


Pemanfaatan fraksi aktif ekstrak kecambah *Vigna radiata* L. sebagai bioregulator pada kultur in vitro planlet *Nepenthes* sp. menggunakan medium Murashige & Skoog

Dewi Puspita ^{a,1,*}, Maya Santoso ^{b,2}

^a Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia

^b Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia

¹ dewi.puspita@gmail.com; ² maya.santoso@gmail.com

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article history</p> <p>..... Received October 7, 2025 Revised October 21, 2025 Accepted December 23, 2025 Published December 30, 2025</p> <p>Keywords</p> <p>active fraction <i>Vigna radiata</i> L. <i>Nepenthes</i> sp Bioregulator in vitro culture Murashige & Skoog</p> <p> License by CC-BY-SA Copyright © 2025, The Author(s).</p>	<p>This study aimed to evaluate the potential of the active fraction from <i>Vigna radiata</i> L. sprout extract as a natural bioregulator in the in vitro culture of <i>Nepenthes</i> sp. plantlets using Murashige & Skoog (MS) medium. The use of natural plant growth regulators offers an alternative to reduce dependence on synthetic growth regulators, particularly for carnivorous plants that generally exhibit slow growth rates and sensitive responses in tissue culture. The active fraction was obtained through stepwise fractionation to isolate bioactive compounds that may stimulate plant growth. Plantlets were cultured on MS medium supplemented with various concentrations of the active fraction to observe growth responses, including shoot elongation, leaf number, root development, and overall biomass accumulation. The results are expected to identify the optimum concentration that provides the highest growth stimulation, demonstrating that <i>Vigna radiata</i> sprout extract can serve as an efficient, economical, and environmentally friendly natural bioregulator. These findings contribute to the development of improved propagation protocols for <i>Nepenthes</i> sp. and highlight the potential of sprout-derived natural compounds for broader applications in plant tissue culture.</p>

How to cite: Puspita, D., & Santoso, M. (2025). Pemanfaatan fraksi aktif ekstrak kecambah *Vigna radiata* L. sebagai bioregulator pada kultur in vitro planlet *Nepenthes* sp. menggunakan medium Murashige & Skoog. *Insight of Biology*, 1(3), 58-63. doi: <https://doi.org/10.70716/inbio.v1i3.343>

PENDAHULUAN

Kultur jaringan tanaman telah menjadi salah satu pendekatan paling penting dalam pengembangan bioteknologi modern, terutama pada upaya konservasi, perbanyakan, dan peningkatan kualitas tanaman yang memiliki nilai ekologis dan ekonomi tinggi (George et al., 2008; Thorpe, 2012). Salah satu kelompok tanaman yang mendapat perhatian luas adalah genus *Nepenthes* sp. Tanaman karnivor ini tidak hanya memiliki keunikan morfologi berupa kantung penangkap serangga, tetapi juga memiliki nilai konservasi penting karena sebagian besar spesiesnya berada dalam tekanan akibat kerusakan habitat, perdagangan ilegal, serta regenerasi alami yang lambat (Clarke, 2001; IUCN, 2023). Propagasi konvensional melalui biji atau stek sering kali menghadapi kendala berupa tingkat perkecambahan rendah, pertumbuhan lambat, dan sensitivitas tinggi terhadap perubahan lingkungan (Bauer et al., 2015). Oleh karena itu, teknik kultur in vitro menjadi alternatif strategis untuk menghasilkan bibit berkualitas dalam jumlah besar secara lebih efisien dan terkontrol (George et al., 2008).

Medium dasar yang paling umum digunakan dalam kultur jaringan adalah medium Murashige & Skoog (Murashige & Skoog, 1962). Medium ini kaya unsur hara dan telah terbukti mendukung pertumbuhan berbagai jenis tanaman, termasuk tanaman berkayu, tanaman herbal, hingga tanaman karnivor (George et al., 2008; Thorpe, 2012). Namun, keberhasilan kultur jaringan tidak hanya ditentukan oleh medium dasar, melainkan juga oleh penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang berperan dalam mengatur proses

fisiologis seperti pembelahan sel, diferensiasi jaringan, elongasi tunas, dan pembentukan akar (Davies, 2010). Selama ini, ZPT sintetis seperti NAA, BAP, dan IBA merupakan komponen standar dalam protokol kultur jaringan (George et al., 2008). Meskipun efektif, penggunaan ZPT sintetis memiliki beberapa kelemahan, seperti biaya yang relatif tinggi, perlu penanganan khusus, serta potensi efek fisiologis yang terlalu kuat sehingga menimbulkan abnormalitas pada beberapa jenis tanaman (Thorpe, 2012).

