Conference Paper

Teknologi Kultur *in Vitro* untuk Produksi Metabolit Sekunder dan Pengembangan Tanaman yang Tahan Terhadap Perubahan Iklim

In Vitro Culture Technology for the Production of Secondary Metabolites and the Development of Plants That are Resistant to Climate Change

Sutini¹ *, Widiwurjani¹, Nora Augustien¹, Guniarti¹, Didik Huswo Pribadi¹, Djoko Agus Purwanto², Wirda Muslihatin³

¹Department of Agrotechnology, Agriculture Faculty, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur, Indonesia

²Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

³Department of Biology, Mathematic and Natural Sciences, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Indonesia

*Corresponding author:

E-mail:

tien.basuki@gmail.com

ABSTRAK

Perubahan iklim yang kita alami kini adalah diantaranya dipicu oleh adanya pemanasan global yang menyebabkan suhu udara meningkat, kekeringan-degradasi lahan, curah hujan yang fluktuatif, banjir, tanah longsor, pencemaran, naiknya permukaan air laut. Pada bidang pertanian berakibat penurunan kesuburan tanah, penurunan hasil pertanian, berefek fisiologis pada tanaman, gangguan gulma serta serangan hama-penyakit. Oleh sebab itu, strategi estimasi dan penyediaan teknologi yang adaptif diantaranya menerapkan teknologi kultur-*invitro* tanaman yang dapat beradaptasi terhadap perubahan iklim. Permasalahan dari makalah ini adalah penurunan produktivitas dan pelandaian produksi biomassa metabolit sekunder tanaman. Permasalahan ini dapat diatasi dengan mengadaptasi teknik kultur *in vitro* untuk memproduksi metabolit sekunder dan pengembangan tanaman. Kultur *in vitro* mempunyai kelebihan diantaranya tidak tergantung iklim, ketinggian lahan, cuaca dan temperature lingkungan. Tujuan penelitian ini adalah mengadaptasi teknik kultur *in vitro* tanaman untuk mendapatkan metabolit sekunder dan pengembangan tanaman yang adaptif. Metode yang dilaksanakan adalah telaah literatur terkait teknik kultur *in vitro* yang dapat menghasilkan biomassa metabolit sekunder dan pengembangan berbagai varietas tanaman. Simpulan dari penulisan penelitian ini adalah bahwa teknik kultur *in vitro* dapat memproduksi berbagai metabolit sekunder dan tanaman yang adaptif. Implikasi dari penulisan makalah ini adalah diperolehnya berbagai biomassa metabolit sekunder dan berbagai tanaman yang tahan terhadap perubahan iklim.

Kata Kunci: Metabolit sekunder, kultur *in vitro*, perubahan iklim, tanaman yang adaptif

ABSTRACT

*Climate change that we are experiencing today is triggered by global warming which causes air temperature to rise, drought-land degradation, fluctuating rainfall, floods, landslides, pollution, and rising sea levels. In the agricultural sector, this results in decreased soil fertility, decreased agricultural yields, physiological effects on plants, weed disturbances and attacks by pests. Therefore, the estimation strategy and the provision of adaptive technology include applying plant-*invitro* culture technology that can adapt to climate change. The problem of this paper is the decrease in productivity and the stagnation of secondary metabolite biomass production in plants. This problem can be overcome by adapting *in vitro* culture techniques to produce secondary metabolites and plant development. *In vitro* culture has advantages including it does not depend on climate, altitude, weather and environmental temperature. The aim of this study was to adapt the *in vitro* plant culture techniques to obtain secondary metabolites and adaptive plant development. The method used is a review of the literature*

How to cite:

Sutini et al. (2020). *In vitro* culture technology for the production of secondary metabolites and development of plants that are resistant to climate change. Seminar Nasional Magister Agroteknologi Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Jawa Timur. NST Proceedings. pages 30-36. doi: 10.11594/nstp.2020.0604

related to in vitro culture techniques that can produce secondary metabolite biomass and the development of various plant varieties. The conclusion of this research is that in vitro culture techniques can produce a variety of secondary metabolites and adaptive plants. The implication of this paper is to obtain a variety of secondary metabolite biomass and various plants that are resistant to climate change.

