

E-ISSN 2774-7832
Vol 45, No 2 (2022): October 2022

Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences

Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences

Vol 45, No 2 (2022): October 2022

Table of Contents

Effect of Garlic Extract on Liver Histopathology of BALB/c Mice with Nicotine Exposure

Widya Mutiara Karoline(1), Desy Armalina(2), Neni Susilaningsih(3), Hermawan Istiadi(4), Akhmad Ismail(5),

45-50

Peningkatan Akurasi Algoritma Support Vector Machine Menggunakan Dual-Tree Complex Wavelet Transform Pada Klasifikasi Citra Katarak dan Normal

Amara Febriyanti(1), Alamsyah Alamsyah(2),

51-58

Ketakteraturan Sisi Total Pada Graf Pohon Palem $C_r - Br, r$ dan Graf Pohon Palem $C_{r+1} - Br$

Muhammad Syihabuddin(1), Isnaini Rosyida(2),

59-68

Pemilihan Titik Knot Optimal Menggunakan Metode GCV Dalam Regresi Nonparametrik Spline Truncated

Fitri Kusunartutik(1), Nur Karomah Dwidayati(2),

69-76

Pengaruh Pemberian Elisitor Ekstrak Khamir pada Pertumbuhan Kultur Kalus Gembili dengan Penambahan ZPT 2,4-D dan Kinetin

Ananda Lutfiah(1), Noor Aini Habibah(2),

77-83

Effect of Garlic Extract on Liver Histopathology of BALB/c Mice with Nicotine Exposure

Widya Mutiara Karoline¹⁾, Desy Armalina²⁾, Neni Susilaningsih²⁾, Hermawan Istiadi³⁾, Akhmad Ismail^{2)*}

¹Undergraduate Student, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang

²Department of Anatomy and Histology, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang

³Department of Anatomical Pathology, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang

* Email : akhmadismaildr@yahoo.com

Diterima 6 Juli 2022

Disetujui 24 September 2022

Dipublikasikan 24 Oktober 2022

Abstract

Nicotine affects liver in the presence of free radicals. One of the antioxidants is allicin which is the most abundant organosulfur in garlic. The objective of this study is to determine the effect of garlic extract as an antioxidant on the liver histopathological features of BALB/c mice exposed to nicotine. This is an experimental study with with post-test only control group design. The research subject were 24 male BALB/c mice. The K- group was the healthy control. The K+ group was exposed to inhaled nicotine of 10 mg/kgBW. Groups P1 and P2 were exposed to 10 mg/kgBW inhaled nicotine and were given garlic extract 300 mg/kgBW and 500 mg/kgBW. Treatment was given for 14 days. Data were analyzed by Kruskal-Wallis test and considered significant if the p value <0.05 with 95% confidence interval. Liver degeneration was grouped into normal, parenchymatous degeneration, hydropic degeneration, and necrosis. The results in the following groups: K: 80%, 20%, 0%, 0%; K(-): 0%,0%,87%,13% ; P1 : 0%,60%,40%,0%; P2 : 0%,100%,0%,0%. There was a significant difference in the degree of degeneration between groups ($p < 0.001$). Garlic extract can reduce the degree of microscopic damage to the liver of BALB/c mice exposed to nicotine inhalation.

Key words: garlic, liver, nicotine, histopathology

Abstrak

Nikotin mempengaruhi hati dengan adanya radikal bebas. Allicin adalah salah satu antioksidan yang merupakan organosulfur yang paling banyak terdapat pada bawang putih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak bawang putih sebagai antioksidan terhadap gambaran histopatologi hati mencit BALB/c yang dipapar nikotin. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan rancangan post-test only control group design. Subjek penelitian adalah mencit BALB/c jantan sebanyak 24 ekor. Kelompok K- adalah kontrol yang sehat. Kelompok K+ terpapar nikotin inhalasi 10 mg/kgBB. Kelompok P1 dan P2 diberi nikotin inhalasi 10 mg/kgBB dan diberi ekstrak bawang putih 300 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Perlakuan diberikan selama 14 hari. Data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan dianggap signifikan jika p value < 0,05 dengan selang kepercayaan 95%. Degenerasi hati dikelompokkan menjadi normal, degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Hasil pada kelompok berikut: K: 80%, 20%, 0%, 0%; K(-): 0%,0%,87%,13% ; P1 : 0%,60%,40%,0%; P2 : 0%,100%,0%,0%. Terdapat perbedaan derajat degenerasi yang bermakna antar kelompok ($p < 0,001$). Ekstrak bawang putih dapat mengurangi tingkat kerusakan mikroskopis pada hati mencit BALB/c yang terpapar nikotin secara inhalasi.

Kata kunci: garlic, liver, nikotin, histopatologi

How to cite:

Karoline W.M., Armalina D., Susilaningsih N., Istiadi H., Akhmad Ismail A. (2022). Effect of garlic extract on liver histopathology of BALB/c mice with nicotine exposure. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Science*, 45(2), 45-50.

INTRODUCTION

Nicotine is one of the important substances in cigarettes, both conventional cigarettes and e-cigarettes, which gives a pleasant taste so that smokers are addicted. Due to the many health issues caused by conventional cigarettes, conventional cigarette users switch to electronic cigarettes which are considered safer. People think that switching to e-cigarettes can reduce the health risks that arise (Caponnetto *et al.*, 2013). From the results of previous studies, it is known that e-cigarette smoke only leaves traces of nicotine (Czogala *et al.*, 2014). This is certainly one of the advantages of e-cigarettes compared to conventional cigarettes.

Besides being believed to be safer than conventional cigarettes, e-cigarettes come with a more modern and stylish appearance. This certainly attracts attention so that e-cigarette users increase (Damayanti., 2016). In Indonesia, the prevalence of electronic smokers also continues to increase. Based on Global Adult Tobacco Survey in 2011, the prevalence of electronic smokers aged 10-18 years in Indonesia is 0.3%. Based on National Health Indicator Survey (Survei Indikator Kesehatan Nasional) in 2016, the prevalence of electronic smokers aged 10-18 years in Indonesia rose to 2%, and based on the 2018 Riskesdas it rose to 2.7% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018, 2018; Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, 2016; World Health Organization. Regional Office for South-East Asia, 2012). This increase in the prevalence of e-cigarettes certainly increases nicotine exposure for both users and others as passive smokers.

In e-cigarettes, nicotine is in liquid form and the nicotine product is in the form of a gas that the user will inhale. In 2014, the results of a study conducted by Callahan-Lyon *et al.* (2014) stated that there were variations in nicotine levels from 14.8 to 87.2 mg/ml in e-cigarette solutions (Callahan-Lyon, 2014). The existence of variations in nicotine levels in electronic cigarettes certainly needs to be a concern because too much nicotine will certainly affect the body. Nicotine will be metabolized by the cytochrome P450 (CYP) 2A6 enzyme in the liver to prevent the accumulation of these substances in the body (Delijewski *et al.*, 2019). In addition, nicotine isolate was shown in vitro to reduce NO availability due to oxidative stress (Chen *et al.*, 2019).

Based on previous research, it is known that exposure to e-cigarettes increases reactive oxygen species (ROS) (Shields *et al.*, 2017). The presence of these free radicals can cause oxidative stress so that cell and tissue damage can occur. This situation can be a factor in the occurrence of systemic disease or damage to vital organs, including the liver. Based on previous research, one of the consequences of nicotine exposure to the liver is fibrosis (Alexander *et al.*, 2018). Nicotine exposure to white rats at a dose of 1.5 mg/200g caused impaired liver function (Syahida, 2019). The liver plays an important role in metabolizing nicotine found in cigarettes so to protect liver function remains optimal due to free radical attack, the body needs antioxidants.

Antioxidants play an important role in neutralizing free radicals. One of the herbs that is easily found and believed to be an antioxidant is garlic. Garlic is widely used in cooking and the price is very affordable for all people, so the use of garlic extract as an antioxidant is one thing that can be applied in everyday life. Garlic contains many secondary metabolites that can be utilized. Allicin is the most abundant organosulfur in garlic which will provide a distinctive taste and aroma. This compound will appear when the garlic is cut or crushed. Allicin also plays a role in its antibacterial, antifungal, antioxidant, and anticancer (Gebreyohannes & Gebreyohannes, 2013). These antioxidants play a role in preventing cell damage due to oxidation of ROS that are formed due to nicotine exposure. Previous studies have stated that a dose of 300 mg/kgBW can cause an effect in experimental mice as an aphrodisiac (Maulita *et al.*, 2013). Another study stated that 500 mg/kgBW was able to cause anticancer effects in mice (Daniela, 2020). Based on these previous studies, the doses of 300 mg/kgBW and 500mg/kgBW was chosen because have been proven to be safe for mice.

Based on this background, conducting research on the effect of garlic extract as an antioxidant on the liver histopathological features of BALB/c mice exposed to nicotine is interesting.

METHODS

This study is an experimental study with a post-test only control group design. In this study, 24 male BALB/c mice with a body weight of 25-30 grams, aged 6-8 weeks, active and without defects were divided into four groups, each group consisting of 6 mice which were determined randomly. One hundred and ninety-three grams of garlic powder was extracted with 70% ethanol solvent for 3 x 24 hours while stirring. The extracted liquid is filtered so that the filtrate obtained can be collected and used using a cabinet dryer to obtain a thick extract. The healthy control group (K) is the group without

treatment. The negative control group (K-) was the group that was only exposed to inhaled nicotine of 10 mg/kgBW. The P1 group was the group that was exposed to inhaled nicotine 10 mg/kgBW and was given garlic extract at a dose of 300 mg/kgBW. The P2 group was the group that was exposed to 10 mg/kgBW inhaled nicotine and was given garlic extract at a dose of 500 mg/kgBW. P1 dan P2 group were given garlic extract in the morning and 30 minutes later given inhaled nicotine. The treatment was given for 14 days according to the group division after adaptation for 7 days.

Histopathological Examination of the Liver

After given treatment for 14 days, all mice were terminated by dislocating the cervical and their livers were taken to make histopathological preparations with HE staining. The preparations were read in five fields of view with a magnification of 400x. Based on that, each group had thirty observed fields of view. The assessment of the histopathological features of the liver was carried out based on the Manja Roenigk Histopathology Scoring system (Widigdo,2014).

Table 1. Manja Roenigk histopathology scoring system

Cell type	Score
Normal	1
Parenchymal degeneration	2
Hydrophic degeneration	3
Necrosis	4

Data Analysis

Data were analyzed by Kruskal-Wallis non-parametric test followed by Mann-Whitney test. The difference was considered significant if the p value <0.05 with 95% confidence interval.

Ethical Clearance

The research has requested ethical clearance from the Health Research Ethics Commission (KEPK) of the Faculty of Medicine, Diponegoro University with ethical clearance number 52/EC/H/FK-UNDIP/V/2021

RESULTS AND DISCUSSION

During the study, there were no samples that dropped out. Data on the percentage of liver damage for each group can be seen in Table 2. Histopathological description of the liver of BALB/c mice at 400x magnification is presented in the following figures 1.

The results of the normality test of the percentage of liver damage distribution using the Saphiro-Wilk test showed that the data was not normally distributed with a significance value of less than 0.05. Furthermore, the hypothesis was tested using the Kruskal Wallis test and found a significant difference in the degree of degeneration between groups with a significance value of less than 0.05, namely <0.001. The test was continued with Mann-Whitney to assess whether there was a difference between the two groups. Based on the Mann-Whitney test, the results showed that there were significant differences between groups K and K (-) (<0.001), K and P1 (<0.001), K and P2 (<0.001), K(-) with P1 (<0.001), K(-) with P2 (<0.001), and P1 to P2 (<0.001).

