

**PENGARUH *2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID* (2,4-D)
DAN *6-BENZYL AMINO PURINE* (BAP) SERTA ELISITOR
ASAM JASMONAT TERHADAP KADAR ANDROGRAFOLID
SAMBILOTO SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

NUR ASTRI SUSILAWATI

A 221 060



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

**PENGARUH *2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID* (2,4-D)
DAN *6-BENZYL AMINO PURINE* (BAP) SERTA ELISITOR
ASAM JASMONAT TERHADAP KADAR ANDROGRAFOLID
SAMBILOTO SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

NUR ASTRI SUSILAWATI

A 221 060



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2026**

PENGARUH *2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID* (2,4-D) DAN *6-BENZYL AMINO PURINE* (BAP) SERTA ELISITOR ASAM JASMONAT TERHADAP KADAR ANDROGRAFOLID SAMBILOTO SECARA *IN VITRO*

NUR ASTRI SUSILAWATI

A 221 060

Juli 2026

Disetujui Oleh:

Pembimbing



Umi Baroroh, M.Biotek.

Pembimbing



Nur Asni Setiani, M.Si.

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu sekolah tinggi farmasi indonesia

ABSTRAK

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) kaya akan senyawa andrografolid sebagai bahan baku obat, namun produksi secara konvensional terkendala oleh variasi iklim dan masa panen. Kultur jaringan melalui perbanyakan kalus remah dengan zat pengatur tumbuh serta proses elisitasi merupakan alternatif efisien untuk mengoptimalkan produksi metabolit sekunder secara terkontrol. Penelitian ini menganalisis induksi kalus remah eksplan daun sambiloto pada media *Murashige and Skoog* (MS) dengan variasi zat pengatur tumbuh (1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP), (1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP) serta (2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP) dilanjutkan elisitasi asam jasmonat 10 mg/L selama 7 hari, dan penetapan kadar andrografolid menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Induksi kalus remah terbaik dan tercepat yaitu pada hari ke-12 diperoleh pada perlakuan (2,4-D 1 mg/L + BAP 0,5 mg/L) dan (2,4-D 1 mg/L + BAP 1 mg/L) dengan warna hijau kekuningan. Pascaelisitasi, kadar andrografolid pada kombinasi 2,4-D 1 mg/L + BAP 1 mg/L meningkat dari 0,112% menjadi 0,115% (naik 3%). Sebaliknya, pada kombinasi 2,4-D 1 mg/L + BAP 0,5 mg/L terjadi penurunan dari 0,164% menjadi 0,123% (turun 25%), serta pada 2,4-D 2 mg/L + BAP 0,5 mg/L turun dari 0,111% menjadi 0,081% (turun 27%). Kondisi hormonal awal pada kalus berpengaruh secara signifikan terhadap efektivitas elisitasi asam jasmonat dalam merangsang akumulasi andrografolid.

Kata kunci: *Andrographis paniculata*, 2,4-D, BAP, Asam Jasmonat, Andrografolid, KCKT.

ABSTRACT

Andrographis paniculata is rich in andrographolide compounds as pharmaceutical raw materials, yet its conventional production is constrained by climate variations and harvesting periods. Tissue culture through friable callus proliferation utilizing plant growth regulators combined with an elicitation process serves as an efficient alternative to optimize secondary metabolite production in a controlled manner. This study analyzed friable callus induction from *Andrographis paniculata* leaf explants on Murashige and Skoog (MS) medium with variations of plant growth regulators (1 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP), (1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP), and (2 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP), followed by jasmonic acid elicitation at 10 mg/L for 7 days, and the determination of andrographolide content using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The best and fastest friable callus induction, occurring on day 12, was achieved in treatments of (2,4-D 1 mg/L + BAP 0.5 mg/L) and (2,4-D 1 mg/L + BAP 1 mg/L) with yellowish-green characteristics. Post-elicitation, the andrographolide content in the combination of 2,4-D 1 mg/L + BAP 1 mg/L increased from 0.112% to 0.115% (a 3% increase). Conversely, in the combination of 2,4-D 1 mg/L + BAP 0.5 mg/L, a decrease occurred from 0.164% to 0.123% (a 25% decrease), while in 2,4-D 2 mg/L + BAP 0.5 mg/L, it decreased from 0.111% to 0.081% (a 27% decrease). The initial hormonal state of the callus significantly affects the efficacy of jasmonic acid elicitation in stimulating andrographolide accumulation.