Keywords: Secondary metabolites, in vitro culture, climate change, adaptive plants

Pendahuluan

Perubahan iklim yang melanda seluruh wilayah di semua benua ini dipicu oleh diantaranya adanya pemanasan global. Pemanasan global adalah kondisi perubahan naiknya temperatur permukaan bumi yang disebabkan oleh efek fenomena pemancaran gas rumah kaca yang berlebihan yang berakibat panas matahari terjebak di atmosfer (Kusumawardhani & Gernowo, 2015). Fenomena pemancaran gas rumah kaca adalah sebagai akibat radiasi sinar matahari ke bumi yang menimbulkan efek hangat. Efek hangat ini selanjutnya dipantulkan lagi ke angkasa dan dijerap oleh gas-gas yang berisi gas karbon dioksida, gas metana, gas nitrogen dioksida, gas hidrofluorokarbon, gas sulfurheksafluorida dan uap air. Gas-gas tersebut dinamakan sebagai gas rumah kaca. Fenomena pemancaran gas rumah kaca sebagai istilah karena kejadiannya serupa pada rumah kaca untuk kegiatan pertanian untuk menghangatkan tanaman yang ada pada rumah kaca (Suryati, Salim & Titiresmi, 2007).

Dampak dari pemanasan global diantaranya terganggunya perubahan ekosistem di daratan. Dampak perubahan iklim di daratan dengan topografi perbukitan akan menyebabkan tanah longsor sebagai akibat pola curah hujan yang tidak normal dan perubahan temperatur yang dikarenakan oleh penipisan lapisan ozon. Pola curah hujan yang tidak normal juga berdampak pada komoditas perkebunan. Komoditas perkebunan yang terkena dampak langsung contohnya pada komoditas teh, yang terjadi penurunan produktivitas teh di tiap ketinggian tempat seiring dengan penurunan intensitas curah hujan (Dalimoenthes, Wulansari, & Rezamela, 2016). Dampak perubahan ekosistem di daratan juga menyebabkan degradasi lahan, pengurangan sumber keragaman beberapa makhluk hidup, kesehatan dan perubahan sistem perairan, sehingga mengganggu ketersediaan air di daratan.

Dampak terhadap kesehatan manusia dapat berupa dampak langsung maupun tidak langsung. Dampak langsung seperti serangan penyakit hingga menyebabkan kematian yang terkait langsung dengan perubahan temperatur yang ekstrim, pencemaran udara oleh mikroorganisme. Dampak tidak langsung seperti penularan penyakit melalui air, makanan yang tercemar dan dibawa oleh vektor penyebab penyakit yang terbawa oleh angin atau penyakit karena kekurangan air atau kekurangan makanan (Keman, 2007).

Dampak perubahan iklim di lautan seperti naiknya permukaan air laut yang akan merugikan negara yang wilayahnya berupa kepulauan-kepulauan. Naiknya permukaan air laut pada abad dua puluh satu ini diperkirakan setinggi empat sampai dengan tiga puluh lima inci yang berakibat pada gangguan kehidupan daerah pantai (Pratama, 2019). Gangguan kehidupan di daerah pantai terkait perubahan stress abiotik maupun respon biologis menjadi lebih kompleks. Sebagai contoh perubahan sifat kimiawi air laut akan berpengaruh langsung pada berbagai organisme larva ikan yang mempengaruhi penurunan jumlah populasinya (Harley et al., 2006). Penurunan jumlah larva ikan akan berpengaruh terhadap perubahan penurunan jejaring makanan, pergeseran distribusi spesies, dan insiden yang lebih besar adalah timbulnya berbagai penyakit pada habitat laut (Hoegh-Guldberg & Bruno, 2010). Dampak yang lebih besar lagi tidak hanya penurunan jumlah populasi dan jejaring makanan namun berpengaruh juga terhadap perubahan biologis, respon fisiologis bermanifestasi sebagai spesies yang berubah, invasi, dampak kepunahan, dan pergeseran ekosistem (Brierley & Kingsford, 2009).