Tabel 2. Percentage of liver damage for each group (30 fields of view for each group)

Group	Cell Type			
	Normal	Parenchymal degeneration	Hydrophic degeneration	Necrosis
K	24 (80%)	6 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
K -	0 (0%)	0 (0%)	26 (86.66%)	4 (13.33%)
P 1	0 (0%)	18 (60%)	12 (40%)	0 (0%)
P 2	0 (0%)	30 (100%)	0 (0%)	0 (0%)

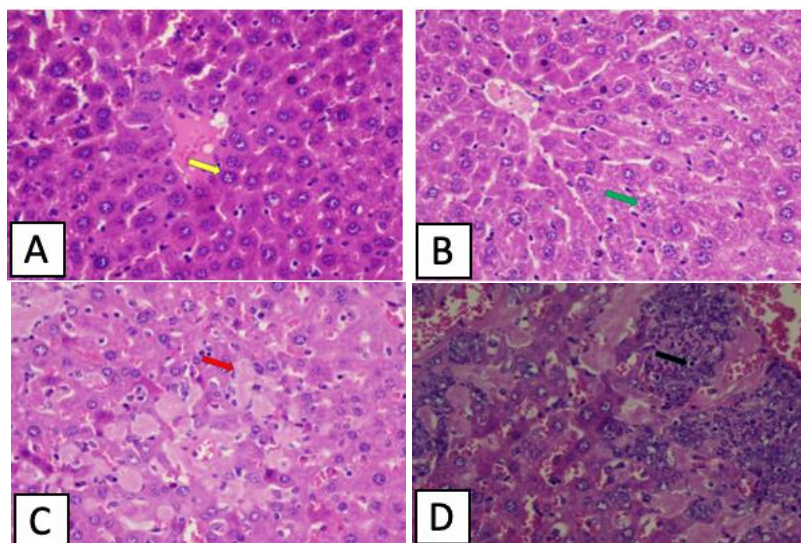


Figure 1. Histopathology features using 400x magnification of normal hepatocytes (A), parenchymal degeneration of hepatocyte (B), hydropic degeneration of hepatocyte (C), necrosis of hepatocyte (D). At 400x magnification, normal liver cells (yellow arrow) are polygonal in shape with homogeneous red cytoplasm and well-defined cell walls. Parenchymal degeneration hepatocytes are accompanied by cloudy and granular cytoplasm (green arrow). The liver cells that are hydropic degenerated (red arrow) are swollen have vacuoles. Necrotic liver cells were seen (black arrow) where the cells appeared to have nuclear changes, lost chromatin, and were dark in color. In this field of view it can also be seen that the liver cells are replaced by inflammatory cells.

Tabel 3. Mann-Whitney test

Group	K	K-	P1	P 2
K	-			
K-	<0.001*	-		
P1	<0.001*	<0.001*	-	
P2	<0.001*	<0.001*	<0.001*	-

*: significant

The results showed that garlic extract had the potential as a hepatoprotector in BALB/C mice exposed to inhaled nicotine. The liver is the center of metabolic disposition of foreign materials that enter the body. One of the foreign substances that can affect the liver is nicotine. Nicotine will increase ROS and cause oxidative stress. Most of the nicotine is metabolized by the liver where there is a role for cytochrome P-450 2A6 (CYP2A6) to catalyze nicotine (Widigdo, 2014). CYP2A6 protein is mostly found in the liver where this protein is different from other liver CYP proteins because CYP2A6 protein only plays a role in the metabolism of some drugs. The two most relevant substrates for CYP2A6 are coumarin and nicotine where 80% of the nicotine dose is eliminated by this protein (Lingga, 2014). The administration of garlic extract containing allicin as organosulfur components that acts as an antioxidant protecting the liver from the effects of free radicals due to nicotine exposure (Untari, 2010).

The healthy control group was the group that was only given standard feed without any administration of garlic extract or nicotine. In observations with 400x magnification for the negative control group (K), it was found that most of the hepatocytes were still in normal condition, namely 80% of the 30 observation fields. Meanwhile, in 20% of the other visual fields, minor damage was found which was parenchymatous degeneration. It was found that there was minor damage to the six visual fields observed where this damage could occur due to stress factors or liver cells that had been damaged prior to the study. The occurrence of liver damage in mice in the healthy control group was probably due to the use of mice that were not Specific Pathogen Free (SPF) mice. This is in accordance

with previous research that the healthy control group mice also suffered liver damage (Prasetyo *et al.*, 2019).

Based on observations using 400x magnification for the negative control group (K-), it was found that most hepatocytes experienced hydropic degeneration in 87% of the 30 visual fields observed. Meanwhile, in 13% of the other visual fields, necrosis was found. This happened because the K(-) group was not given antioxidants, resulting in an imbalance between oxidants and antioxidants. This severe damage is caused by the presence of exogenous free radicals, namely cigarette smoke and endogenous free radicals due to the metabolism of nicotine (Shang *et al.*, 2019). These free radicals will trigger the formation of lipid peroxidation and affect DNA and membrane proteins resulting in cell damage (Shang *et al.*, 2019). This is in accordance with previous research that exposure to inhaled nicotine can have an effect on the liver (Alexander *et al.*, 2018; Syahida, 2019).

Microscopic observation of the first treatment group (P1) showed that most of the hepatocytes experienced parenchymatous degeneration in 60% of the 30 visual fields observed. Meanwhile, in the other 40% of the field of view hydropic degeneration was found. In this first treatment group, no necrosis was found. In the P1 group, mild to severe damage was found. Garlic which acts as a hepatoprotector will affect the production of glutathione which protects cells from free radicals. Previous research has also stated that garlic can improve the stability of hepatocyte cell membranes (Kumar *et al.*, 2013). The difference in the degree of degeneration in the P1 group can be influenced by genetic factors so that there are differences in nicotine metabolism (Raunio & Rahnasto-Rilla, 2012).

The results of microscopic observation of the liver using 400x magnification in the second treatment group (P2), found moderate damage which was parenchymatous degeneration in the entire observed field of view. In this second treatment group, no moderate-severe damage was found, namely hydropic degeneration and necrosis. This shows that garlic extract at a dose of 500 mg/kgBW is able to prevent severe damage due to nicotine exposure but unable to maintain normal cells. Garlic extract at a dose of 500 mg/kgBW is the optimal dose in this study. This is in accordance with previous studies which showed that garlic extract was able to accelerate the regeneration of hepatocytes so that no further damage occurred (Harsa, 2020).

CONCLUSION

There are differences in the microscopic appearance of the liver of BALB/c mice in the treatment group exposed to nicotine and given garlic extract (*Allium sativum*) at a dose of 300 mg/kgBW and 500 mg/kgBW with the control group. Also, there are differences in the microscopic appearance of the liver of BALB/C mice between treatment groups with different doses.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Department of Anatomy and Histology, Faculty of Medicine, Diponegoro University. This research funding is sourced from the first author's parents.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no competing interests.

REFERENCES

- Alexander, C. E. L., Drummond, C. A., Hepokoski, M., Mathew, D., Moshensky, A., Willeford, A., Das, S., Singh, P., Yong, Z., Lee, J. H., Vega, K., Du, A., Shin, J., Javier, C., Tian, J., Brown, J. H., & Breen, E. C. (2018). Chronic inhalation of e-cigarette vapor containing nicotine disrupts airway barrier function and induces systemic inflammation and multiorgan fibrosis in mice. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 314(6), R834–R847. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00270.2017>
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018. (2018). *Laporan hasil riset kesehatan dasar (Riskesdas) Indonesia 2018*. http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf
- Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. (2016). *Survei Indikator Kesehatan Nasional*. <https://labmandat.litbang.kemkes.go.id/riset-badan-litbangkes/menu-riskesnas/menu-rikus/422-sirk-2016>
- Callahan-Lyon, P. (2014). Electronic cigarettes: Human health effects. *Tobacco Control*, 23(SUPPL. 2).

- <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2013-051470>
- Caponnetto, P., Campagna, D., Cibella, F., Morjaria, J. B., Caruso, M., Russo, C., & Polosa, R. (2013). Efficiency and Safety of an eElectronic cigAreTte (ECLAT) as Tobacco Cigarettes Substitute: A Prospective 12-Month Randomized Control Design Study. *PLoS ONE*, 8(6), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066317>
- Chen, X., Wang, K., Cederbaum, A. I., & Lu, Y. (2019). Suppressed hepatocyte proliferation via a ROS-HNE-P21 pathway is associated with nicotine- and cotinine-enhanced alcoholic fatty liver in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 512(1), 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.03.021>
- Czogala, J., Goniewicz, M. L., Fidelus, B., Zielinska-Danch, W., Travers, M. J., & Sobczak, A. (2014). Secondhand exposure to vapors from electronic cigarettes. *Nicotine and Tobacco Research*, 16(6), 655–662. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntt203>
- Damayanti A. (2016). Penggunaan Rokok Elektronik di Komunitas Personal Vaporizer Surabaya. *J FKM Univ Airlangga*. <https://doi.org/10.20473/jbe.v4i2.2016.250>
- Daniela C, B. D. (2020). Efektivitas Senyawa Sulfida Pada Bawang Putih Terhadap Resiko Kanker Paru-Paru. *XVII(2)*, 170–177.
- Delijewski M, Bartoń A, Delijewska P, Balwierz R, Jakubiak G, Kośmider L, P. N. (2019). Genetically determined metabolism of nicotine and its clinical significance. *Acta Biochim Pol*.
- Gebreyohannes, G., & Gebreyohannes, M. (2013). Medicinal values of garlic: A review. *International Journal*, 5(9), 401–408. <https://doi.org/10.5897/IJMMS2013.0960>
- Harsa, M. S. (2020). Efek pemberian ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) sebagai hepatoprotektor pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi parasetamol dosis hepatotoksik. *Intisari Sains Medis*, 11(1), 118. <https://doi.org/10.15562/ism.v11i1.666>
- Kumar, S., Kumar, A., & Chandra, A. (2013). Alteration in serum biochemical parameters due to garlic (*Allium sativum*) supplementation in broilers diets. *African Journal of Biotechnology*, 12(29), 4691–4698. <https://doi.org/10.5897/ajb12.2724>
- Lingga, L. (2014). *Terapi Bawang Putih untuk Kesehatan*. Elex Media Komputindo.
- Maulita, I., Rahimah, S., Umar, A. H., & Allyah, A. P. (2013). Uji Efek Afrosidiaka dari Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) pada Hewan Coba Mencit (*Mus musculus*). *Akademi Farmasi Kebangsaan*, 2, 140–144.
- Prasetyo, Y. E., Merdana, I. M., Kardena, I. M., & Sudira, I. W. (2019). Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Yang Diberikan Ekstrak Etanol Sarang Semut. *Buletin Veteriner Udayana*, 21, 44. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2019.v11.i01.p08>
- Raunio, H., & Rahnasto-Rilla, M. (2012). CYP2A6: Genetics, structure, regulation, and function. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 27(2), 73–88. <https://doi.org/10.1515/dmdi-2012-0001>
- Shang, A., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Tang, G. Y., Corke, H., Mavumengwana, V., & Li, H. Bin. (2019). Bioactive compounds and biological functions of garlic (*allium sativum* L.). *Foods*, 8(7), 1–31. <https://doi.org/10.3390/foods8070246>
- Shields, P. G., Berman, M., Brasky, T. M., Freudenheim, J. L., Mathe, E., McElroy, J. P., Song, M. A., & Wewers, M. D. (2017). A review of pulmonary toxicity of electronic cigarettes in the context of smoking: A focus on inflammation. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 26(8), 1175–1191. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-17-0358>
- Syahida, R. Y. (2019). *Pengaruh Pemberian Asap Rokok Elektrik Vapor Terhadap Kadar Sgpt Dan Sgot Hepar Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus)*. Sarjana thesis, Universitas Brawijaya.
- Untari, I. (2010). Bawang Putih Sebagai Obat Paling Mujarab Bagi Kesehatan. Surakarta: Muhammadiyah Surakarta. *Ilmu Keperawatan*, 7.
- Widigdo, A. P. (2014). *Pengaruh Pemberian Dosis Bertingkat Madu Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar Pada Mencit Strain Balb/C Jantan Yang Diberi Paparan Asap Rokok*.
- World Health Organization. Regional Office for South-East Asia. (2012). *Global adult tobacco survey: Indonesia report 2011*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/205137>