Keywords: *Andrographis paniculata*, 2,4-D, BAP, Jasmonic Acid, Andrographolide, HPLC.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul **"Pengaruh 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) dan 6-Benzylaminopurine (BAP) serta Elisitor Asam Jasmonat terhadap Kadar Andrografolid Sambiloto secara *In Vitro*"**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Selama pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi, penulis memperoleh banyak bimbingan, arahan, motivasi, serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Dr. apt. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
3. Ibu Umi Baroroh, M.Biotek. dan Nur Asni Setiani, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan masukan, saran, serta bimbingan yang sangat berarti dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Seluruh dosen, staf administrasi, laboran, dan karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia yang telah memberikan ilmu, bantuan, dan pelayanan selama penulis menempuh pendidikan.
5. Rekan-rekan mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi dan angkatan RPL 2025, yang telah memberikan semangat, kebersamaan, dan bantuan selama proses perkuliahan maupun penelitian.
6. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan, doa, dan dukungan sehingga penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Dengan kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi penyempurnaan karya ilmiah ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat serta menjadi tambahan informasi dan referensi bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kultur jaringan tanaman dan pemanfaatan tanaman obat.

Bandung, Juli 2026

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN.....	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> (Brum.f.) Ness)	4
2.2 Khasiat Tanaman	5
2.3 Kandungan Senyawa Aktif.....	6
2.4 Andrografolid	7
2.5 Kultur Jaringan	9
2.6 Kalus.....	9
2.7 Zat Pengatur Tumbuh	10
2.8 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)	11
2.9 Benzyl Amino Purine (BAP).....	11
2.10 Elisitor	12
BAB III TATA KERJA	13
3.1 Alat	13
3.2 Bahan.....	13
3.3 Metode Sterilisasi	13
3.3.1 Sterilisasi.....	13
3.3.2 Sterilisasi Eksplan Daun Sambiloto.....	14
3.4 Induksi Kalus Pada Media MS	14
3.5 Elisitasi	14
3.6 Ekstraksi Kalus.....	15
3.7 Analisa Kadar Andrografolid.....	15
3.8 Analisis Data.....	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16

4.1 Pengaruh ZPT 2,4-D dan BAP terhadap Induksi Kalus	16
4.1.1 Waktu Muncul Kalus	16
4.1.2 Warna Kalus.....	18
4.1.3 Tekstur Kalus	20
4.1.4 Kontaminasi	21
4.2 Pengaruh Elisitor Asam Jasmonat Terhadap Kadar Androgafolid	26
4.2.1 Bobot Kalus	26
4.2.2 Analisis Larutan Standar Androgafolid.....	28
4.2.3 Analisis Kadar Androgafolid Pada Sampel.....	30
BAB V_SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	39
5.1 Simpulan.....	39
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Pengaruh penambahan 2,4-D dan BAP terhadap induksi kalus	16
Tabel 4.2 Perubahan warna kalus pada media MS	18
Tabel 4.3 Bobot kalus basah, bobot kering dan % kadar air	27
Tabel 4.4 Hasil Analisis Larutan Standar Androgafolid.....	29
Tabel 4.5 Hasil Analisis Kadar Andrografolid pada Sampel Kalus Sambiloto.....	32
Tabel 4.6 Hasil Uji ANOVA.....	36
Tabel 4.7 Hasil Uji Duncan (DMRT).....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Sambiloto	5
Gambar 2.2 Struktur senyawa bioaktif pada <i>Andrographis paniculata</i>	7
Gambar 2.3 Struktur Andrografolid	7
Gambar 2.4 Jalur biosintesis prekursor andrografolid	8
Gambar 2.5 Kalus.....	10
Gambar 4.1 Perubahan warna eksplan	19
Gambar 4.2 Tekstur kalus remah.....	20
Gambar 4.3 Hari kontaminasi bakteri dan jamur	21
Gambar 4.4 Jumlah Kontaminasi 2,4-D + BAP (1:0,5)	23
Gambar 4.7 Dokumentasi kontaminasi kalus	25
Gambar 4.8 Regresi Linier Standar Androgafolid	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil Determinasi Tanaman.....	49
Lampiran 2	Dokumentasi Penelitian.....	50
Lampiran 3	Hasil Spektrum Standar Andrografolid	51
Lampiran 4	Hasil Spektrum Sampel	54
Lampiran 5	Perhitungan Pembuatan Media	60
Lampiran 6	Perhitungan Elisitor Asam Jamonat.....	61
Lampiran 7	Perhitungan Pembuatan Larutan Standar Andrografolid.....	61
Lampiran 8	Perhitungan Pembuatan Larutan Baku Andrografolid.....	62
Lampiran 9	Perhitungan Konsentrasi Sampel.....	65
Lampiran 10	Perhitungan Kadar Sampel	66
Lampiran 11	Hasil Data SPSS	68