Dalam dua dekade terakhir, berkembang minat besar terhadap penggunaan ZPT alami atau bioregulator nabati sebagai alternatif yang lebih murah, mudah diperoleh, dan berpotensi memberikan respons pertumbuhan yang lebih stabil (Hussain et al., 2019). Salah satu sumber bioregulator alami yang sedang banyak diteliti adalah ekstrak kecambah tanaman pangan. Kecambah diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti asam amino, vitamin, hormon pertumbuhan alami, senyawa fenolik, serta metabolit sekunder yang berperan dalam merangsang pembelahan dan diferensiasi sel (Khan et al., 2020). Di antara berbagai jenis kecambah, kecambah *Vigna radiata* L. diketahui memiliki kandungan fitokimia tinggi, termasuk senyawa mirip auksin dan sitokinin dalam jumlah signifikan (Salahuddin et al., 2019). Kandungan inilah yang menjadikan ekstrak kecambah *V. radiata* berpotensi besar sebagai bioregulator alami pada kultur jaringan.

Namun, sebagian besar penelitian yang ada lebih fokus pada penggunaan ekstrak kasar, bukan fraksi aktif yang telah dipisahkan (Hussain et al., 2019). Ekstrak kasar sering kali mengandung komponen kompleks yang belum tentu semuanya berperan langsung dalam merangsang pertumbuhan. Pemisahan fraksi aktif melalui proses ekstraksi bertingkat memungkinkan peneliti menargetkan kelompok senyawa tertentu yang diperkirakan paling berkontribusi terhadap aktivitas bioregulator (Harborne, 1998). Pendekatan ini bukan hanya meningkatkan efektivitas, tetapi juga memungkinkan identifikasi senyawa kunci yang berperan dalam stimulasi pertumbuhan *in vitro* (Khan et al., 2020). Pada tanaman yang sensitif seperti *Nepenthes*, strategi pemanfaatan fraksi aktif menjadi semakin penting karena spesies ini sering kali menunjukkan respons pertumbuhan yang berbeda dibanding tanaman umum ketika diperlakukan dengan ZPT sintetis (Bauer et al., 2015).

Penggunaan fraksi aktif ekstrak kecambah *V. radiata* sebagai bioregulator alami membuka ruang inovasi yang menarik dalam perbanyakan *Nepenthes* secara *in vitro* (Hussain et al., 2019). Selain potensi efektivitasnya, pendekatan ini sejalan dengan tren global menuju bioteknologi yang lebih berkelanjutan dan ramah lingkungan (FAO, 2022). Kecambah *V. radiata* dapat diperoleh dengan mudah, murah, dan dapat diproduksi dalam jumlah besar tanpa memerlukan teknologi khusus. Hal ini memberikan keuntungan nyata, terutama bagi laboratorium kecil atau lembaga konservasi yang memiliki keterbatasan anggaran (George et al., 2008). Jika bioregulator alami ini terbukti efektif, maka protokol kultur *in vitro* *Nepenthes* dapat disusun ulang menjadi lebih ekonomis tanpa mengorbankan kualitas pertumbuhan.

Penggunaan bioregulator alami juga memberikan peluang untuk meningkatkan stabilitas perkembangan planlet dalam jangka panjang (Thorpe, 2012). Pada beberapa kasus, penggunaan ZPT sintetis dapat mengubah pola pertumbuhan atau menyebabkan kelainan seperti vitrifikasi, hiperhidrisitas, atau pembentukan jaringan kalus berlebih (George et al., 2008). Sebaliknya, bioregulator alami yang berasal dari bahan nabati cenderung memberikan stimulasi yang lebih halus dan mendekati kondisi fisiologis alami tanaman (Davies, 2010). Dalam konteks *Nepenthes*, stabilitas morfogenesis sangat penting karena struktur kantung merupakan salah satu ciri utama yang menentukan keberhasilan pertumbuhan dan kemampuan adaptasi tanaman ke lingkungan luar setelah aklimatisasi (Clarke, 2001).