Peningkatan Akurasi Algoritma *Support Vector Machine* Menggunakan *Dual-Tree Complex Wavelet Transform* Pada Klasifikasi Citra Katarak dan Normal

Amara Febriyanti¹, Alamsyah²

^{1,2}Jurusan Teknik Informatika, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229

*E-mail: ¹amarafebriyanti@students.unnes.ac.id, ²alamsyah@mail.unnes.ac.id

Diterima 2 Juli 2022

Disetujui 15 September 2022

Dipublikasikan 24 Oktober 2022

Abstrak

Penyakit mata katarak adalah salah satu penyebab utama gangguan penglihatan dan kebutaan di dunia. Penyakit katarak dapat diidentifikasi melalui citra medis untuk klasifikasi atau diagnosis gangguan pada mata. Pada penelitian ini, dilakukan *cropping* citra menggunakan ROI (*Region Of Interest*) dengan operasi morfologi pada citra mata pada tahap *pre-processing*. Pemilihan ROI di pupil mata karena bagian ini mempresentasikan daerah katarak pada mata sekaligus meningkatkan hasil ekstraksi fitur menggunakan operasi morfologi. Adapun metode klasifikasi yang digunakan adalah algoritma *Support Vector Machine*. Pada tahap klasifikasi, sistem akan menerima masukan berupa citra asli. Citra asli tersebut dilanjutkan dengan proses *pre-processing* dan ekstraksi fitur dengan operasi morfologi dan ROI. Selanjutnya, dilakukan proses peningkatan kualitas citra menggunakan *Dual-Tree Complex Wavelet Transform* (DTCWT). Hasil DTCWT tersebut, kemudian mengubah matriks menjadi koefisien wavelet serta dihitung mean dan standar deviasi untuk setiap matriks. Hasil koefisien tersebut dijadikan sebagai input pada *Support Vector Machine*. Dari perhitungan akurasi klasifikasi citra katarak dan normal menggunakan SVM sebelum ditambah DTCWT menghasilkan akurasi 91,66% sedangkan klasifikasi citra katarak dan normal menggunakan SVM ditambah peningkatan kualitas citra DTCWT menghasilkan akurasi 96,16%.

Kata Kunci: *Image Processing*, *Support Vector Machine*, DTCWT

Abstract

Cataract is one of the leading causes of visual impairment and blindness in the world. Cataract disease can be identified through medical images for classification or diagnosis of eye disorders. In this study, image cropping was performed using ROI (Region Of Interest) with morphological operations on eye images at the pre-processing stage. The choice of ROI in the pupil of the eye because this section represents the cataract area in the eye while improving the results of feature extraction using morphological surgery. The choice of ROI in the pupil of the eye because this section represents the cataract area in the eye while improving the results of feature extraction using morphological surgery. The classification method used is the Support Vector Machine algorithm. At the classification stage, the system will receive input in the form of the original image. The original image is followed by pre-processing and feature extraction with morphological operations and Region Of Interest. Furthermore, the image is continued with the process of improving image quality using Dual-Tree Complex Wavelet Transform. The results of the DTCWT, then convert the matrix into wavelet coefficients and calculate the mean and standard deviation for each matrix. Then the results of these coefficients are used as input to the Support Vector Machine. From the calculation of the accuracy of cataract and normal image classification using SVM before adding DTCWT it resulted in an accuracy of 91.66% while the classification of cataract and normal images using SVM plus increasing DTCWT image quality resulted in an accuracy of 96.16%.

Keyword: *Image Processing*, *Support Vector Machine*, DTCWT

How to cite:

Febriyanti A., & Alamsyah. (2022). Peningkatan akurasi algoritma support vector machine menggunakan dual-tree complex wavelet transform pada klasifikasi citra katarak dan normal. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 45(2), 51-58.

PENDAHULUAN

Digital Image Processing (DIP) adalah disiplin ilmu yang berfokus pada teknologi pemrosesan gambar. Gambar yang dijelaskan di sini adalah foto diam (gambar) atau foto bergerak (dari *webcam*). Sementara citra ataupun *image*, sebutan lain untuk gambar, selaku salah satu komponen multimedia yang berfungsi penting sebagai wujud data visual. Citra dari sudut pandang matematis, ialah fungsi menerus ataupun *continue* dari intensitas sinar pada bidang 2 dimensi $f(x, y)$, dengan x serta y yakni koordinat spasial serta amplitude f pada pendamping koordinat (x, y) yang diartikan sebagai intensitas ataupun derajat keabuan citra pada titik tersebut.

Klasifikasi ialah teknik yang dapat digunakan untuk memprediksi data atau menggambarkan kelas data. Algoritma klasifikasi dapat digunakan untuk membantu para ahli medis dalam mendiagnosis suatu penyakit (Alamsyah & Fadila, 2021). *Support vector machine* (SVM) ialah salah satu metode klasifikasi pembelajaran terbimbing atau disebut *supervised learning*. SVM merupakan entitas matematika, algoritma untuk memaksimalkan fungsi matematika tertentu untuk kumpulan data yang diberikan (Noble, 2006). Konsep SVM dimulai dengan masalah klasifikasi dua kelas yang membutuhkan set pelatihan positif dan negatif (Larasati *et al.*, 2019). SVM akan mencoba untuk mendapatkan *hyperplane* (separator) terbaik untuk memisahkan dua kelas dan memaksimalkan margin dari dua kelas. Margin ialah jarak antara *hyperplane* dan mode terdekat untuk setiap kelas. Hal itu disebut *support vector*.

Dalam pemrosesan sinyal citra digital, transformasi *wavelet* sangat bereputasi untuk pemrosesan sinyal. Banyak riset menggunakan transformasi *wavelet* untuk menganalisis dan merekonstruksi sinyal. Salah satunya yakni menggunakan *dual-tree* pada filter *wavelet* untuk menghasilkan koefisien *wavelet* kompleks serta bagian real dan imajiner (Gunara *et al.*, 2007). Transformasi ini disebut dengan *Dual-Tree Complex Wavelet Transform* (DTCWT).

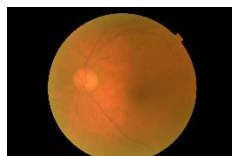
Salah satu hasil pengembangan aplikasi pengolahan citra yakni klasifikasi katarak dan mata normal. Katarak ialah kondisi medis yang ditandai dengan kekeruhan pada lensa mata yang mengakibatkan kebutaan. Katarak bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Dari jumlah tersebut, faktor penuaanlah yang paling umum. Terkait dengan masalah ini, ada banyak penelitian yang ditujukan untuk analisis klinis, representasi visual dari berbagai fungsi organ dan jaringan, dan pemrosesan citra digital untuk intervensi medis. Sebagai tanggapan, para peneliti sekarang juga menggunakan sejumlah besar gambar digital untuk mengklasifikasikan atau mendiagnosis penyakit mata.

Berdasarkan uraian permasalahan diatas, fokus dari penelitian ini adalah peningkatan akurasi pada citra mata katarak dan normal. Pada tahap *pre-processing* citra dilakukan konversi ke *grayscale* kemudian dilanjutkan proses operasi morfologi sebagai ekstraksi fitur citra dan ROI. Selanjutnya tahap peningkatan kualitas citra menggunakan DTCWT (Sharma & Sungheetha, 2018). Setelah proses DTCWT, dilakukan klasifikasi dan peningkatan akurasi menggunakan SVM.

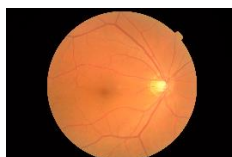
METODE

Dataset

Dataset yang dipakai dalam penelitian ini adalah “Cataract Dataset” yang diperoleh dari Kaggle dan bisa diunduh di <https://www.kaggle.com/datasets/jr2ngb/cataractdataset>. Dataset yang terkumpul sebanyak 400 data citra, dimana 300 merupakan data citra normal dan 100 data sisanya merupakan data citra katarak. File dalam format “PNG”. Beberapa *sample* data yang digunakan ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



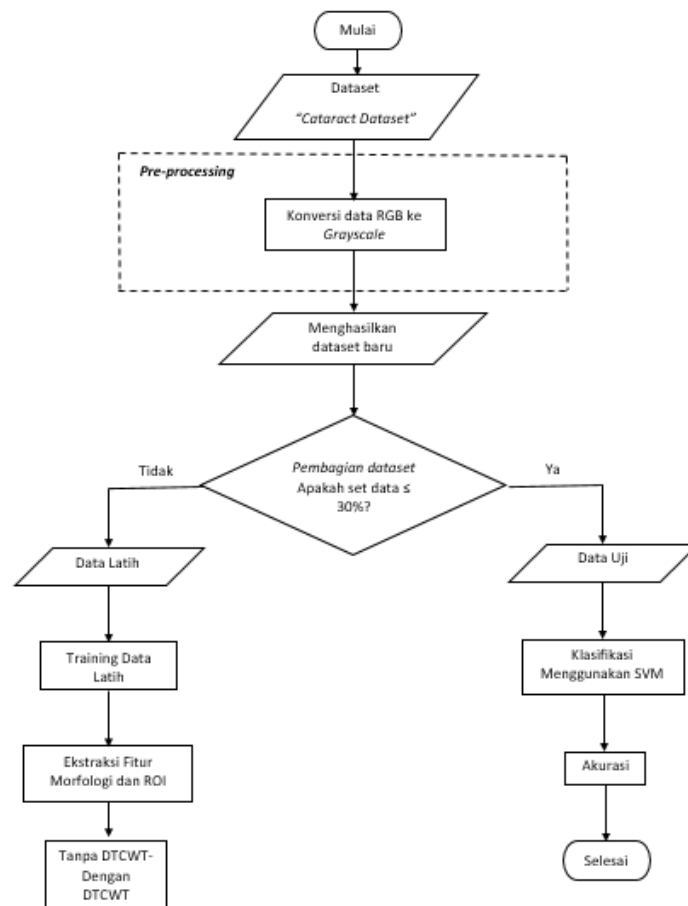
Gambar 1. Katarak



Gambar 2. Normal

Tahap Eksperimen

Pada tahap ini menggunakan DTCWT (*Dual-Tree Complex Wavelet Transform*) sebagai peningkatan kualitas citra dan *Support Vector Machine* (SVM) sebagai pengklasifikasi. Pada penelitian ini, konversi citra ke *grayscale* pada *pre-processing*. Selanjutnya dilakukan ekstraksi fitur citra menggunakan operasi morfologi dan *cropping* citra menggunakan ROI (*Region of Interest*). Adapun metode klasifikasi yang dipakai adalah algoritma SVM. Pada tahap klasifikasi, sistem akan menerima masukan berupa citra asli. Citra asli tersebut dilanjutkan dengan proses *pre-processing* dan ekstraksi fitur dengan operasi morfologi dan ROI, dilanjutkan dengan proses peningkatan kualitas citra menggunakan DTCWT yang sama dengan tahap pelatihan. Hasil DTCWT tersebut, kemudian mengubah matriks menjadi koefisien *wavelet* serta dihitung mean dan standar deviasi untuk setiap matriks. Kemudian hasil koefisien tersebut dijadikan sebagai input pada SVM yang telah di-*training* sebelumnya. Dari hasil klasifikasi selanjutnya diuji apakah terjadi peningkatan akurasi antara klasifikasi citra katarak dan normal dengan DTCWT. Flowchart yang digunakan pada metode ini ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. *Flowchart* sistem klasifikasi citra katarak dan normal

Operasi Morfologi

Operasi morfologi yakni seperangkat fungsi matematika yang dikenal sebagai filter nonlinier dalam pemrosesan gambar yang memproses gambar berdasarkan morfologi atau bentuknya. Filter nonlinier ini bergantung pada posisi relatif piksel, karena piksel tetangga mengubah nilai piksel. Tujuan dari operasi morfologi yakni untuk mendapatkan data tentang wujud suatu citra dengan menyesuaikan wujud serta dimensi dari struktur elemen-elemen.