Perubahan iklim ini berdampak pada semua sisi kehidupan terlebih sektor pertanian. Dampak perubahan iklim pada sektor pertanian bersifat langsung dan tidak langsung yang mencakup sisi sosial ekonomi dan sudut pandang biofisika. Sudut pandang biofisika diantaranya penurunan kesuburan tanah, penurunan hasil pertanian, berefek fisiologis pada tanaman, gangguan gulma serta serangan hama-penyakit. Penurunan kesuburan tanah disebabkan oleh stres abiotik sebagai

cemaran logam aluminium berlebih pada lahan yang ditamani tanaman tebu (Purnamaningsih & Hutami, 2016).

Dalam sektor pertanian untuk mengatasi perubahan iklim, diantaranya dapat ditanggulangi dengan teknologi pemuliaan tanaman, dan strategi bioteknologi, selain itu juga bisa menerapkan teknik rekayasa genetika. Revolusi teknik rekayasa genetika juga bisa membantu mengatasi masalah ketahanan pangan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim, dengan memproduksi tanaman transgenik (Raza et al., 2019). Penanggulangan dalam sector pertanian meskipun diimbangi oleh kegiatan pemuliaan tanaman, strategi bioteknologi dan kemajuan teknologi pertanian lainnya hasilnya belum nampak signifikan. Tampaknya peningkatan suhu musiman tinggi, melampaui apa yang telah dicatat dalam 50 tahun terakhir sehingga sangat berdampak pada hampir semua sektor.

Pada tahun 2020 peningkatan temperatur bervariasi dari 0,4°C dan 1,8°C menjadi lebih parah di daerah tropis. Peningkatan temperatur lebih besar dari 3°C secara dramatis akan mempengaruhi produktivitas pertanian, pendapatan pertanian, dan keamanan pangan. Pada tahun 2055 diperkirakan penurunan hasil gabah dan jagung turun sebesar 10 persen bila temperatur naik 1°C. Beberapa serangga dan tungau populasinya di atmosfer meningkat karena peningkatan temperatur dan karbon dioksida (CO₂) yang akan mempengaruhi pertumbuhan beberapa tanaman (Ortiz, 2012).

Dampak tidak langsung dari sisi sosial ekonomi pada bidang perikanan adalah bahwa perikanan tulang punggung kesejahteraan sosial ekonomi, khususnya di daerah tropis dan negara berkembang dimana sebagian besar penduduk bergantung pada ikan. Secara umum perubahan iklim, akan berpengaruh terhadap penurunan produktivitas perikanan di daerah tropis dan daerah beriklim sedang (Gaines et al., 2019). Menurut peneliti Zhang (2005) implikasi ekonomi secara luas dari perubahan iklim pada berbagai sektor pada tahun 2050 solusinya menggunakan model komputasi statis yang terdiri dari penggabungan model ekonomi dengan model peramalan iklim - kenaikan temperatur terhadap pertumbuhan perikanan dan tanaman yang terdampak perubahan iklim. Secara khusus permasalahan perubahan iklim diproyeksikan dengan penurunan produktivitas dan pelandaian produksi biomassa metabolit sekunder tanaman.

Beberapa permasalahan yang telah disebutkan salah satunya dapat direduksi/ dicarikan solusi dengan mengadaptasi teknik kultur *in vitro*. Teknik kultur *in vitro* adalah suatu cara membudidayakan tanaman melalui tabung kaca dengan suatu media tertentu dan pengkondisian lingkungan tanaman yang sesuai dengan syarat khusus yang dibutuhkan tanaman secara individu untuk tumbuh-kembang. Teknik kultur *in vitro* ini dapat memproduksi biomassa berbentuk metabolit sekunder dan tanaman utuh sesuai kebutuhan pada bidang pertanian dan berbagai agroindustri.

Tujuan dari penulisan makalah ini adalah mengadaptasi teknik kultur *in vitro* tanaman untuk mendapatkan metabolit sekunder dan pengembangan tanaman yang adaptif terhadap perubahan iklim.