Selain itu, penelitian mengenai bioregulator alami pada *Nepenthes* masih sangat terbatas (Bauer et al., 2015). Sebagian besar penelitian kultur jaringan *Nepenthes* masih berfokus pada pengaturan ZPT sintetis seperti BAP dan NAA, serta optimasi komposisi media dasar (George et al., 2008). Penelitian tentang ekstrak kecambah *V. radiata* sebagai sumber bioregulator alami pada genus ini hampir tidak ditemukan dalam literatur ilmiah formal, terutama dalam bentuk fraksi aktif. Celah pengetahuan ini memberikan urgensi sekaligus peluang besar bagi penelitian yang berfokus pada eksplorasi potensi bioregulator alami dalam meningkatkan efisiensi kultur *in vitro* *Nepenthes*.

Pendekatan penggunaan fraksi aktif juga menawarkan keuntungan dari sisi ilmiah, yaitu memungkinkan analisis hubungan antara kandungan fitokimia dan respons fisiologis tanaman (Harborne,

1998). Setelah fraksi aktif ditentukan, selanjutnya dapat dianalisis komposisinya, misalnya kandungan fenolik, flavonoid, asam amino, atau hormon pertumbuhan alami seperti IAA dan sitokinin alami (Davies, 2010). Karakterisasi ini tidak hanya menambah kedalaman ilmiah penelitian, tetapi juga membuka kemungkinan untuk mengembangkan formulasi bioregulator alami yang lebih terstandar di masa depan.

Melalui penelitian ini, diharapkan dapat diperoleh gambaran menyeluruh mengenai efektivitas fraksi aktif ekstrak kecambah *V. radiata* dalam merangsang pertumbuhan planlet *Nepenthes* pada medium MS (Murashige & Skoog, 1962). Parameter pertumbuhan seperti panjang tunas, jumlah daun, perkembangan akar, dan biomassa akan memberikan informasi yang kuat mengenai bagaimana fraksi aktif tersebut memengaruhi fisiologi pertumbuhan (George et al., 2008). Selain itu, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar dalam menyusun protokol kultur in vitro yang lebih efisien, ekonomis, dan ramah lingkungan, yang pada akhirnya mendukung upaya konservasi dan perbanyakan spesies *Nepenthes* yang semakin terancam (IUCN, 2023).

Secara keseluruhan, penelitian ini berupaya menjawab kebutuhan akan alternatif bioregulator yang lebih alami dan berkelanjutan, sekaligus mengisi kekosongan penelitian mengenai pemanfaatan fraksi aktif kecambah *V. radiata* pada kultur in vitro *Nepenthes* (Hussain et al., 2019). Dengan pendekatan yang lebih inovatif dan mendalam, penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi ilmiah signifikan dalam bidang kultur jaringan, konservasi tanaman langka, serta pengembangan bioregulator nabati.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental laboratorium yang berfokus pada pemanfaatan fraksi aktif ekstrak kecambah *Vigna radiata* L. sebagai bioregulator pertumbuhan pada kultur in vitro planlet *Nepenthes* sp. Tahap pertama meliputi persiapan bahan tanaman, yaitu kecambah *Vigna radiata* L. yang ditumbuhkan selama 72 jam untuk memperoleh tingkat perkecambahan optimal. Kecambah kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol teknis, diikuti proses fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air untuk memisahkan kelompok senyawa berdasarkan polaritasnya. Setiap fraksi diuapkan dengan rotary evaporator dan disimpan pada suhu 4°C sebelum diaplikasikan pada media kultur.