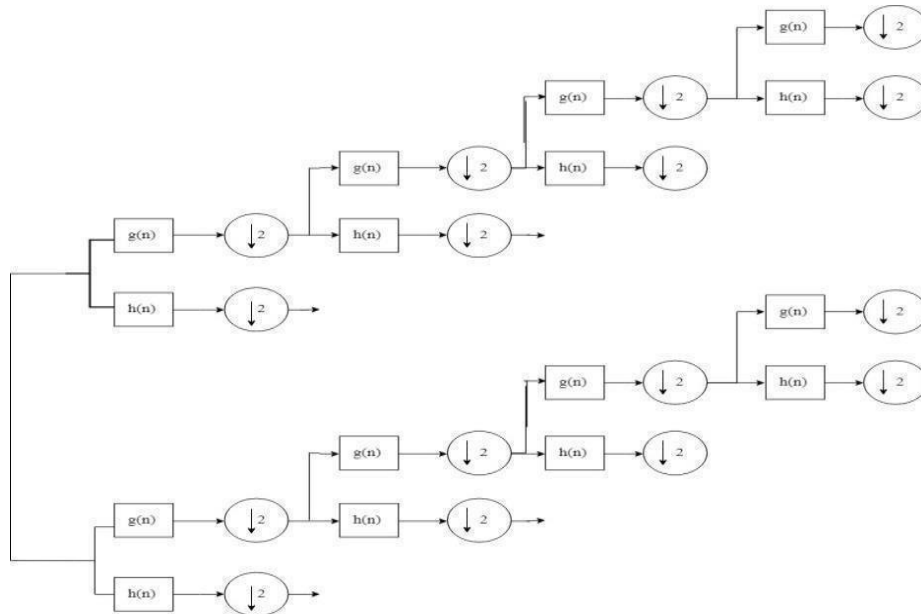
Region Of Interest

ROI (*Region of Interest*) ialah proses segmentasi citra dalam DIP (*Digital Image Processing*), yang bertujuan untuk memisahkan atau menghilangkan latar belakang guna menganalisis latar depan atau

objek yang diamati.

Dual-Tree Complex Wavelet transform

Transformasi *wavelet* dua dimensi (2D) diprediksi menjadi versi lanjutan dari transformasi *wavelet* satu dimensi (1D). Untuk mencapai ini, awalnya transformasi satu dimensi diterapkan disepanjang setiap baris dan kolom pada setiap tingkat dekomposisi struktural (Lavanya *et al.*, 2020). Gambar 4. Merupakan tahap dekomposisi citra DTCWT.



Gambar 4. Dekomposisi DTCWT

Support Vector Machine

Support Vector Machine (SVM) ialah algoritma pembelajaran mesin untuk klasifikasi biner (Kumari & Jagadev, 2017). Konsep SVM dimulai dengan masalah klasifikasi dua kelas yang membutuhkan set pelatihan positif dan negatif. SVM akan mencoba untuk mendapatkan *hyperplane* (separator) terbaik untuk memisahkan dua kelas dan memaksimalkan margin dari dua kelas. Margin ialah jarak antara *hyperplane* dan mode terdekat untuk setiap kelas. Hal itu disebut *support vector*.

Sequential training SVM yakni metode langsung yang ditemukan oleh Vijayakumar untuk menemukan *hyperlane* yang optimal. Berikut ini yakni langkah-langkah SVM *Sequential Training*:

1. Inisialisasi nilai $\alpha_i = 0$. Kemudian menghitung matriks *hessian* dengan Persamaan 1

$$D_{ij} = y_i y_j (K(x_i, x_j) + \lambda 2) \tag{1}$$

Dengan $i, j = 1, 2, 3, \dots, n$.

Keterangan:

D_{ij} = matriks hessian

(x_i, x_j) = fungsi kernel yang digunakan

x_i = data ke- i

x_j = data ke- j

y_i = kelas data ke- i

y_j = kelas data ke- j

2. Perhitungan a , b , dan c , hingga $i = n$.
 - a. Perhitungan nilai E_i dengan Persamaan 2

$$E_i = \sum_{i=1}^n \alpha_i D_{ij} \tag{2}$$

- b. Perhitungan nilai $\delta \alpha_i$ pada Persamaan 3

$$\delta \alpha_i = \min \{ \max [\lambda (1 - E_i), -\alpha_i], C - \alpha_i \} \tag{3}$$

c. Perhitungan nilai α_i pada Persamaan 4

$$\alpha_i = \alpha_i + \delta\alpha_i \quad (4)$$

Keterangan :

E_i = nilai Error

α_i = nilai alpha ke- i

$\delta\alpha_i$ = nilai delta alpha

C = konstanta C

γ = konstanta gamma

3. Perulangan a , b , dan c hingga mencapai saat konvergen dengan syarat $\max(|\delta\alpha_i|) < s$ (epsilon) atau mencapai iterasi maksimum (*itermax*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sistem diimplementasikan dengan menggunakan perangkat lunak Matlab 2018b, dilakukan peningkatan kualitas citra pada DTCWT dan SVM untuk klasifikasi. Hasil penelitian yang didapatkan adalah operasi morfologi dan ROI, peningkatan kualitas citra DTCWT, serta klasifikasi SVM.

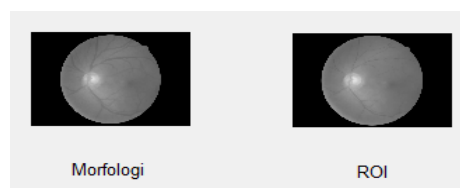
Operasi Morfologi dan ROI

Sebelum dilakukan klasifikasi, terlebih dahulu dilakukan ekstraksi fitur citra menggunakan operasi morfologi. Selanjutnya dilakukan *cropping* citra menggunakan ROI. ROI merupakan tahap citra yang diolah hanya pada daerah atau bagian tertentu dari citra. Pada bagian ROI memperjelas citra yang hanya akan diolah melalui proses '*regionprops*' yaitu memperjelas bagian dari morfologi yang didapat. Hasil dari proses ekstraksi fitur ini dapat dilihat pada Tabel 1, serta hasil dari citra operasi morfologi dan ROI dapat dilihat pada Gambar 5.

Tabel 1. Ekstraksi fitur

	<i>Stats</i>
<i>Area</i>	4478976
<i>Eccentricity</i>	0,7454
<i>Perimeter</i>	8462,9

Fungsi *Area* pada Tabel 1 digunakan untuk menghitung nilai skalar yang menentukan jumlah piksel aktual di wilayah citra tersebut. Selanjutnya perbandingan antara keliling dan lebar citra dilakukan dengan menggunakan fungsi *Perimeter*. Nilai *Eccentricity* merupakan nilai skalar yang menentukan eksentrisitas bentuk citra, yakni rasio jarak antara fokus bentuk citra dan jarak utamanya. Nilai *eccentricity* yakni antara 0 dan 1 sehingga yang didapat pada Tabel 1 nilai *eccentricity* tersebut yakni 0,7454. Sampel citra hasil operasi morfologi dan ROI disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Sampel hasil operasi morfologi dan ROI

Peningkatan Kualitas Citra *Dual-Tree Complex Wavelet Transform*

Proses *Dual-Tree Complex Wavelet Transform* ini bisa dilakukan untuk beberapa tahap. Adapun citra yang dipetakan dalam bentuk matriks tersebut yang digunakan selama proses DTCWT. Tabel 2 merupakan hasil dari proses *enhancement* dengan mengatur parameter positif 0,05, melakukan dekomposisi citra *recover* parameter, dan dekomposisi satu layer DTCWT. Fungsi *imfilter* digunakan untuk mengisi piksel-piksel citra diluar batas dengan mengasumsikan bahwa piksel-piksel tersebut ialah nol, yang dapat disebut sebagai bantalan nol. Ketika memfilter citra, bantalan nol dapat menghasilkan pita gelap disekitar tepi citra. Selanjutnya menggunakan metode padding batas alternatif untuk melakukan replikasi perbatasan dengan cara nilai setiap piksel diluar citra ditentukan

dengan mereplikasi nilai dari piksel perbatasan terdekat menggunakan argumen 'replicate'. I merupakan parameter positif yang bernilai 0,05. fungsi $V = \text{abs}(V - I * G)$ digunakan untuk mendapatkan nilai absolut untuk setiap elemen pada inputan. Dari proses peningkatan kualitas citra ini dengan menggunakan parameter positif 0,05 didapat nilai V yang ada pada Tabel 2.

Tabel 2. Sampel nilai V hasil proses *enhancement* dengan parameter positif 0,05

-0.00110647357841574	0.00485758228746978
-0.00117238685583525	0.00395377023031767
-0.00183317250366753	-0.000576448652488204
-0.000297338862600966	0.000675827066407599
-0.00111179165756637	0.00286582839108530
-0.000870375421698533	-0.000865908742328531
0.000264686258757377	0.000703766175671889

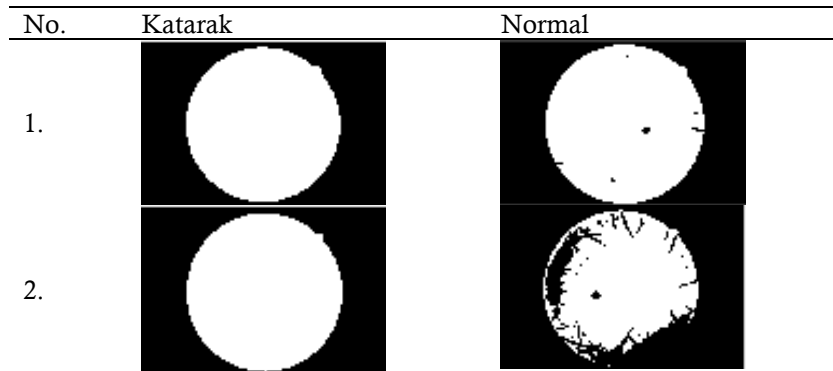
Setelah didapat nilai piksel dengan parameter positif 0,05, dilanjut dengan dekomposisi citra dan *recover* parameter. Satu set filter untuk tahap pertama pada dekomposisi citra menggunakan fungsi *Fsfarras.m* dimana fungsi ini menghasilkan nilai Faf dan Fsf dalam bentuk matriks yang akan digunakan pada tahap dekomposisi satu layer.