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, N., El-Ramady, H., Seliem, M. K., El-Mahrouk, M. E., Taha, N., Bayoumi, Y., Shalaby, T. A., & Dobránszki, J. (2022). An Academic and Technical Overview on Plant Micropropagation Challenges. In *Horticulturae* (Vol. 8, Number 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080677>
- Affandi, R. I., & Setyono, B. D. H. (2023). Potensi Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Sebagai Immunostimulan Pada Ikan. *JVIP*, 4(1), 131–141.
- Ahmed, N., & Praveen, N. (2023). Effect of salicylic acid, jasmonic acid, and a combination of both on andrographolide production in cell suspension cultures of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 11(2), 198–203. <https://doi.org/10.7324/JABB.2023.110220>
- Almemary, A. M. S. (2020). Callus Induction And Differentiation (Review Article). *The Future Journal of Agriculture*, 3, 5–9. <https://doi.org/10.37229/fsa.fja.2020.07.02>
- Andriani, D., & Heriansyah, P. (2021). Identification of Contaminant Fungi in Tissue Culture of Nature Orchid (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq. *Agro Bali: Agricultural Journal*, 4(2), 192–199. <https://doi.org/10.37637/ab.v4i2.723>
- Andriyani, N. H., Anwar, S., & Kusmiyati, F. (2023). Kajian Penggunaan BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan Kultur In vitro Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews.) pada Fase Akhir Subkultur. *Journal Agroeco Science*, 2(1), 25–33. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/aesj>
- Anggraito, Y. U. , R. S. R. S. I. , A. Y. L. , N. W. N. A. H. & S. H. B. (2018). Metabolit Sekunder Dari Tanaman Aplikasi Dan Produksi. *Universitas Negeri Semarang*, 1–157.
- Anggraito, Y. U., R. Susanti, R. S. I., Ari Yuniastuti, L., Nugrahaningsih WH, Noor Aini Habibah, & Siti Harnina Bintari. (2018). *Metabolit Sekunder Dari Tanaman Aplikasi Produksi* (Ahmad Faris, Ed.). Universitas Negeri Semarang.
- Ashar, J. R., Farhanah, A., Hamzah, P., Ismayanti, R., Tuhuteru, S., Yusuf, R., & Yulianti, R. (2023). *Pengantar Kultur Jaringan Tanaman* (N. Rismawati, Ed.). Widina Media Utama. www.freepik.com
- Ashokhan, S., Othman, R., Rahim, M. H. A., Karsani, S. A., & Yaacob, J. S. (2020). Effect of plant growth regulators on coloured callus formation and accumulation of azadirachtin, an essential biopesticide in *Azadirachta indica*. *Plants*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/plants9030352>
- Ayenitaju, A. O., & Omokhuale, F. M. (2023). Journal of Pharmaceutical Development and Industrial Pharmacy *Andrographis paniculata*: Review of its Curative Activities. *Journal of Pharmaceutical Development and Industrial Pharmacy*, 5(2), 23–34. www.jpdp.com