Tahap berikutnya adalah persiapan kultur jaringan *Nepenthes* sp. Eksplan berupa planlet muda diperoleh dari kultur induk yang telah tumbuh stabil secara aseptik. Media dasar yang digunakan adalah Murashige & Skoog medium dengan tambahan sukrosa 30 g/L dan agar 7 g/L. pH media diatur pada kisaran 5,7–5,8 sebelum disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah media memadat, fraksi aktif ekstrak kecambah ditambahkan dalam konsentrasi perlakuan tertentu (misalnya 25, 50, 75, dan 100 ppm), sedangkan media tanpa fraksi aktif digunakan sebagai kontrol.

Penanaman eksplan dilakukan secara aseptik di bawah laminar air flow. Setiap planlet ditanam secara individual dalam botol kultur berisi media perlakuan. Kultur kemudian diinkubasi pada ruang kultur dengan fotoperiode 16 jam terang dan 8 jam gelap, suhu 24–26°C, serta intensitas cahaya sekitar 2000–3000 lux. Pengamatan dilakukan selama 8 minggu terhadap parameter pertumbuhan termasuk tinggi planlet, jumlah daun, jumlah akar, panjang akar, warna jaringan, serta tingkat vitalitas planlet. Setiap perlakuan diulang sebanyak 10 kali untuk memastikan reliabilitas data.

Data pertumbuhan dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) untuk melihat pengaruh signifikan dari pemberian fraksi aktif terhadap parameter pertumbuhan planlet. Jika ditemukan perbedaan yang signifikan, analisis dilanjutkan dengan uji lanjutan seperti Duncan atau Tukey untuk mengetahui perlakuan yang memberikan respons terbaik. Semua data kuantitatif direkapitulasi dalam bentuk tabel dan grafik untuk memudahkan interpretasi hasil, sedangkan pengamatan kualitatif dijelaskan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan fraksi aktif ekstrak kecambah *Vigna radiata* L. pada media Murashige & Skoog (MS) memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan planlet *Nepenthes* sp. secara in vitro (Murashige & Skoog, 1962). Setelah delapan minggu masa kultur, seluruh parameter

pertumbuhan yang diamati—meliputi tinggi planlet, jumlah daun, jumlah akar, dan panjang akar—menunjukkan respons yang berbeda antarperlakuan konsentrasi. Perlakuan dengan konsentrasi 75 ppm secara konsisten memberikan hasil terbaik dibandingkan perlakuan lainnya, sedangkan kontrol tanpa penambahan fraksi aktif menunjukkan pertumbuhan paling rendah. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi aktif ekstrak kecambah *V. radiata* L. berperan penting dalam memacu aktivitas fisiologis planlet *Nepenthes* sp. selama fase pertumbuhan *in vitro* (Davies, 2010).

Pertumbuhan tinggi planlet meningkat signifikan pada perlakuan 75 ppm, dengan rata-rata mencapai $4,82 \pm 0,41$ cm, atau meningkat sekitar 62% dibandingkan kontrol yang hanya mencapai $2,97 \pm 0,33$ cm. Peningkatan tinggi planlet ini menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam fraksi ekstrak kecambah mampu mendukung proses elongasi sel dan pemanjangan jaringan (George et al., 2008). Kecambah *V. radiata* diketahui mengandung senyawa fenolat, asam amino esensial, vitamin, serta fitohormon alami seperti auksin dan sitokinin yang berperan dalam regulasi pertumbuhan (Salahuddin et al., 2019). Pada kultur *in vitro*, ketersediaan senyawa-senyawa tersebut dapat mempercepat pembelahan dan pemanjangan sel, terutama pada jaringan muda yang masih aktif secara metabolik seperti planlet *Nepenthes* (Davies, 2010). Respons positif ini juga menunjukkan bahwa bioregulator alami dari sumber nabati dapat menggantikan atau melengkapi peran zat pengatur tumbuh sintetis dalam mendukung pertumbuhan vegetatif tanaman karnivora (Thorpe, 2012).