Tahap selanjutnya yaitu melakukan tahap dekomposisi citra satu layer atau tahap dekomposisi yang tersisa dengan DTCWT. Fungsi *dualfilt1* menyediakan filter analisis dan sintesis untuk tahap yang tersisa dari tahap filter yang sebelumnya. Dari dekomposisi ini, menghasilkan nilai keluaran seperti yang ada pada Tabel 3 yang nantinya akan digunakan untuk menghitung koefisien wavelet dan disimpan sebagai array sel w . Nilai V merupakan koefisien gelombang yang dihasilkan dari proses *image enhancement* menggunakan parameter positif 0,05 yang ada pada Tabel 2. Untuk $J=1$ merupakan jumlah tahapan dekomposisi. Nilai af dan sf merupakan filter sintesis pada tahap sebelumnya. Selanjutnya, nilai Faf dan Fsf ialah filter sintesis untuk tahap akhir. Tabel 3 merupakan beberapa sampel nilai keluaran dari tahap dekomposisi. Sampel citra katarak dan normal hasil dari *Dual-Tree Complex Wavelet Transform* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. *One layer decomposition dual-tree complex wavelet transform*

0.00114105162839939	0.000768082899874162	0.00173642056172134
+ 0.00225629078350190i	+ 0.00111147134624497i	+0.000762562229823796i
0.00112746052089723+	0.00108846766273694+	0.000128417549716955
0.000144282835062578i	0.000106139830105649i	+0.000925583330789705i
0.00126306962356271	0.00114465527287624+	0.000952657600283924
+ 0.00211633755681290i	0.00203663128247525i	+0.000744601238874020i
-9.79408033247936e-05	-0.000149237005574490	-0.000130567838253785
+ 5.61119678049762e05i	- 4.59443966024600e05i	+0.000181778790332964i
0.000250261772663391	0.00272615235865417	-0.000139758395070479
+ 6.25309458223724e05i	+ 0.00122173164524705i	- 8.94874541789620e-05i

Tabel 4. Sampel citra hasil DTCWT



Dari Tabel 4. terlihat bahwa hasil dari operasi morfologi ditambah *Dual-Tree Complex Wavelet Transform* memiliki hasil ekstraksi fitur bulat sempurna untuk mata katarak dan bentuk ciri khas mata untuk mata normal. Selanjutnya dari tahap DTCWT, dilakukan proses klasifikasi dengan *Support Vector Machine*.

Hasil Klasifikasi *Support Vector Machine*

Pengujian dilakukan dengan menguji gambar mata normal dan katarak memakai teknik SVM. Data uji yang dipakai yakni 55 data citra normal dan 5 data citra katarak dengan total data uji sebanyak 60 data. Hasil pengujian dari skenario berupa akurasi pola klasifikasi yang didapat dari data latih dan data uji. Hasil klasifikasi SVM tidak menggunakan DTCWT pada citra katarak dan normal mendapatkan akurasi 91,66%. Sedangkan akurasi menggunakan DTCWT pada citra katarak dan normal mendapat akurasi 96,16%, hal ini menandakan akurasi SVM lebih baik setelah melalui proses DTCWT. Pada sekitar tepian (sinyal step), DTCWT menghasilkan koefisien dengan magnituda yang berkaitan lebih mendekati tepian. DTCWT menghasilkan koefisien yang tetap pada sekitar singularitas.

Perbandingan Hasil Akurasi

Perbandingan hasil penelitian dengan penelitian sebelumnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan akurasi dengan penelitian sebelumnya

Peneliti	Classifier	Accuracy
Gifran et al. (2019)	SVM + DWT	80%
Munarto & Yudono (2019)	SVM	81%
Patwari (2011)	Digital Masks	94,96%
Wirawan & Soelistio (2017)	Histogram	88,47%
Vetova (2019)	DTCWT	77,15%
Penelitian ini	SVM+DTCWT	96,16%

Berdasarkan Tabel 5, hasil penelitian yang dilakukan oleh penulis lebih baik dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya.

SIMPULAN

Penelitian dilakukan dua pengujian yaitu klasifikasi citra katarak dan normal menggunakan SVM sebelum ditambah DTCWT dan klasifikasi citra katarak dan normal menggunakan SVM ditambah dengan DTCWT. Untuk klasifikasi citra katarak dan normal menggunakan SVM sebelum ditambah DTCWT menghasilkan akurasi 91,66% sedangkan klasifikasi citra katarak dan normal menggunakan SVM ditambah peningkatan kualitas citra DTCWT menghasilkan akurasi 96,16%. Hal ini menandakan klasifikasi citra katarak dan normal menggunakan SVM ditambah DTCWT menghasilkan akurasi yang lebih baik dibanding dengan klasifikasi SVM sebelum ditambah DTCWT.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah, A., & Fadila, T. (2021). Increased accuracy of prediction hepatitis disease using the application of principal component analysis on a support vector machine. *Journal of Physics: Conference Series*, 1968(1), 012016. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1968/1/012016>
- Gifran, N. A., Magdalena, R., & Fuadah, R. Y. N. (2019). Klasifikasi katarak menggunakan metode discrete wavelet transform dan support vector machine classification of cataract using discrete wavelet transform and support vector machine. *E-Proceeding of Engineering*, 6(2), 4170–4177
- Gunara, A., Tritosomoro, I. I., Raharjo, J., & Belakang, L. (2007). Analisa perbandingan reduksi noise pada citra antara discrete wavelet transform (DWT) dengan dual-tree complex wavelet transform (DTCWT). *Seminar Nasional Sistem Dan Informatika, November*, 130–136.
- Kumari, P., & Jagadev, N. (2017). Automatic cataract classification on retinal image using support vector machine. *International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering*, 7(6), 852–857. <https://doi.org/10.23956/ijarcsse/v7i6/0159>
- Larasati, U. I., Muslim, M. A., Arifudin, R., & Alamsyah, A. (2019). Improve the accuracy of support vector machine using chi square statistic and term frequency inverse document frequency on movie review sentiment analysis. *Scientific Journal of Informatics*, 6(1), 138–149. <https://doi.org/10.15294/sji.v6i1.14244>
- Lavanya, P. V., Narasimhulu, C. V., & Prasad, K. S. (2020). Denoising images by dual-tree complex wavelet transform combined with meta heuristic optimization algorithms. *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering*, 4(9), 2621–2627. <https://doi.org/10.35940/ijitee.e6837.029420>
- Munarto, R., & Yudono, M. A. S. (2019). Klasifikasi katarak objek optic disc citra fundus retina menggunakan support vector machine. *Jurnal Ilmiah Setrum*, 8(1), 84–95.
- Noble, W. S. (2006). What is a support vector machine. *Nature Biotechnology*, 24(12), 1565–1567. <https://doi.org/10.1038/nbt1206-1565>
- Patwari, A. U. (2011). *Detection , Categorization , and Assessment of Eye Cataracts Using Digital Image Processing*. June, 1–5.
- Sharma R, R., & Sungheetha, A. (2018). Dual tree complex wavelet transform, probabilistic neural network and fuzzy clustering based on medical images classification– a study. *International Journal of Advanced Engineering, Management and Science*, 4(12), 793–799. <https://doi.org/10.22161/ijaems.4.12.2>
- Vetova, S. (2019). Thyroid image classification algorithm using DT CWT. *AIP Conference Proceedings*, 2172(November). <https://doi.org/10.1063/1.5133484>
- Wirawan, V., & Soelistio, Y. E. (2017). Model klasifikasi mata katarak dan normal menggunakan histogram. *Jurnal ULTIMATICS*, 9(1), 33–36. <https://doi.org/10.31937/ti.v9i1.561>

Ketakteraturan Sisi Total Pada Graf Pohon Palem $C_r - B_{r,r}$ dan Graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$

Muhammad Syihabuddin* dan Isnaini Rosyida

Jurusan Matematika, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia
Gedung D7 Lt. 1, Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: muhammadsyihabuddin06@gmail.com

Diterima 6 Juni 2022

Disetujui 2 September 2022

Dipublikasikan 24 Oktober 2022

Abstrak

Diketahui graf G dengan himpunan titik tak kosong $V(G)$ dan himpunan sisi $E(G)$. Pelabelan f adalah suatu fungsi dari $V(G)$ gabungan $E(G)$ ke suatu himpunan bilangan bulat positif k dikatakan pelabelan- k total tak teratur sisi di G , jika setiap dua sisi berbeda x_1x_2 dan y_1y_2 di E memenuhi bobot sisi yang berbeda bobot e_1 tidak sama dengan bobot e_2 . Bobot sisi uv pada pelabelan total f adalah jumlah dari label sisi uv , label titik u dan label titik v . Nilai total ketakteraturan sisi dari graf G yaitu label terbesar minimum yang digunakan untuk melabeli graf G dengan pelabelan total tak teratur sisi, yang dinotasikan dengan $tes(G)$. Pada artikel ini, dilakukan penyelidikan nilai ketakteraturan sisi total (tes) pada Graf Pohon Palem $C_r - B_{r,r}$ dan Graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$. Hasil dari penelitian ini adalah nilai ketakteraturan sisi total dari Graf Pohon Palem $C_r - B_{r,r}$ adalah pembulatan ke atas dari $((3r + 2)/3)$ dan nilai ketakteraturan sisi total dari Graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$ adalah pembulatan ke atas dari $((3r + 3)/3)$.

Kata kunci: Pelabelan total tidak beraturan, pelabelan grafik, kekuatan ketidakteraturan, kekuatan ketidakteraturan sisi total, grafik pohon palem

Abstract

Given graph G with a non-empty set of vertices $V(G)$ and an edge set $E(G)$. A total labelling f is a function from $V(G)$ union $E(G)$ to a set of k positive integer is called an edge irregular total labelling in G , if every two different edges e_1 and e_2 on E have different weights, the weight (wt) of e_1 is not equal to the weight (wt) of e_2 . Weight of uv in total labelling f is equal to the sum of edge label uv , vertex label u and vertex label v . Total edge strength irregularity of graph G is the biggest minimum label used for labelling graph G with total edge irregularity labelling, denoted by $tes(G)$. In this paper, author investigate total edge irregularity strength (tes) in Palm Tree Graph $C_r - B_{r,r}$ and Palm Tree Graph $C_{r+1} - B_{r,r}$. The results of this research are total edge irregularity strength of palm tree graph $C_r - B_{r,r}$ is ceil of $((3r + 2)/3)$ and total edge irregularity strength of palm tree graph $C_{r+1} - B_{r,r}$ is ceil of $((3r + 3)/3)$.

Keywords: Irregular total labeling, graph labeling, irregularity strength, total edge irregularity strength, palm tree graphs

How to cite:

Syihabuddin, M., Rosyida, I. (2022). Ketakteraturan sisi total pada graf pohon palem $C_r - B_{r,r}$ dan graf pohon palem $C_{r+1} - B_{r,r}$. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Science*, 45(2), 59-68.