- Bajwa, M. N., Khanum, M., Zaman, G., Ullah, M. A., Farooq, U., Waqas, M., Ahmad, N., Hano, C., & Abbasi, B. H. (2023). Effect of Wide-Spectrum Monochromatic Lights on Growth, Phytochemistry, Nutraceuticals, and Antioxidant Potential of In Vitro Callus Cultures of *Moringa oleifera*. *Molecules*, 28(3), 1–13. <https://doi.org/10.3390/molecules28031497>
- Basri, A. H. H. (2016). Kajian Pemanfaatan Kultur Jaringan Dalam Perbanyakan Tanaman Bebas Virus. *Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Medan*, 64–73.
- Bialangi, N., Rahmatia Idris, R., Kilo, A. La, & Kilo, A. K. (2022). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Daun Sambiloto. *Jamb.J.Chem*, 4(1), 25–32.
- Cahyono, E. H., & Riani Ningsih. (2023). Pengembangan Metode Teknik Sterilisasi Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Jaringan Tanaman Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*). *Jurnal Pengembangan Potensi Laboratorium*, 2(2), 60–68. <https://doi.org/10.25047/plp.v2i2.3685>
- Carsono, N., Juwendah, E., Liberty, Sari, S., Damayanti, F., & Rachmadi, M. (2021). Optimize 2,4-D concentration and callus induction time enhance callus proliferation and plant regeneration of three rice genotypes. *Biodiversitas*, 22(7), 2555–2560. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220702>
- Chaffee, B. W., Featherstone, J. D. B., & Zhan, L. (2017). Pediatric caries risk assessment as a predictor of caries outcomes: a retrospective cohort study. *Pediatr Dent.*, 39(3), 219–232.
- Cui, J., Jiang, X., Li, Y., Zhang, L., Zhang, Y., Wang, X., He, F., Li, M., Zhang, T., & Kang, J. (2024). Genome-Wide Identification, Phylogenetic, and Expression Analysis of Jasmonate ZIM-Domain Gene Family in *Medicago Sativa* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19). <https://doi.org/10.3390/ijms251910589>
- 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 and Food Sciences*, 9(4), 688–694. <https://doi.org/10.15414/JMBFS.2020.9.4.688-694>
- Fatimah, N., & Dewi, S. K. (2026). In-vitro Callus Growth of *Amorphophallus muelleri* with Corn Organic Compound Supplementation in Murashige and Skoog (MS) Media. *LenteraBio*, 15(2), 122–130. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v15n2.p122-130>
- Harahap, A. M., Wasni, N. Z., & Priawan, I. (2023). Antiinflamasi Ekstrak Sambiloto (*Andrographis Paniculata*, Chuān Xīn Liǎn) -Literature Review. *Jurnal Medika Sehat (JMS)*, 1(2), 1–13.
- Harahap, F., & Saragih, W. B. (2023). Development of android-based learning media on tool sterilization materials. *Jurnal Biolokus: Jurnal Penelitian Pendidikan Biologi Dan Biologi*, 6(1), 12–24.
- Hidayah, V. N., & Dewanti, P. (2023). Pengaruh Bap (6-Benzylaminopurine) Dan 2,4-D (Dichlorophenoxy Acetic Acid) Pada Mikropropagasi Tebu (*Saccharum*