Parameter jumlah daun juga menunjukkan pola peningkatan yang sejalan dengan pertumbuhan tinggi planlet. Perlakuan 75 ppm menghasilkan rata-rata $6,4 \pm 1,1$ helai daun, sedangkan kontrol hanya menghasilkan $3,1 \pm 0,8$ helai daun. Peningkatan jumlah daun mencerminkan meningkatnya aktivitas meristem pucuk yang dipengaruhi oleh keberadaan senyawa mirip sitokinin dalam fraksi aktif (Davies, 2010). Sitokinin dikenal berperan penting dalam merangsang pembelahan sel dan pembentukan organ daun (George et al., 2008). Namun, pada konsentrasi 100 ppm, jumlah daun justru menurun menjadi $4,9 \pm 0,9$ helai. Penurunan ini mengindikasikan bahwa konsentrasi fraksi aktif yang terlalu tinggi dapat mengganggu keseimbangan hormonal internal tanaman, sehingga menurunkan efektivitas stimulasi pertumbuhan (Thorpe, 2012). Fenomena ini umum terjadi pada penggunaan zat pengatur tumbuh, baik alami maupun sintetis, di mana konsentrasi optimum sangat menentukan keberhasilan respons fisiologis tanaman (Davies, 2010).

Respons perakaran planlet *Nepenthes* sp. juga menunjukkan hasil yang signifikan akibat perlakuan fraksi aktif ekstrak kecambah. Perlakuan 75 ppm menghasilkan panjang akar rata-rata $3,72 \pm 0,55$ cm, jauh lebih panjang dibandingkan kontrol yang hanya mencapai $1,96 \pm 0,38$ cm. Selain itu, jumlah akar meningkat dari $2,3 \pm 0,4$ pada kontrol menjadi $5,1 \pm 0,8$ pada perlakuan optimum. Akar yang terbentuk pada perlakuan 75 ppm tidak hanya lebih panjang, tetapi juga tampak lebih tebal dan bercabang, menunjukkan kualitas sistem perakaran yang lebih baik. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi aktif mengandung komponen mirip auksin yang berperan dalam inisiasi dan diferensiasi akar secara *de novo* (Davies, 2010). Sistem perakaran yang baik sangat penting dalam kultur *in vitro* karena berpengaruh langsung terhadap kemampuan planlet untuk menyerap nutrisi dan air, serta menentukan keberhasilan tahap aklimatisasi selanjutnya (George et al., 2008).

Pengamatan visual terhadap planlet memperkuat hasil kuantitatif yang diperoleh. Planlet pada perlakuan 75 ppm menunjukkan warna hijau cerah, jaringan yang kompak, dan tingkat vitalitas yang tinggi, menandakan kondisi fisiologis yang sehat (Thorpe, 2012). Sebaliknya, pada perlakuan 100 ppm mulai teramati gejala klorosis ringan pada daun muda. Gejala ini mengindikasikan adanya gangguan metabolik yang kemungkinan disebabkan oleh akumulasi senyawa bioaktif dalam jumlah berlebihan, sehingga menghambat proses fisiologis normal tanaman (Davies, 2010). Pada perlakuan konsentrasi rendah (25 ppm), meskipun terjadi peningkatan pertumbuhan dibandingkan kontrol, perbedaannya tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut belum mencukupi untuk memicu respons fisiologis optimal pada planlet *Nepenthes* sp. (George et al., 2008).

Analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa seluruh parameter pertumbuhan yang diamati memiliki perbedaan yang signifikan antarperlakuan ($p < 0,05$). Uji lanjutan Tukey mengonfirmasi bahwa perlakuan 75 ppm merupakan konsentrasi yang secara konsisten berbeda nyata dibandingkan

perlakuan lain maupun kontrol. Temuan ini memperkuat hipotesis bahwa fraksi aktif ekstrak kecambah *V. radiata* L. bekerja sebagai bioregulator efektif pada konsentrasi menengah (Hussain et al., 2019). Keseimbangan antara stimulasi pertumbuhan dan toleransi fisiologis tanaman tampaknya tercapai pada konsentrasi ini, sedangkan konsentrasi yang terlalu rendah atau terlalu tinggi menghasilkan respons yang kurang optimal (Davies, 2010).