PENDAHULUAN

Banyaknya permasalahan dalam kehidupan sehari-hari mendorong manusia untuk mencari solusi yang secara tidak langsung permasalahan tersebut mendorong berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi. Matematika merupakan salah satu yang banyak memberikan alternatif dalam menyelesaikan permasalahan di segala bidang. Salah satu cabang matematika yang dapat menyelesaikan suatu permasalahan adalah teori graf (Clipperton, 2005). Teori graf banyak berperan dalam pengembangan matematika, baik dari sisi teori maupun terapannya. Graf G didefinisikan

sebagai pasangan himpunan $V(G)$ dan $E(G)$ di mana $V(G)$ menyatakan himpunan simpul dan $E(G)$ menyatakan himpunan sisi, teori graf memiliki banyak topic untuk dikaji sehingga sampai ini banyak sekali peneliti yang mengkaji bidang-bidang dalam teori graf.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pelabelan dapat dilakukan dengan cara mengaitkan jumlah label dengan elemen-elemen graf yaitu titik dan sisi. Jumlah label ini dikenal sebagai bobot (*weight*) dari elemen graf yang dinotasikan dengan w . Baca (2007) mengenalkan beberapa jenis pelabelan yaitu pelabelan- k total tak teratur sisi (*edge irregular total k -labeling*) dan pelabelan- k total tak teratur titik (*vertex irregular total k -labeling*) yang dalam prosesnya juga menghasilkan definisi baru yaitu nilai ketakteraturan sisi total (*total edge irregularity strength*). Misalkan $f: V(G) \cup E(G) \rightarrow \{1,2,3 \dots k\}$ merupakan pelabelan- k total, maka bobot sisi xy dari elemen-elemen graf $G (V(G), E(G))$ didefinisikan sebagai $w(xy) = f(x) + f(y)$. Pada penelitian terbarunya, Baca (2014) memperkenalkan pelabelan- k total tak teratur sisi (*edge irregular total k -labeling*) dan definisi nilai ketakteraturan sisi total (*total edge irregularity strength*). Suatu pelabelan- k total $f: V(G) \cup E(G) \rightarrow \{1,2,3 \dots k\}$ disebut pelabelan- k tak teratur sisi total (*edge irregular total k -labeling*) jika untuk setiap dua sisi berbeda e_1 dan e_2 berlaku $w(e_1) \neq w(e_2)$. Nilai k terkecil disebut kekuatan tak teratur sisi total (*total edge irregularity strength*).

Teorema 1

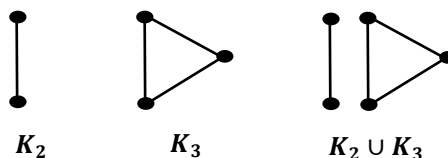
Jika $G(V(G), E(G))$ adalah suatu graf dengan himpunan titik tak kosong $V(G)$ dan himpunan sisi $E(G)$, maka

$$\lceil \frac{|E|+2}{3} \rceil \leq \text{tes}(G) \leq |E| \dots \dots \dots (1)$$

(Baca, 2007).

Setelah itu banyak peneliti yang mengkaji tentang nilai ketakteraturan sisi total dari beberapa graf. Seperti kajian tentang graf pohon (Ivančo & Jendrol, 2006), graf *caterpillar* (Imran *et al*, 2017), graf rantai kaktus dengan titik *pendant* (Rosyida & Indriati, 2019) dan banyak lagi penelitian tentang kekuatan tak teratur sisi. Pada tulisan ini akan dibahas tentang nilai ketakteraturan sisi total dari graf Pohon Palem $C_r - B_{r,r}$ dan nilai ketakteraturan sisi total dari graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$.

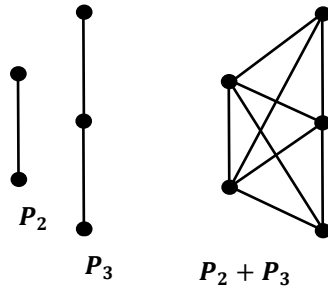
Gabungan dari dua graf sederhana $G_1 = (V_1, E_1)$ dan $G_2 = (V_2, E_2)$ adalah graf sederhana dengan himpunan titik $V_1 \cup V_2$ dan himpunan sisi $E_1 \cup E_2$. Gabungan dari G_1 dan G_2 dinotasikan dengan $G_1 \cup G_2$ (Rosen, 2013). Berikut akan diberikan gabungan graf lengkap K_2 dan K_3 . Graf gabungan graf lengkap K_2 dan K_3 disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Graf gabungan

Definisi 2. Join dari dua graf G_1 dan G_2 yang dinotasikan dengan G_1+G_2 , adalah graf yang terbentuk dari $V(G_1) \cup V(G_2)$ dan $E(G_1) \cup E(G_2) \cup \{\{u, v\} | u \in V(G_1), v \in V(G_2)\}$ (Chartrand & Oellermann, 1993).

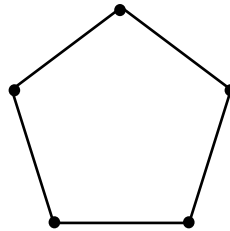
Definisi 3. Graf $P_2 + P_3$ ditunjukkan oleh Gambar 2 setiap titik dari masing-masing graf saling dihubungkan oleh sebuah sisi baru sehingga kedua graf terhubung



Gambar 2. Join pada graf

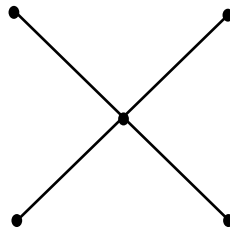
Definisi 4. Graf lintasan adalah graf sederhana yang berupa lintasan tunggal. Graf path dengan n titik dinotasikan dengan P_n . Graf P_n memiliki $n - 1$ sisi (Budayasa, 2007).

Definisi 5. Graf *cycle*, C_n , dengan panjang n adalah graf dengan n titik v_1, v_2, \dots, v_n dan sisi $v_1v_2, v_2v_3, \dots, v_{n-1}v_n, v_nv_1$ (Ringel & Hartsfield, 1994). Contoh graf *cycle* disajikan pada Gambar 3.



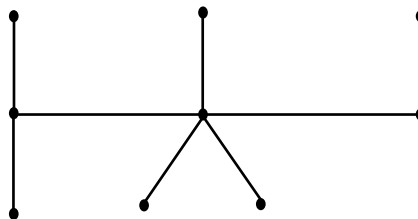
Gambar 3. Graf *cycle* C_5

Definisi 6. Graf bintang, S_n , adalah graf yang dibangun dari satu titik pusat dengan menambahkan sejumlah n pendants pada titik pusat tersebut. Graf bintang memiliki $n + 1$ titik dan n sisi (Choudum *et al.*, 1996). Contoh graf bintang disajikan pada Gambar 4.



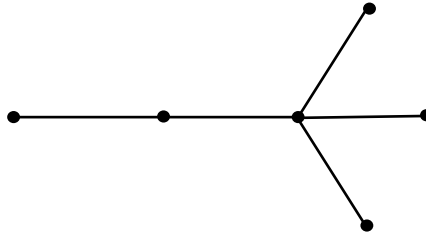
Gambar 4. Graf bintang S_4

Definisi 7. Graf caterpillar S_{n_1, n_2, \dots, n_r} adalah graf yang dibangun dari suatu lintasan disebut tulang belakang (*backbone*) P_n dengan menambahkan sejumlah daun (*pendant*) pada setiap titik pada lintasan, yaitu n_i pendants pada titik c_i dimana $n_i \geq 0, i = 1, 2, \dots, r$ (Sevenhot & Denny, 2010). Pada Gambar 5 diberikan contoh graf *caterpillar* untuk P_3 .



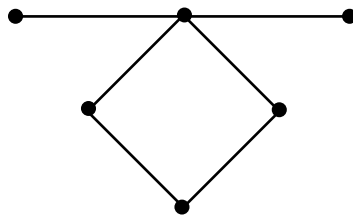
Gambar 5. Graf *caterpillar* $S_{(2,3,1)}$

Definisi 8. Graf sapu $B_{n,n}$ adalah kasus khusus dari graf *caterpillar* dimana sejumlah n titik pendent hanya dihubungkan pada satu titik ujung dari tulang belakang P_m (Sevenhot & Denny, 2010). Contoh graf sapu disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Graf sapu $B_{3,3}$

Definisi 9. Graf *unicycle* adalah graf yang tepat memuat satu lingkaran (Gallian, 2009). Contoh graf *unicycle* disajikan pada Gambar 7.

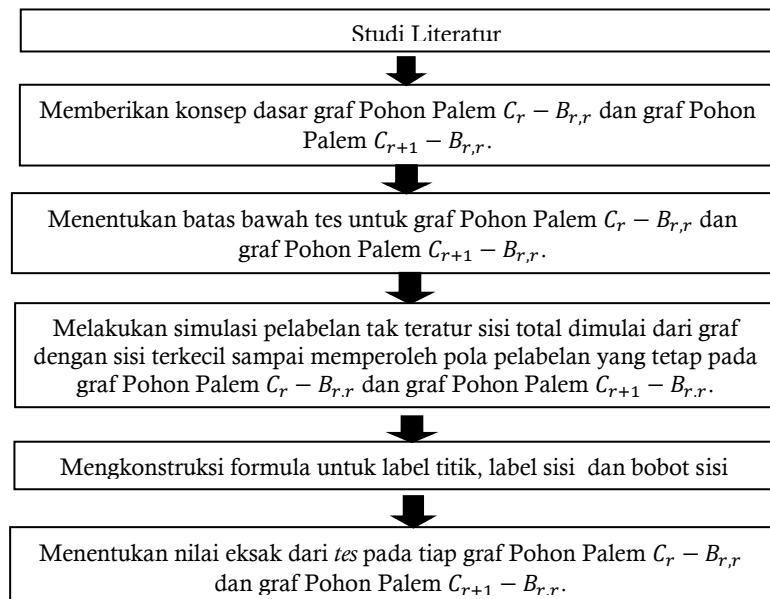


Gambar 7. Graf *unicycle* yang mengandung graf lingkaran C_3

Pada penelitian ini, diselidiki nilai ketakteraturan sisi total (*tes*) pada graf Pohon Palem $C_r - B_{r,r}$ dan graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$.

METODE

Pada tahap awal, dilakukan pencarian informasi dan menelaah beberapa sumber pustaka yang relevan, baik berupa buku, jurnal ilmiah, *ebook*, dsb. Dari kajian tersebut, ditemukan permasalahan umum yaitu pelabelan pada graf. Permasalahan ini masih terlalu luas, sehingga diperlukan rumusan masalah yang lebih spesifik. Setelah mengkaji beberapa sumber pustaka, selanjutnya dilakukan langkah-langkah pemecahan masalah seperti pada Gambar 8.

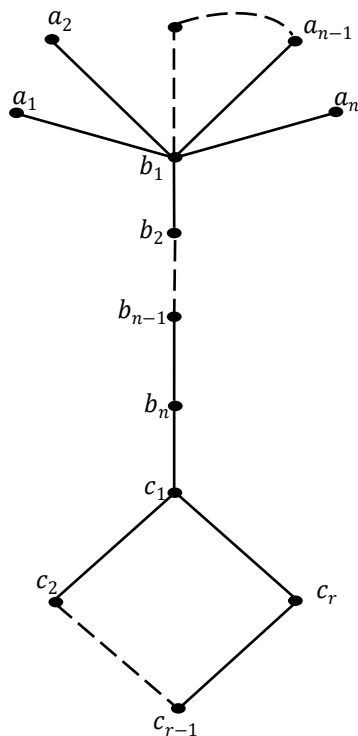


Gambar 8. Diagram metode penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Graf Pohon Palem $C_r - B_{r,r}$

Definisi 10. Graf pohon palem $C_r - B_{r,r}$ adalah gabungan graf sapu dan graf lingkaran dengan penambahan satu sisi yang menghubungkan titik ujung graf sapu $B_{r,r}$ dengan salah satu titik pada graf cycle C_r . Contoh Graf Pohon Palem disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Graf pohon palem $C_r - B_{r,r}$

Teorema 11.