- Officinarum L.) Melalui Metode Thin Cell Layer. *Jurnal Agrotek Tropika*, 10(2), 89–95. <https://doi.org/10.23960/jat.v11i1.5141>
- Hirabayashi, F., Iwanaga, K., Okinaga, T., Takahashi, O., Ariyoshi, W., Suzuki, R., Sugii, M., Maruyama, K., Tominaga, K., & Nishihara, T. (2017). Epidermal growth factor receptor-targeted sonoporation with microbubbles enhances therapeutic efficacy in a squamous cell carcinoma model. *PLoS ONE*, 12(9), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185293>
- 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>
- Jannah, K. P. A., Prihantoro, I., & Karti, P. dewi manu hara. (2023). Optimasi Level Benzyl Amino Purin (BAP) terhadap Pertumbuhan Tanaman Kembang Telang (Clitoria ternatea) melalui Teknik Kultur Jaringan. *Jurnal Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan*, 21(2), 100–106. <https://doi.org/10.29244/jintp.21.2.100-106>
- Jupita, Astrid Vanessa Putri Erwanda, Dwi Fitriani, Fahmi Wafiq Khoirunisa, Ramadhani Eka Yoga Maryono, & Syafa Auliya Rosyidah. (2024). Uji Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (Andrograpis Paniculata N.). *Jurnal Farmasi IKIFA*, 3(3), 61–73.
- Kadapi, M., Sunarso, C., Salsabila Erizon, M., Dhiya Maharani, N., Saukina Hakim, M., Hamidah Az Zahra, I., Budidaya Pertanian, D., Pertanian, F., Padjadjaran Jatinangor, U., Sumedang, K., Barat, J., & Studi Agroteknologi, P. (2024). Teknologi Kultur in vitro untuk Meningkatkan Produksi Metabolit Sekunder pada Berbagai Tanaman Obat. *Jurnal Agrosains Dan Teknologi*, 9(1), 18–29. jurnal.umj.ac.id/index.php/ftan
- Kaewpi boon, C. (2019). Pengaruh zat pengatur pertumbuhan terhadap produksi lakton diterpen dari kalus Andrographis paniculata. Pengaruh Zat Pengatur Pertumbuhan Tanaman terhadap Diterpena Lakton Produksi Kalus pada Andrographis paniculata. *Jurnal Sains dan Teknologi Thailand (TSTJ)*, 28(10), 143–149. <https://doi.org/10.14456/tstj.2020.143>
- Khofifa, R. A. N., & Ubaidillah, M. (2024). Respon Perlakuan Asam Jasmonat, Asam Salisilat dan Kitosan terhadap Produksi Metabolit Sekunder pada Kalus Padi Daun Berpigmen. *Agriprima: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 8(1), 10–23. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v8i1.599>
- Lee, S., & Lee, D. K. (2018). What is the proper way to apply the multiple comparison test? *Korean Journal of Anesthesiology*, 71(5), 353–360. <https://doi.org/10.4097/kja.d.18.00242>
- Lengkong, E. F., Mantiri, H., & Pinaria, A. G. (2023). Pertumbuhan Plantlet Kentang (Solanum tuberosum L) Pada Media MS yang Disubstitusi Dengan Air Kelapa. *Agroteknologi Universitas Sam Ratulangi*, 4(2), 361–369. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/samrat-agrotek>

- Li, X., Yuan, W., Wu, J., Zhen, J., Sun, Q., & Yu, M. (2022). Andrographolide, a natural anti-inflammatory agent: An Update. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.920435>
- Limantoro, B., Natanael, J. D., Lestari, I. D. P., Zahra, A. A., & Ramadhan, M. I. R. (2024). Effectiveness of Sambiloto leaf extract as an antimalarial through plasmodium heme polymerization inhibition: A review. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 20(2), 007–015. <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2024.20.2.0841>
- Lisnawati, Hayatul Rahmi, & Nurcahyo Widyodaru S. (2022). Pengaruh Penambahan Kombinasi Naa Dan Bap Terhadap Pertumbuhan Protocorm Like Bodies (Plb) Anggrek Dendrobium Sp. Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 8(1), 352–361. <https://jurnal.peneliti.net/index.php/JIWP>
- Lizawati, Zulkarnain, & Neliyati. (2020). In Vitro Callus Development on Immature Leaf Explants of Liberica Coffee (Coffea liberica L. cv. Liberika Tungkal Komposit) by the Application of 2.4-D and BAP. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(2), 111. <https://doi.org/10.24252/bio.v8i2.11769>
- Majeed, G., Noor, W., Lone, R., Agrawal, S., Alaklabi, A., Shah, M. A., & Kamili, A. N. (2024). Modulation of plant defenses by Jasmonic acid and salicylic acid in Capsicum annum L. against Fusarium wilt in response to Fusarium oxysporum pathogen. *Plant Stress*, 14, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100571>
- Marisa, F., Hidayati, L., Sasongko, A. B., & Nuringtyas, T. R. (2021). Callus Induction from Cotyledon of Gyrinops versteegii (Gilg.) Domke. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 427–433. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2629>
- Midway, S., Robertson, M., Flinn, S., & Kaller, M. (2020). Comparing multiple comparisons: practical guidance for choosing the best multiple comparisons test. *PeerJ*, 8, 1–26. <https://doi.org/10.7717/peerj.10387>
- Mkhize, P., Morafo, V., & Mbita, Z. (2026). Enhancing secondary metabolite accumulation in medicinal plants to improve immunomodulatory activity. *Frontiers in Pharmacology*, 17, 1–32. <https://doi.org/10.3389/fphar.2026.1812475>
- Mohammed, S. (2020). Effects and Quantity Ranges of Some Auxins on Embryogenic Callus Induction From Upland Rice Cultivars: An Overview. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 3(2), 197–204. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.669914>
- 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>
- Nabila, R., & Reisha Isaura, E. (2025). The Effectiveness of Herbal Plant The Sambiloto Leaf (*Andrographis paniculata*) in Enhancing Body Immunity: A