Analisis Pemecahan Masalah

Analisis pemecahan masalah meliputi uraian tentang: (1) perubahan iklim, (2) teknik kultur *in vitro* (3) produksi metabolit sekunder dalam kultur *in vitro*, (4) kultur *in vitro* untuk pengembangan tanaman yang adaptif

Perubahan Iklim

Perubahan iklim merupakan proses natural dengan kecenderungan berkesinambungan dalam waktu yang berkepanjangan. Terjadinya perubahan iklim karena proses internal maupun eksternal, atau sebagai akibat campur tangan keaktifan manusia yang terus menerus sehingga mengubah komposisi atmosfer atau tata guna lahan. Perubahan iklim dicirikan fenomena seperti peningkatan temperatur dalam jangka panjang dan kecenderungan naik dari waktu ke waktu. Selain

temperatur udara yang meningkat, dua indikator perubahan iklim yakni perubahan pola curah hujan dan kenaikan permukaan air laut (Tusy et al., 2011).

Dampak perubahan iklim terhadap pertanian sangat bergantung pada tingkat dan kecepatan perubahan iklim juga sifat kelenturan sumber daya dan teknik produksi pertanian. Maka penulisan artikel ini berfokus pada kajian beberapa hasil penelitian perubahan iklim dan dampaknya terhadap sektor pertanian. Untuk menanggulangi dampak perubahan iklim diadaptasikan teknik kultur *in vitro* yang dapat memproduksi biomassa maupun pengembangan tanaman yang adaptif terhadap perubahan iklim.

Teknik Kultur *in vitro*

Teknik kultur *in vitro* sebagai teknik pembudidayaan tanaman melalui sel atau organ tanaman secara aseptis dengan nutrisi tertentu dan lingkungan sesuai yang dapat menghasilkan biomassa dan memproduksi klon tanaman dengan gen identic dengan induknya. Klon yang identic dengan induknya dapat diperbanyak untuk tujuan komersial sebagai perbanyakan tanaman/mikropropagasi. Mikropropagasi melewati tahapan-tahapan yaitu, prapropagasi, inisiasi eksplan, subkultur eksplan untuk perkembangbiakan, pertunasan, perakaran dan persiapan untuk aklimatisasi dalam skala industri dengan perawatan yang ketat (Harshal & Gautam, 2014).

Produksi metabolit sekunder dalam kultur *in vitro*

Produksi metabolit sekunder dalam kultur *in vitro* bisa dengan media padat yang berbahan dasar penggunaan agar, namun dapat juga dengan media cair yang disebut sebagai kultur suspensi sel. Hingga kini telah diproduksi metabolit diantaranya protein rekombinan seperti anti bodi, enzim, zat pengatur tumbuh sitokinin dan vaksin. Beberapa bentuk kultur *in vitro* tanaman yang berisi metabolit sekunder dan fungsi bioaktif tersebut pada Table 1.

Tabel 1. Bentuk kultur *in vitro* tanaman yang berisi metabolit sekunder dan fungsi bioaktif

No	Bentuk kultur <i>in vitro</i>	Tanaman	Metabolit sekunder	Fungsi bioaktif	Referensi
1	kalus	<i>Camellia sinensis</i> L	Flavan-3-ol	antiobesitas	(Sutini et al., 2008)
2	Kalus	<i>Centella asiatica</i>	saponin	A.hipertensi	(Maruzy, Budiarti, & Subositi, 2020)
3	suspensi	<i>A.chrysocholorus</i>	Flavonoid	Anti inflamatory	(Bharati & Bansal, 2014)
4	kalus	<i>Nepeta cataria</i>	Flavonoid	Anti bakteri	(Najjar, Khayata, & Aloqab, 2014)
5	Kalus	<i>Citrullus colocynthis</i>	Quercetin	Cancer	Tanveer, Mirza, & Asi, 2012)
6	Hairy root	<i>Fagopyrum tataricum</i>	phenolik	herbisida	(Uddin et al., 2011)

