, F., Gadjah Mada, U., Biologi Farmasi, D., & Riset Tumbuhan Obat Dan Bahan Alam, P. (n.d.). Efek Kombinasi 2,4 D Dan Kinetin Pada Pembentukan Kalus Daun Catharanthus roseus (L.) G. Don Serta Deteksi Alkaloidnya. *Majalah Farmaseutik*, 19(3), 2023. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v19i3.82593>
- Lina, F. R., Ratnasari, E., & Wahyono, R. (2013). Pengaruh 6-benzylamino purine (BAP) dan 6-furfuryl amino purine (Kinetin) pada Media MS terhadap Pertumbuhan Eksplan Ujung Apikal Tanaman Jati secara In Vitro. *LenteraBio*, 1, 57–61. <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>
- Mayerni, R., Satria, B., Wardhani, D. K., & 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). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/583/1/012003>
- Millenia, F. K., Sumadi, S., Suminar, E., Nuraini, A., & Pitaloka, G. G. (2022). Induksi Kalus Eksplan Daun Stroberi (Fragaria x ananassa Duch) dengan Pemberian NAA dan CaP Secara In Vitro. *JURNAL GALUNG TROPIKA*, 11(3), 317–329. <https://doi.org/10.31850/jgt.v11i3.1023>

- Mohamad Zuldin, N. N., Said, I. M., Mohd Noor, N., Zainal, Z., Jin Kiat, C., & Ismail, I. (2013). Induction and analysis of the alkaloid mitragynine content of a *mitragyna speciosa* suspension culture system upon elicitation and precursor feeding. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/209434>
- Munggari, I. P., Kurnia, D., Deawati, Y., & Julaeha, E. (2022). Current Research of Phytochemical, Medicinal and Non-Medicinal Uses of *Uncaria gambir* Roxb.: A Review. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27196551>
- Muthi'ah, A., Sakya, A. T., Setyawati, A., Samanhudi, & Rahayu, M. (2023). Callus induction of *Calotropis gigantea* using BAP and 2,4-D in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1177(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1177/1/012021>
- Pazla, R., Zain, M., Antonius, Ikhlas, Z., Natsir, A., Hidayat, R., Ginting, N., Yanti, G., Rosani, U., Mohd-Aris, A., Hidayat, M. Z., Fitri, Y., Sucitra, L. S., & Utami, B. V. (2025). In Vitro Evaluation of Gambier Leaf Extract (*Uncaria gambir* Roxb.) from Pangkalan, West Sumatra, as a Natural Feed Additive to Improve Nutrient Digestibility in Ruminants. *Andalasian Livestock*, 2(2), 170–177. <https://doi.org/10.25077/alive.v2.n2.p170-177.2025>
- Prashariska, K., & Pitoyo, A. (2021). Pengaruh Indole 3-Acetic Acid (IAA) dan Benzyl Aminp Purin (BAP) terhadap Induksi dan Deteksi Alkaloid Kalus Kamilen(*Matricaria chamomilla L.*). *Innofarm : Jurnal Inovasi Pertanian*, 23(2), 104–114.
- Putri, S. S., Susiyanti, Muztahidin, N. I., & Isminingsih, S. (2024). Callus Induction of Ciangir Passion Fruit (*Passiflora* sp.) Leaves at Several Concentration Levels of Growth Regulators Substance 2,4-D and BAP. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(1), 168–178. <https://doi.org/10.29303/jbt.v24i1.6454>
- Rahayu, T., & Mardini, U. (2015). Respon Eksplan Nodus dan Daun Tanaman Binahong (Anredera cordifolia L.) pada Media MS dengan Variasi Konsentrasi BAP. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 657–661.
- Rasud, Y. (2020a). Induksi Kalus secara In Vitro dari Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin (In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIP)*, Januari, 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Rasud, Y. (2020b). Induksi Kalus secara In Vitro dari Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam Media dengan Berbagai Konsentrasi Auksin (In Vitro Callus Induction from Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Leaves on Medium Containing Various Auxin Concentrations). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIP)*, Januari, 25(1), 67–72. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>
- Sakpere, A. M. A., Ajayi, S. A., & Adelusi, A. A. (2014). Effect of growth regulators and explant types on callus induction in *Telfairia occidentalis* Hook F. *African Journal of Biotechnology*, 13(20), 2015–2021. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.12919>
- Sari, Y. P., Kusumawati, E., Saleh, C., KUSTIAWAN, W., & SUKARTINGSIH, S. (2018). Effect of sucrose and plant growth regulators on callogenesis and preliminary secondary metabolic of different explant *Myrmecodia tuberosa*. *Nusantara Bioscience*, 10(3), 183–192. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n100309>
- Setiawan, R. B., Rahmah, M., Trisnia, H., Chaniago, I., Syukriani, L., Yunita, R., Jamsari, J., & Setiawan, R. B. (2020). Embryogenic callus induction of coffee [*Coffea arabica* L.] on several plant growth regulator concentration and incubation temperature. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 497(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/497/1/012012>
- Sharma, M., Sharma, A., Kumar, A., & Basu, S. K. (2011). Enhancement of Secondary Metabolites in Cultures Plant Cells Through Stress Stimulus. *American Journal of Plant Physiology*, 6, 50–71. <https://doi.org/10.3923/ajpp.2011.50.71>
- Solin, N. W. N. M., & Siregar, L. A. M. (2025). OPTIMASI METODE STERILISASI EKSPLAN DAUN GAMBIR (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) ASAL PAKPAK BHARAT SECARA IN VITRO. *Seminar Nasional Integrasi Pertanian Dan Peternakan*, 3(1), 58–68. <https://semnasfpp.uinsuska.ac.id/index.php/snipp>
- Souza, J. M. M., Berkov, S., & Santos, A. S. (2014). Improvement of friable callus production of *Boerhaavia paniculata* rich and the investigation of its lipid profile by GC/MS. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 86(3), 1015–1027. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201420130098>
- Syahid, S. F., Kristina, N. N., & Seswita, D. (2010). Pengaruh Komposisi Media terhadap Pertumbuhan Kalus dan Kadar Tannin dari Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) secara In Vitro. *Jurnal Littri*, 16(1), 1–5.
- Tarigan, P. L., Sukendah, S., Dewanti, F. D., Pribadi, N. Y., & Zulmi, S. N. (2024). Somatic Embryogenesis Induction in *Coffea arabica* L. by 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and 6-Furfurylaminopurine. *Agro Bali : Agricultural Journal*, 7(3), 731–738. <https://doi.org/10.37637/ab.v7i3.1841>

- Thomas, T. D., & Chaturvedi, R. (2008). Endosperm culture: A novel method for triploid plant production. In *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (Vol. 93, Issue 1, pp. 1–14). <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9336-6>
- Utomo, A. T. G., Zainal, A., & Yusniwati, Y. (2024). Induksi Kalus Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) Pada Beberapa Konsentrasi 2,4-D Secara In Vitro. *Agroteknika*, 7(2), 264–274. <https://doi.org/10.55043/agroteknika.v7i2.263>
- Wardana, A. P., Aminah, N. S., Kristanti, A. N., Fahmi, M. Z., Zahrah, H. I., Widiyastuti, W., Ajiz, H. A., Zubaidah, U., Wiratama, P. A., & Takaya, Y. (2023). Nano *Uncaria gambir* as Chemopreventive Agent Against Breast Cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 18, 4471–4484. <https://doi.org/10.2147/IJN.S403385>
- 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(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1160/1/012021>