- Literature Review. *Jurnal Kesmas Dan Gizi (JKG)*, 7(2), 244–252. <https://doi.org/10.35451/jkg.v7i2.2635>
- Ndruru, H. S., Hidayat Telambanua, P., Victory Nazara, R., & Damai Gulo, S. (2024). Pemanfaatan Elisitor Pada Tanaman. *Jurnal Sapta Agrica*, 4(1), 39–51. <https://jurnal.uniraya.ac.id/index.php/Agrica>
- Oratmangun, K. M., Pandiangana, D., Kandou, F. E., Biologi, J., A T A K U N C I A B S T R, M. K., & Kontaminan, A. K. (2017). Deskripsi Jenis-Jenis Kontaminan Dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Donnaman. *Jurnal MIPA Unsrat*, 6(1), 47–52. <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>
- Permadi, N., Prismantoro, D., Navisya Vasall, P. R., Sheelmarevaa, F. A., Nurjanah, S., Nurzaman, M., Alhasnawi, A. N., Doni, F., & Julaeha, E. (2025). Modern and traditional strategies for controlling microbial contamination in plant micropropagation: Current insights and future perspectives. *Current Research in Biotechnology*, 10, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2025.100337>
- Putri, A. H., Budi Santoso, E., & Tiara Noventi Putri, R. B. (2021). Air Rebusan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Penderita Diabetes Meliitus. *Jurnal Info Kesehatan*, 11(2), 427–430.
- Rasud, Y., Basri, Z., & Sahiri, N. (2019). Induksi Kalus Cengkeh Dari Ekspan Daun Menggunakan 2,4-D Secara In Vitro. *J-PEN Borneo : Jurnal Ilmu Pertanian*, 2(2). <https://doi.org/10.35334/jpen.v2i3.1533>
- Raut, R., & Shaji, J. (2021). HPLC method validation for quantification of tetrahydrocurcumin in bulk drug and formulation. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 7–42. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00194-7>
- Ravisankar, P., Pentyala, A., Sai, C. B., Hemasri, P., & Srinivasa Babu, P. (2021). Validation Characteristics And Statistics In Analytical Method Development. *High Technology Letters*, 27(7), 76–88. <http://www.gjstx-e.cn/>
- Rosniawaty, S., Bahjatien, I. D., Soleh, M. A., Ariyanti, M., & Sudirja, R. (2024). Potensi Metil Jasmonat dan Asam Salisilat Sebagai Elisitor Dalam Mempengaruhi Pertumbuhan Bibit Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Agroland: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 31(1), 55–62. <https://doi.org/10.22487/agrolandnasional.v31i1.1961>
- Sabila, R., Megantara, S., & Amelia Saputri, F. (2020). Review: Sintesis Senyawa Turunan Andrografolid dengan Modifikasi pada Gugus Hidroksil C-14. *Journal Of Pharmacy Science And Practice*, 7(2), 55–63.
- Septiani, D. A., Hakim, A., Patech, L. R., Zulhalifah, Z., & Siswadi, S. (2021). Isolation and Identification of Andrographolide Compounds from the Leaves of Sambiloto Plant (*Andrographis paniculata* Ness). *Acta Chimica Asiana*, 4(1), 108–113. <https://doi.org/10.29303/aca.v4i1.65>
- Sholihah, N. F., Saula, L. S., & Sholih, M. G. (2022). Perbandingan Antibakteri Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Daun Kemangi