Kultur *in vitro* untuk pengembangan tanaman yang adaptif

Kultur *in vitro* selain dapat memproduksi bionassa berupa kalus yang mengandung berbagai metabolit sekunder juga dapat memproduksi tanaman yang adaptif terhadap perubahan iklim. Langkah-langkah kultur *in vitro* untuk memproduksi tanaman yang adaptif dengan beberapa tahapan yaitu: desinfeksi dimulainya kultur, inisiasi kultur, perbanyakan/multiplikasi, pengembangan tunas dan akar dan aklimatisasi/ penanaman di lahan (Khayat, 2012). Pada tahapan multiplikasi maupun pengembangan tunas atau akar dapat diinduksi dengan bahan / precursor sesuai dengan tanaman yang akan kita butuhkan. Tanaman hasil kultur *in vitro* adaptif terhadap perubahan iklim tersebut pada Tabel 2.

Tabel 2. Tanaman hasil kultur *in vitro* yang adaptif terhadap perubahan iklim

No	Bentuk kultur <i>in vitro</i>	Nama tanaman	Bentuk adaptif	Referensi
1	stem sel	<i>Centella asiatica</i>	mikropropagasi	(Nayak et al., 2012)
2	kalus	<i>Pluchea lanceolata</i>	mikropropagasi	(Arya, Patni, & Kant, 2008)
3	kalus	<i>Justiciagendarussa Burm. f.</i>	mikropropagasi	(Bhagya et al., 2013)
4	stem sel	<i>Arabidopsislyratassp. pet-raea.</i>	Mikropropagasi-kondisi dingin	(Kenta et al., 2016)
5	protoplas	<i>Vicia villosa Roth</i>	Mikropropagasi- ale-lokimia	Sasamoto et al., 2018).
6	kalus	<i>Bixa orellana L. (annatto)</i>	mikropropagasi	(Daniele et al., 2019)
7	kalus	<i>Lycium barbarum L</i>	Propagasi -cahaya	(Debora et al., 2019)
8	kalus	<i>Musa AAA cv. Grand Naine</i>	mikropropagasi	(Jerico, Carlos, & Juan, 2019)

Pembahasan

Teknologi kultur *in vitro* dapat digunakan untuk memproduksi biomassa kalus yang berisi metabolit sekunder (Tabel 1). Metabolit sekunder dengan teknik kultur *in vitro* dapat dilakukan dengan mengoptimasi faktor-faktor yang terlibat seperti: media, nutrisi, zat pengatur tumbuh, elisitor, prekursor maupun lingkungan yang terkendali. Artikel ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kumar et al. (2019) bahwa induksi kalus dan regenerasi kalus merupakan prasyarat awal untuk mendapatkan biomassa metabolit maupun tanaman. Untuk memperoleh tanaman berturut-turut yaitu pembentukan kalus, hibridisasi somatic, meregenerasi dan memberikan mutagen tertentu untuk menjadikan tanaman tahan perubahan iklim (Kumar et al., 2019). Perubahan iklim juga akan menyebabkan kepunahan dari spesies tanaman yang langka. Untuk mengatasi spesies yang langka kultur *in vitro* juga memberikan solusi yang dapat mengkonservasi tanaman yang langka / hampir punah karena perubahan iklim. Tanaman yang hampir punah /langka dan dapat diatasi dengan teknik kultur *in vitro* diantaranya adalah *Colchicaceae*, *Apocynaceae*, *Rubiaceae*, *Passifloraceae*, *Stemonaceae*, *Euphorbiaceae*, dan *Cucurbitaceae* yang memiliki nilai pengobatan yang tinggi (Deepa & Thomas, 2020).

Selain dapat memproduksi metabolit sekunder teknik kultur *in vitro* dapat juga untuk memproduksi tanaman yang tahan terhadap perubahan iklim (Tabel 2) yang dapat diproduksi dengan skala industri. Makalah ini relevan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ali dan Ray (2018) bahwa teknologi kultur *in vitro* mampu merespon perubahan iklim dengan cara embryogenesis tanaman, fusi protoplas dan mikropropagasi dan tanaman selain bebas dari penyakit juga tahan terhadap perubahan iklim (Ali & Ray, 2018).