Misalkan $C_r - B_{r,r}$, $r > 2$ adalah graf pohon palem dari gabungan graf sapu $B_{r,r}$ dan graf cycle C_r , maka $tes(C_r - B_{r,r}) = \left\lfloor \frac{3r+2}{3} \right\rfloor$.

Pada graf pohon palem $C_r - B_{r,r}$, ditunjukkan bahwa jumlah sisi pada graf bintang adalah r , jumlah sisi pada graf lintasan adalah r dan jumlah sisi pada graf cycle adalah r . Sehingga diperoleh jumlah sisi pada graf $C_r - B_{r,r}$ adalah $3r$.

Bukti. Berdasarkan Baca, diperoleh batas bawah $tes(C_r - B_{r,r}) \geq \left\lfloor \frac{|E(C_r - B_{r,r})| + 2}{3} \right\rfloor = \left\lfloor \frac{3r+2}{3} \right\rfloor$ untuk $r > 2$. Diberikan a_i ($i = 1, 2, \dots, r$) titik *pendant* pada graf bintang di graf Sapu $B_{r,r}$, b_i ($i = 1, 2, \dots, r$) titik pada graf lintasan di graf Sapu $B_{r,r}$ dengan b_1 merupakan titik ujung lintasan graf sapu $B_{r,r}$ yang juga merupakan titik pusat graf bintang dan c_i ($i = 1, 2, \dots, r$) titik pada graf cycle C_r dengan c_1 merupakan titik pada graf cycle C_r yang bertetangga dengan graf sapu $B_{r,r}$.

Perumuman formula label titik dan label sisi pada graf pohon palem $C_r - B_{r,r}$ menghasilkan pola yang sama pada semua graf. Jadi, sisi pada graf bintang, graf lintasan, dan graf cycle memiliki pola pelabelan. Pelabelan titik pada graf bintang dimulai dari titik a_1, a_2, \dots, a_r , pelabelan titik pada graf lintasan dimulai dari titik b_1, b_2, \dots, b_r dan pelabelan titik pada graf cycle dimulai dari titik c_1, c_2, \dots, c_r . Sedangkan pelabelan sisi pada graf bintang dimulai dari sisi $a_1 b_1, a_2 b_1, \dots, a_r b_1$, pelabelan sisi pada graf lintasan dimulai dari sisi $b_1 b_2, b_2 b_3, \dots, b_{r-1} b_r$ dan pelabelan sisi pada graf cycle dimulai dari titik $c_1 c_2, c_2 c_3, \dots, c_r c_1$.

Diperoleh batas atas $tes(C_r - B_{r,r}) \leq \left\lceil \frac{|E(C_r - B_{r,r})| + 2}{3} \right\rceil = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil$ dengan mengkonstruksi pelabelan- k total tak teratur sisi $f: V(G) \cup E(G) \rightarrow \{1, 2, \dots, k\}$ dengan $k = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil$ sebagai berikut:

$$f(a_i) = i, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$f(b_i) = i, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$f(c_i) = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$(a_i b_1) = 1, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$f(b_i b_{i+1}) = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil - i, \forall i = 1, 2, \dots, r-1$$

$$f(b_r c_1) = 1$$

$$f(c_i c_{i+1}) = i, \forall i = 1, 2, \dots, r-1$$

$$f(c_r c_1) = r$$

Karena label titik dan sisi yang diperoleh kurang dari sama dengan $k = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil$, maka pelabelan f pelabelan- k total.

Kemudian akan ditunjukkan bahwa setiap sisi pada graf $(C_r - B_{r,r})$ mempunyai bobot yang berbeda dengan formula bobot dari sisi uv yaitu $(uv) = f(u) + f(uv) + f(v)$

$$w(a_i b_1) = f(a_i) + f(a_i b_1) + f(b_1)$$

$$= i + 1 + 1$$

$$= 2 + i$$

$$w(b_i b_{i+1}) = f(b_i) + f(b_i b_{i+1}) + f(b_{i+1})$$

$$= i + (r - i + 1) + (i + 1)$$

$$= r + 2 + i$$

$$w(b_r c_1) = f(b_r) + f(b_r c_1) + f(c_1)$$

$$= r + 1 + r + 1$$

$$= 2r + 2$$

$$w(c_i c_{i+1}) = f(c_i) + f(c_i c_{i+1}) + f(c_{i+1})$$

$$= (r + 1) + i + (r + 1)$$

$$= 2r + 2 + i$$

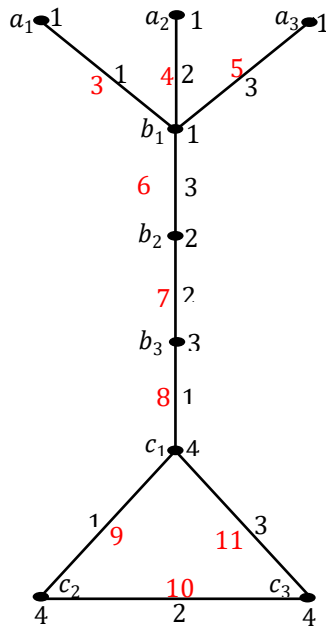
$$w(c_r c_1) = f(c_r) + f(c_r c_1) + f(c_1)$$

$$= (r + 1) + r + (r + 1)$$

$$= 3r + 2$$

Oleh karena f merupakan pelabelan- k total dan untuk setiap dua sisi berbeda, bobot sisinya juga berbeda, artinya f merupakan pelabelan- k total tak teratur sisi, dengan label terbesarnya adalah $k = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil$. Jadi, terbukti bahwa untuk $r > 2$, $tes(C_r - B_{r,r}) = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil$.

Pelabelan-4 total tak teratur sisi pada graf Pohon Palem $C_3 - B_{3,3}$ disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Pelabelan graf pohon palem $C_3 - B_{3,3}$

Keterangan warna label:

- = bobot sisi
- = label titik dan label sisi

Graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$

Definisi 12. Graf pohon palem $C_{r+1} - B_{r,r}$ adalah gabungan graf sapu dan graf lingkaran dengan penambahan satu sisi yang menghubungkan titik ujung graf sapu $B_{r,r}$ dengan salah satu titik pada graf cycle C_{r+1} . Contoh Graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$ disajikan pada Gambar 11.

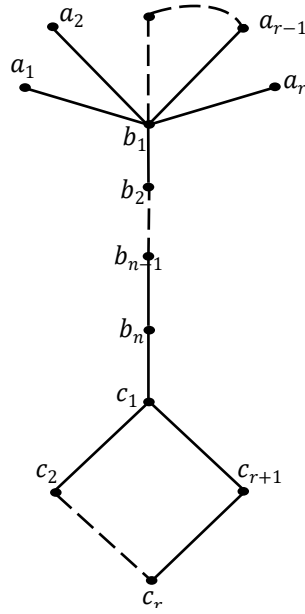
Teorema 13

Misalkan $C_{r+1} - B_{r,r}, r > 2$ adalah graf pohon palem dari gabungan graf sapu $B_{r,r}$ dan graf cycle C_{r+1} , maka $tes(C_{r+1} - B_{r,r}) = \left\lceil \frac{3r+3}{3} \right\rceil$.

Pada graf pohon palem $C_{r+1} - B_{r,r}$, ditunjukkan bahwa jumlah sisi pada graf bintang adalah r , jumlah sisi pada graf lintasan adalah r dan jumlah sisi pada graf cycle adalah $r + 1$. Sehingga diperoleh jumlah sisi pada graf $C_{r+1} - B_{r,r}$ adalah $3r+1$.

Bukti. Berdasarkan Baca (2007), diperoleh batas bawah $tes(C_{r+1} - B_{r,r}) \geq \left\lceil \frac{|E(C_{r+1} - B_{r,r})| + 2}{3} \right\rceil = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil$ untuk $r > 2$. Diberikan $a_i (i = 1, 2, \dots, r)$ titik *pendant* pada graf bintang di graf Sapu $B_{r,r}$, $b_i (i = 1, 2, \dots, r)$ titik pada graf lintasan di graf Sapu $B_{r,r}$ dengan b_1 merupakan titik ujung lintasan graf sapu $B_{r,r}$ yang juga merupakan titik pusat graf bintang dan $c_i (i = 1, 2, \dots, r)$ titik pada graf cycle C_{r+1} dengan c_1 merupakan titik pada graf cycle C_{r+1} yang bertetangga dengan graf sapu $B_{r,r}$.

Perumuman formula label titik dan label sisi pada graf pohon palem $C_{r+1} - B_{r,r}$ menghasilkan pola yang sama pada semua graf. Jadi, sisi pada graf bintang, graf lintasan, dan graf cycle memiliki pola pelabelan. Pelabelan titik pada graf bintang dimulai dari titik a_1, a_2, \dots, a_r , pelabelan titik pada graf lintasan dimulai dari titik b_1, b_2, \dots, b_r dan pelabelan titik pada graf cycle dimulai dari titik c_1, c_2, \dots, c_{r+1} . Sementara pelabelan sisi pada graf bintang dimulai dari sisi $a_1 b_1, a_2 b_1, \dots, a_r b_1$, pelabelan sisi pada graf lintasan dimulai dari sisi $b_1 b_2, b_2 b_3, \dots, b_{r-1} b_r$ dan pelabelan sisi pada graf cycle dimulai dari titik $c_1 c_2, c_2 c_3, \dots, c_{r+1} c_1$.



Gambar 11. Graf pohon palem $C_{r+1} - B_{r,r}$

Diperoleh batas atas $tes(C_{r+1} - B_{r,r}) \leq \left\lfloor \frac{|E(C_{r+1} - B_{r,r})| + 2}{3} \right\rfloor = \left\lfloor \frac{3r+3}{3} \right\rfloor$ dengan mengkonstruksi pelabelan- k total tak teratur sisi $f: V(G) \cup E(G) \rightarrow \{1, 2, \dots, k\}$ dengan $k = \left\lfloor \frac{3r+3}{3} \right\rfloor$ sebagai berikut:

$$f(a_i) = i, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$f(b_i) = i, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$f(c_i) = \left\lfloor \frac{3r+3}{3} \right\rfloor, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$(a_i b_1) = 1, \forall i = 1, 2, \dots, r$$

$$f(b_i b_{i+1}) = \left\lfloor \frac{3r+3}{3} \right\rfloor - i, \forall i = 1, 2, \dots, r-1$$

$$f(b_r c_1) = 1$$

$$f(c_i c_{i+1}) = i, \forall i = 1, 2, \dots, r-1$$

$$f(c_r c_1) = r$$

Karena label titik dan sisi yang diperoleh kurang dari sama dengan $k = \left\lfloor \frac{3r+3}{3} \right\rfloor$, maka pelabelan f pelabelan- k total. Kemudian akan ditunjukkan bahwa setiap sisi pada graf $(C_{r+1} - B_{r,r})$ mempunyai bobot yang berbeda dengan formula bobot dari sisi uv yaitu $w(uv) = f(u) + f(v) + f(uv)$

$$\begin{aligned} w(a_i b_1) &= f(a_i) + f(a_i b_1) + f(b_1) \\ &= i + 1 + 1 \\ &= 2 + i \end{aligned}$$