- (Ocimum sanctum) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus. *Journal of Pharmaceutical and Sciences (JPS)*, 5(2), 279–285.
- Sidik, N. J., Agha, H. M., Alkamil, A. A., Alsayadi, M. M. S., & Mohammed, A. A. (2024). A Mini Review of Plant Tissue Culture: The Role of Media Optimization, Growth Regulators in Modern Agriculture, Callus Induction and the Applications. *AUIQ Complementary Biological System*, 1(2), 96–109. <https://doi.org/10.70176/3007-973x.1019>
- Silalahi, M. (2020). Sambiroto (*Andrographis paniculata*) dan Bioaktivitasnya. *Best Journal (Biology Education Science & Technology)*, 3(1), 76–84.
- Singh, A., & Dwivedi, P. (2018). Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 750–757.
- Sinurat, A., & Edi, S. (2025). Pengaruh 2,4-D dan BAP Terhadap Induksi Kalus Ciplukan Secara In Vitro. *Universitas Negeri Medan*, 8(2), 750–756.
- Sohn, S. I., Pandian, S., Rakkammal, K., Largia, M. J. V., Thamilarasan, S. K., Balaji, S., Zoclanclounon, Y. A. B., Shilpha, J., & Ramesh, M. (2022). Jasmonates in plant growth and development and elicitation of secondary metabolites: An updated overview. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942789>
- Soumare, A., Diédhiou, A. G., Arora, N. K., Tawfeeq Al-Ani, L. K., Ngom, M., Fall, S., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L., & Sy, M. O. (2021). Potential Role and Utilization of Plant Growth Promoting Microbes in Plant Tissue Culture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649878>
- Sucahyo, A. I., Manalu, K., & Nasution, R. A. (2023). Isolasi dan Identifikasi Mikroba Penyebab Kontaminasi dari Udara di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan UIN-SU Medan. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 1(1), 1–12. <https://doi.org/10.47134/biology.v1i1.1931>
- Susanti, D., Gatra, A., Revanti, A. T., & Wahyuni, A. (2024). Pemanfaatan Daun Sambiloto Sebagai Teh Herbal Antidiare Di Kelurahan Kedaung Kota Bandar Lampung. In *Jurnal Pengabdian Farmasi Malahayati* (Vol. 7, Number 1).
- Syam, N., Numba, S., & Imaniar, M. (2024). Increasing Flavonoid Compounds Through The Use Of Elicitors In Callus Culture Catharanthus Roseus L. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 24(3), 366–374. <https://doi.org/10.25181/jppt.v24i3.3406>
- Syukri, Y., Martien, R., Lukitaningsih, E., & Nugroho, A. E. (2016). Quantification of Andrographolide Isolated from *Andrographis paniculata* Nees Obtained from Traditional Market in Yogyakarta Using Validated HPLC. *Indones. J. Chem*, 16(2), 190–197.
- Szymczyk, P., Szymańska, G., Kuźma, Ł., Jeleń, A., & Balcerczak, E. (2022). Methyl Jasmonate Activates the 2C Methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate Synthase Gene and Stimulates Tanshinone Accumulation in *Salvia*