Kesimpulan

Berbagai biomasa metabolit sekunder dan berbagai tanaman yang tahan terhadap perubahan iklim dapat diproduksi dengan efisien dan waktu relative cepat melalui teknologi kultur *in vitro*. Disamping untuk produksi metabolit sekunder teknik ini juga dapat menginduksi gen-gen lain sesuai kebutuhan pengguna yang dapat sebagai konservasi tanaman, tanaman tahan berbagai cekaman dan tanaman yang merespon positif juga adaptif terhadap perubahan iklim.

Referensi

- Ali, M. N., & Ray, S. S. (2018). Plant Tissue Culture as Potential Option in Developing Climate Resilient Spices, *In Book: Indian Spices*, 405-419. doi: [10.1007/978-3-319-75016-3_15](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75016-3_15)
- Arya, D., Patni, V., & Kant, U. (2008). In vitro propagation and quercetin quantification in callus cultures of Rasna (*Pluchea lanceolata* Oliver & Hiern.), *Nisair Online Periodicals Repository*, 7, 83-387
- Bhagya, N., Chandrashekar, K. R., Karun, A., & Bhavyashree, U. (2013). Plantlet regeneration through indirect shoot organogenesis and somatic embryogenesis in *Justicia gendarussa* Burm. f., a medicinal plant. *J. Plant Biochem, Biotechnol.*, 22(4), 474-482.
- Bharati, A. J., & Bansal, Y. K. (2014). *In vitro* production of flavonoids: a review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(6), 508-533.
- Brierley, A. S., & Kingsford, M. J. (2009). Impacts of climate change on marine organisms and ecosystems. *Current Biology*, 19(14), 602-614, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.05.046>
- Dalimoentes, S. L., Wulansari, R., & Rezamela, E. (2016). Dampak perubahan iklim terhadap produktivitas pucuk teh pada berbagai ketinggian tempa. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 22(3), 1-10.
- Daniele, V. F., Ludmila, N., Maria, V., Vespasiano, B., Xavier, A., Elyabe, V. C., Monteiro, M., Marcio, G. C., Rogalski, M., & Wagner, C. O. (2019). Wounding and medium formulation affect de novo shoot organogenic responses in hypocotyl-derived explants of annatto (*Bixa orellana* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 1-13.
- Débora, O. P., Pollyanna, A. C., Lucas, B. S., Fernanda, C. N., Paiva, R., & Domiciano, D. (2019). Goji berry (*Lycium barbarum* L.) in vitro multiplication improved by light emitting diodes (LEDs) and 6-benzylaminopurine. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55(3), 1-7. doi: [10.1007/s11627-019-09970-w](https://doi.org/10.1007/s11627-019-09970-w)
- Deepa, A. V., & Thomas, T. D. (2020). In vitro strategies for the conservation of Indian medicinal climbers, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 145, 1-10.
- Gaines, S., Cabral, R., & Christopher, M., & Golbuu, Y. (2019). *The expected impacts of climate change on the ocean economy*, Blue paper, pp. 1-56.
- Harley, C. D. G., Hughes, A. R., Miner, B. G., Sorte, C. J. B., Thornber, C. S., Tomanek, L., Rodriguez, L. F., & Williams, S. L. (2006). The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters*, 9(2), 228-241. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00871.x>
- Harshal, A. B., & Gautam, S. P. (2014). *Plant tissue culture: A review*, 2(6), 565-572.
- Hoegh-Guldberg, O., & Bruno, J. F. (2010). The impact of climate change on the world's marine ecosystems. *Science*, 328(5985), 1523-8. doi: [10.1126/science.1189930](https://doi.org/10.1126/science.1189930)
- Jericó, J. B., Carlos, A. C., & Juan, C. P. (2019). *A new temporary immersion system for commercial micropropagation of banana* (*Musa AAA* cv. Grand Naine), pp.1-8.
- Keman, S. (2007). Perubahan iklim global, kesehatan manusia perubahan iklim global, kesehatan manusia dan pembangunan berkelanjutan. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 3(2), 195 - 204.
- Kenta, T., Jessica, E. M., Roger, K. B., Burke, T., Urwin, P., & Matthew, P. D. (2016). Tissue culture as a source of replicates in nonmodel plants: Variation in cold response in *Arabidopsis lyrata* ssp. *Petraea. G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6(12), 3817-3823.
- Khayat, E. (2012). An engineering view to micropropagation and generation of true to type and pathogen-free plants. 230-241.
- Kumar, A., Priya, Sharma, S., & Yadav, M. K. (2019). Plant tissue culture technology to improve crop species – A comprehensive approach. *Acta Scientific Agriculture*, 3(2), 76-80.
- Kusumawardhani, I. D., & Gernowo, R. (2015). Analisis perubahan iklim berbagai variabilitas curah hujan dan emisi gas metana (CH₄) dengan metode grid analysis and display system (grads) di kabupaten Semarang,. *Youngster Physics Journal*, 4(1), 49-54.
- Maruzy, A., Budiarti, M., & Subositi, D. (2020). Authentication of *Centella asiatica* (L.) Urb. (Pegagan) and its adulterant based on macroscopic, microscopic, and chemical profiling. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 10(1), 19-30.