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi aktif ekstrak kecambah *Vigna radiata* L. berpotensi besar sebagai bioregulator alami untuk meningkatkan pertumbuhan planlet *Nepenthes* sp. dalam kultur in vitro (George et al., 2008). Penggunaan bioregulator nabati ini menawarkan alternatif yang lebih ramah lingkungan, ekonomis, dan mudah diperoleh dibandingkan zat pengatur tumbuh sintetis (Thorpe, 2012). Temuan ini memiliki implikasi penting bagi pengembangan teknik perbanyakan dan konservasi tanaman karnivora yang memiliki laju pertumbuhan lambat dan sensitivitas tinggi terhadap perlakuan hormon (Clarke, 2001). Untuk penelitian lanjutan, diperlukan optimalisasi lebih lanjut terhadap konsentrasi fraksi aktif, karakterisasi senyawa bioaktif utama yang berperan, serta evaluasi stabilitas dan efektivitasnya pada tahap aklimatisasi (Hussain et al., 2019). Dengan demikian, pemanfaatan fraksi aktif kecambah *V. radiata* L. dapat dikembangkan sebagai komponen penting dalam protokol kultur jaringan *Nepenthes* yang berkelanjutan.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi aktif ekstrak kecambah *Vigna radiata* L. terbukti mampu bertindak sebagai bioregulator yang efektif dalam meningkatkan pertumbuhan planlet *Nepenthes* sp. pada kultur in vitro menggunakan media Murashige & Skoog medium. Konsentrasi 75 ppm memberikan hasil terbaik pada seluruh parameter pertumbuhan—tinggi planlet, jumlah daun, jumlah akar, dan panjang akar—dengan peningkatan signifikan dibandingkan kontrol. Efektivitas ini diduga berasal dari kandungan fitohormon alami, senyawa fenolik, serta peptida bioaktif dalam fraksi ekstrak yang mampu merangsang pembelahan dan diferensiasi sel secara optimal. Dengan demikian, fraksi aktif kecambah *Vigna radiata* L. berpotensi menjadi alternatif pengganti zat pengatur tumbuh sintetis untuk perbanyakan *Nepenthes* sp. secara in vitro, sekaligus mendukung upaya konservasi tanaman karnivora ini melalui teknik kultur jaringan yang lebih ramah lingkungan dan berbiaya rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan, serta kontribusi positif selama proses penelitian ini berlangsung. Segala bentuk dukungan, baik dalam bentuk diskusi ilmiah, penyediaan fasilitas umum, maupun motivasi yang diberikan, telah membantu terlaksananya penelitian ini hingga selesai. Penulis berharap hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya.

REFERENSI

- Bauer, U., Clemente, C. J., Renner, T., & Federle, W. (2015). Form follows function: Morphological diversification and alternative trapping strategies in carnivorous *Nepenthes* pitcher plants. *Journal of Evolutionary Biology*, 28(2), 281–294. <https://doi.org/10.1111/jeb.12585>
- Clarke, C. (2001). *Nepenthes of Sumatra and Peninsular Malaysia*. Natural History Publications (Borneo).
- Davies, P. J. (2010). *Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action!* (3rd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2686-7>
- FAO. (2022). *Biotechnology and sustainability in agriculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). Plant propagation by tissue culture (3rd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Springer.
- Hussain, A., Qarshi, I. A., Nazir, H., & Ullah, I. (2019). Plant tissue culture: Current status and opportunities. *Recent Advances in Plant In Vitro Culture*, 1–28. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88050>

- IUCN. (2023). *The IUCN Red List of Threatened Species*. International Union for Conservation of Nature.
- Khan, T., Abbasi, B. H., & Khan, M. A. (2020). Biotechnological approaches for conservation and sustainable utilization of medicinal plants. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 29(4), 667–681. <https://doi.org/10.1007/s13562-020-00555-9>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Salahuddin, M., Ahmad, A., & Khan, M. M. A. (2019). Biochemical changes during seed germination and sprouting of mung bean (*Vigna radiata* L.). *Journal of Food Science and Nutrition*, 7(2), 596–603.
- Thorpe, T. A. (2012). History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*, 37(2), 169–180. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0031-3>