- miltiorrhiza Solid Callus Cultures. *Molecules*, 27(6), 1–22. <https://doi.org/10.3390/molecules27061772>
- 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>
- Tessema, L., Seid, E., & Moges, Z. (2021). Microbial Contaminants and Their Control Methods: A Review with Reference to Potato Tissue Culture. *Journal of Natural Sciences Research*, 12(10), 1–14. <https://doi.org/10.7176/jnsr/12-10-01>
- Tumewu, L., Pamungkas, I. R., Ilmi, H., Hafid, A. F., Tantular, I. S., Suciati, Wahyuni, T. S., & Widyawaruyanti, A. (2021). The Role of Andrographolide in *Andrographis paniculata* as a Potential Analgesic for Herbal Medicine based Drug Development. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(12), 6269–6274. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.01084>
- Utami, M., Dewi, A. S., Naufal, W., Pulungan, A. S., & Situmorang, N. (2025). Penerapan Aspek Bioetik Kultur Jaringan Terhadap Permasalahan Kontaminasi Mikroorganisme Di Salah Satu Laboratorium Kultur Jaringan Kota Medan. *Jurnal Agro Indragiri*, 10(2), 46–52. <https://doi.org/https://doi.org/10.32520/jai.v4i1>
- V, I., & A, P. (2022). Review on Tissue Culture of *Andrographis paniculata* and Significance of Andrographolide. *International Journal for Research Trends and Innovation*, 7(5), 498–508. www.ijrti.org
- Vickerstaff, V., Omar, R. Z., & Ambler, G. (2019). Methods to adjust for multiple comparisons in the analysis and sample size calculation of randomised controlled trials with multiple primary outcomes. *BMC Medical Research Methodology*, 19(1), 19–129. <https://doi.org/10.1186/s12874-019-0754-4>
- Wahyuni, A., Satria, B., & Zainal, A. (2020). Induksi Kalus Gaharu dengan NAA dan BAP Secara In Vitro. *Agrosains : Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), 39. <https://doi.org/10.20961/agsjpa.v22i1.36007>
- Wang, S., Feng, Y., Lou, Y., Niu, J., Yin, C., Zhao, J., Du, W., & Yue, A. (2023). 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase genes from *Glycine max* regulate plant growth and isoprenoid biosynthesis. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30797-4>
- Widasari, R., Mukarlina, M., & Zakiah, Z. (2021). Pertumbuhan Biji Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) dengan Pemberian NAA dan Ekstrak Biji Jagung (*Zea Mays*) secara In Vitro. *Jurnal Bios Logos*, 11(1), 47. <https://doi.org/10.35799/jbl.11.1.2021.31340>
- Wijaya, N. R., Suharto, D., & Sudrajad, H. (2024). Pengaruh Bap Dan 2,4 D Terhadap Inisiasi Dan Pertumbuhan Kalus Pulesari (*Alyxia Reinwardtii* Blume) The Effects Of Bap And 2,4 D On Initiation And Induction Of Pulesari (*Alyxia Reinwardtii* Blume) Callus. *Jurnal Pertanian Agros*, 26(1), 38–45.

- Wijaya, R., Restiani, R., & Aditiyarini, D. (2020). Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19 Gowa. *UIN Alauddin Makassar*, 253–262. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>
- Wilczańska, A., Sparzak-Stefanowska, B., Kokotkiewicz, A., Jesionek, A., Królicka, A., Łuczkiewicz, M., & Krauze-Baranowska, M. (2023). Biotechnological strategies for controlled accumulation of flavones in hairy root culture of *Scutellaria lateriflora* L. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47757-7>
- Wildani, R. (2025). Skripsi Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Naphthaleneacetic Acid Dan 6-Benzylaminopurin Serta Asam Jasmonat Terhadap Kadar Andrografolid Pada Kultur Kalus Sambiloto. In *Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia*.
- Wulandari, S., Sholihatun Nisa, Y., Indarti, S., & Rr Rahmi Sri Sayekti, dan. (2021). Sterilisasi Peralatan Dan Media Kultur Jaringan. *Agrinova: Journal of Agrotechnology Innovation*, 4(2), 16–19. <https://jurnal.ugm.ac.id/Agrinova/>
- Yang, L., Zhang, S., Zhang, Y., Wan, J., Zhou, S., Gu, X., Dong, C., & Feng, W. (2024). Spraying methyl jasmonate before harvesting can significantly increase the content of icariin in an important leaf medicinal herb, *Epimedium sagittatum*, by activating the expression of genes involved in flavonoid synthesis pathways. *BMC Plant Biology*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05966-w>
- Yunita, E. (2021). Mekanisme Kerja Andrografolida Dari Sambiloto Sebagai Senyawa Antioksidan. *Herb-Medicine Journal*, 4(1), 43–56.
- Zhang, L., Gu, Y., Li, J., Xu, S., Sun, M., Hu, X., & Wang, J. (2024). Research Progress of the Biosynthesis and Regulation of Andrographolide. *Guangdong Agricultural Sciences*, 51(5), 69–80. <https://doi.org/10.16768/j.issn.1004-874X.2024.05.006>