- Najjar, M. A., Khayata, W., & Aloqab, M. (2014). Effect of some plant growth regulators on callus, biomasses and cell suspension from catnip (*Nepeta cataria*) and estimating their ability for production of some flavonoids compounds, *Research Journal of Aleppo University Basic Science Series*, 4102(69), 29-46.
- Ortiz, R. (2012). Climate change and agricultural production. Inter-American Development Bank.
- Pratama, R. (2019). Efek rumah kaca terhadap bumi. *Buletin Utama Teknik*, 14(2), 49 - 54.
- Purnamaningsih, R., & Hutami, S. (2016). Increasing al-tolerance of sugarcane using ethyl methane sulphonate and in vitro selection in the low pH media. *Hayati Journal of Bioscience*, 23(1), 1-6.
- Raza, A., Razzaq, A., Mehmood, S. S., Zou, X., Lv, Y., & Xu, J. (2019). Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. *Plant*, 8(2), 34, <https://doi.org/10.3390/plants8020034>
- Sasamoto, H., Mardani, H., Sasamoto, Y., Naoya, W., Murashige-Baba, T., Sato, T., Hasegawa, A., & Fujii, Y. (2018). Evaluation of canavanine as an allelochemical in etiolated seedlings of *Vicia villosa* Roth: protoplast co-culture method with digital image analysis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55(3), 1-9. Doi: [10.1007/s11627-019-09985-3](https://doi.org/10.1007/s11627-019-09985-3)
- Suryati, T., Salim, F., & Titiresmi. (2017). Pemanasan global dan keanekaragaman hayati. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 8(1), 61-68.
- Sutini, B., Tatik, W., Sutiman, B., & Sumitro, B. (2008). Meningkatkan produksi flavan-3-Ol melalui kalus *Camellia sinensis* L. dengan elisator cu^{2+} . *Berkala Penelitian Hayati*, 14, 39-44, 2008.
- Tanveer, H., Mirza, S. A., & Asi, M. R. (2012). Appraisal of an important flavonoid, quercetin, in callus cultures of *Citrullus colocynthis*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14(4), 528-532.
- Tusy, A. A., Oktivia, R., Purwanta, W., Diah, A. E. (2011). *Ippek untuk adaptasi perubahan iklim: kajian kebutuhan tema riset prioritas*, pp. 1-142.
- Uddin, M. R., Li, X., Won, O. J., Park, S. U., Pyon, J. Y. (2011). Herbicidal activity of phenolic compounds from hairy root cultures of *Fagopyrum tataricum*, 52, 25-35.
- Zhang, J. (2005). *Assessing climate change impacts: agriculture*, CIP-Climate Impacts and Policy Division, Working Paper N.02.2007, pp. 1-31.