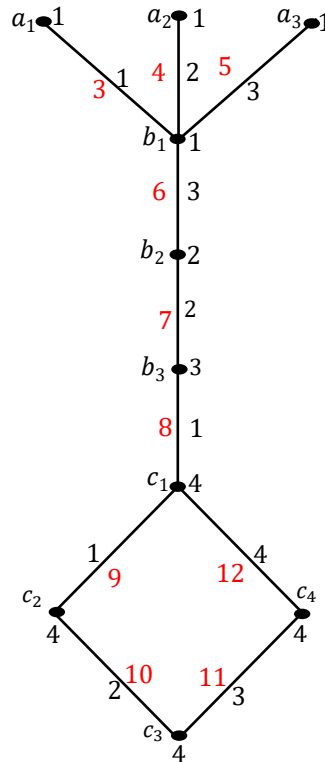
$$\begin{aligned} w(b_i b_{i+1}) &= f(b_i) + f(b_i b_{i+1}) + f(b_{i+1}) \\ &= i + (r - i + 1) + (i + 1) \\ &= r + 2 + i \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} w(b_r c_1) &= f(b_r) + f(b_r c_1) + f(c_1) \\ &= r + 1 + r + 1 \\ &= 2r + 2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} w(c_i c_{i+1}) &= f(c_i) + f(c_i c_{i+1}) + f(c_{i+1}) \\ &= (r + 1) + i + (r + 1) \\ &= 2r + 2 + i \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} w(c_{r+1} c_1) &= f(c_{r+1}) + f(c_{r+1} c_1) + f(c_1) \\ &= (r + 1) + (r + 1) + (r + 1) \\ &= 3r + 3 \end{aligned}$$

Oleh karena f merupakan pelabelan- k total dan untuk setiap dua sisi berbeda, bobot sisinya juga berbeda, artinya f merupakan pelabelan- k total tak teratur sisi, dengan label terbesarnya adalah $k = \left\lceil \frac{3r+3}{3} \right\rceil$. Jadi, terbukti bahwa untuk $r > 2$, $tes(C_{r+1} - B_{r,r}) = \left\lceil \frac{3r+3}{3} \right\rceil$. Pelabelan-4 total tak teratur sisi pada Graf Pohon Palem $C_4 - B_{3,3}$ disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Pelabelan graf pohon palem $C_4 - B_{3,3}$

Keterangan warna label:

- = bobot sisi
- = label titik dan label sisi

SIMPULAN

Berdasarkan pembahasan yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan nilai ketakteraturan sisi total dari graf Pohon Palem $C_r - B_{r,r}$ adalah $tes(C_r - B_{r,r}) = \left\lceil \frac{3r+2}{3} \right\rceil$ untuk $r \geq 3$ dan nilai ketakteraturan sisi total dari graf Pohon Palem $C_{r+1} - B_{r,r}$ adalah $tes(C_{r+1} - B_{r,r}) = \left\lceil \frac{3r+3}{3} \right\rceil$ untuk $r \geq 3$.

DAFTAR PUSTAKA

- Baca M., Jendrol S., Miller M., and Ryan J. (2007). On irregular total labeling. *Discrete Mathematics*, 307, 1378-1388. <https://doi.org/10.1016/j.disc.2005.11.075>
- Budayasa, I. K. 2007. *Teori graph dan aplikasinya*. Surabaya : Unesa University Press.
- Chartrand, G., & Oellermann, O. R. 1993. *Applied and algorithmic graph theory*. Mcgraw-Hill College.
- Choudum, S. A., Pitchai, S., & Kishore, M. 1996. All 5-stars are skolem graceful. *Indian Journal of Pure and Applied Mathematics*, 27, 1101-1106.
- Clipperton, J. 2005. $L(3,2,1)$ Labelling of simple graph. *REU Paper, Valparais Universit*.
- Gallian, J. A. 2009. A dynamic survey of graph labeling. *The Electronic Journal of Combinatorics*, 16(6), 1-219.
- Imran, M., Aslam, A., Zafar, S., & Nazeer, W. 2017. Further results on edge irregularity strength of graphs. *Indonesian Journal of Combinatorics*, 1(2), 82-91. <http://doi.org/10.19184/ijc.2017.1.2.5>

- Ivančo, J., & Jendrol, S. (2006). Total edge irregularity strength of trees. *Discussiones Mathematicae Graph Theory*, 26(3), 449-456. <http://doi.org/10.7151/dmgt.1337>
- Ringel, G., & Hartsfield, N. (1994). *Pearls in Graph Theory*. Cambridge, Massachusetts, United States : Academic Press, Inc.
- Rosen, K.H. (2013). *Discrete Mathematics and Its Applications Seventh Edition*. New York: McGraw-Hill.
- Rosyida, I., & Indriati, D. 2019. On total edge irregularity strength of some cactus chain graphs with pendant vertices. *Journal of Physics: Conference Series*, 1211(1), 012016. <http://doi.org/10.1088/1742-6596/1211/1/012016>
- Sevenhot, S. K., & Denny, R. S. 2010. Pelabelan skolem graceful dan pelabelan pada gabungan dua graf. *Prosiding Seminar Nasional UNPAR*, Bandung.

Pemilihan Titik Knot Optimal Menggunakan Metode GCV Dalam Regresi Nonparametrik Spline *Truncated*

Fitri Kusunartutik*, Nur Karomah Dwidayati

Jurusan Matematika, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia
Gedung D7 Lt. 1, Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang, 50229

E-mail: fitrikusunart@gmail.com

Diterima 9 April 2022

Disetujui 11 Agustus 2022

Dipublikasikan 24 Oktober 2022

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji metode GCV dalam pemilihan titik knot optimal pada regresi nonparametrik spline *truncated* yang disimulasikan pada data Indeks Pembangunan Manusia (IPM) di Jawa Tengah serta untuk mengetahui faktor apa saja yang mempengaruhi IPM di Jawa Tengah. Dengan menggunakan metode GCV akan digunakan satu, dua, tiga, empat, lima dan kombinasi titik knot yang akan membangun model. Kemudian berdasarkan nilai GCV minimum akan dihasilkan titik knot optimal. Pemilihan titik knot optimal akan memberikan model regresi yang optimal. Hasil penelitian menunjukkan model terbaik yaitu dengan menggunakan kombinasi titik knot 5-5-5-5-5 dengan nilai GCV terkecil sebesar 0,3815048. Hasil uji parameter menunjukkan kelima variable yang diduga mempengaruhi IPM berpengaruh signifikan terhadap IPM. Koefisien determinasi sebesar 99,94251% yang artinya 99,94251% variansi IPM dapat dijelaskan secara signifikan oleh kelima variable yang mempengaruhi yaitu TPAK, Rasio Murid Guru, Kepadatan Penduduk, Angka Kesakitan dan PDRB.

Kata kunci: GCV, spline *truncated*, knot

Abstract

This study aims to examine the GCV method in selecting the optimal knot point in the simulated spline truncated nonparametric regression on the Human Development Index (HDI) data in Central Java and to determine what factors influence HDI in Central Java. Using the GCV method will be used one, two, three, four, five and a combination of knots that will build the model. Then based on the minimum GCV value the optimal knots will be generated. The selection of optimal knots will provide an optimal regression model. The results showed that the best model was using a combination of 5-5-5-5-5 knots with the smallest GCV value was 0.3815048. The results of the parameter test showed that the five variables that were thought to affect HDI had a significant effect on HDI. The coefficient of determination is 99.94251%, which means that 99.94251% of the HDI variance can be explained significantly by the five influencing variables, namely TPAK, Student Teacher Ratio, Population Density, Morbidity and PDRB.

Keywords: Generalized Cross Validation (GCV), spline *truncated*, knot

How to cite:

Kusunartutik, F., Dwidayati, NK. 2020. Pemilihan titik knot optimal menggunakan metode GCV dalam regresi nonparametrik spline *Truncated*. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Science*, 45(2), 69-76.

PENDAHULUAN

Analisis regresi merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui pola hubungan antara variable respon dan prediktor. Terdapat banyak kasus dimana pola hubungan antara variable tidak diketahui yang artinya pendekatan regresi yang akan digunakan yaitu regresi nonparametrik. Estimasi kurva regresi nonparametrik diharapkan dapat menyesuaikan pola naik turun data. Ada lima estimator dalam regresi nonparametrik yang biasa digunakan antara lain metode Wavelet, Kernel, Fourier, Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) dan Spline (Budiantara, 2009).

Spline merupakan potongan polinom yang memiliki sifat tersegmen pada titik knot (Eubank, 1999). Spline bersifat fleksible, artinya model regresi akan cenderung mencari sendiri estimasi data mengikuti pola yang bergerak. Spline dapat memodelkan data dengan pola berubah-ubah pada sub-sub interval tertentu, dikarenakan spline merupakan jenis potongan polynomial yang bersifat tersegmen. Dalam membentuk model regresi spline terdapat dua hal yang harus diperhatikan yaitu menentukan orde model dan menentukan banyak dan lokasi titik knot (Montoya *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil penelitian Budiantara (2006) menjelaskan bahwa penggunaan spline truncated menghasilkan perhitungan matematik yang relative lebih mudah dan sederhana. Selain itu optimasinya bisa dilakukan tanpa melibatkan *penalty* yaitu dengan menggunakan optimasi kuadrat terkecil (*least square*). Ada empat metode yang bisa digunakan untuk memilih titik knot optimal dalam estimator spline, antara lain metode *Generalized Cross Validation* (GCV), *Unbiased Risk* (UBR), *Generalized Maximum Likelihood* (GML) dan *Cross Validation* (CV) (Hardle, 1990).

Dalam penelitian ini menghasilkan titik knot optimal beserta dengan model regresi spline dengan metode GCV pada data Indeks Pembangunan Manusia (IPM) Jawa Tengah. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Demu *et al.* (2017) bahwa data IPM di Indonesia dapat dianalisis menggunakan model regresi nonparametrik spline *truncated*. Scholica *et al.* (2018) mengkaji regresi spline *truncated* dalam pemodelan presentase *unmet need* menggunakan dua titik knot dengan metode GCV. Pada penelitian ini akan dicari faktor yang mempengaruhi IPM sehingga dapat memberikan masukan kepada pemerintah bidang apa saja yang harus ditingkatkan agar nilai IPM dapat ditingkatkan.

Regresi Nonparametrik

Diberikan n pengamatan (x_i, y_i) dengan $i = 1, 2, 3, \dots, n$ untuk x_i dan y_i dalam R . Variabel x_i merupakan variabel prediktor pada pengamatan ke- i , variabel y_i merupakan variabel respon pada pengamatan ke- i , dan R merupakan bilangan riil. Hubungan antara x_i dan y_i diasumsikan mengikuti model regresi berikut.

$$y_i = f(x_i) + \varepsilon_i, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (1)$$

dengan $f(x_i)$ merupakan fungsi f yang tidak diketahui dan ε_i adalah residual yang diasumsikan berdistribusi normal independen dengan mean nol dan variansi σ^2 (Fox, 2000).

Regresi Nonparametrik Spline Truncated

Wahba (1990) mendefinisikan fungsi *spline truncated* derajat m dengan titik knot (K_1, K_2, \dots, K_r) dalam fungsi $f(x)$ dengan persamaan sebagai berikut:

$$f(x) = \sum_{l=0}^m \beta_l x^l + \sum_{k=1}^r \beta_{k+m} (x - K_k)_+^m \quad (2)$$

Fungsi truncated yaitu

$$(x - K_k)_+^m = \begin{cases} (x - K_k)^m & , x \geq K_k \\ 0 & , x < K_k \end{cases} \quad (3)$$

Metode GCV

Menurut Eubank (1988), GCV merupakan modifikasi dari *cross validation* (CV). CV merupakan metode untuk memilih model berdasarkan pada kemampuan prediksi dari model tersebut. Bentuk model dari CV yaitu sebagai berikut:

$$CV = n^{-1} \sum_{i=1}^n \left(\frac{y_i - f(x_i)}{1 - g_{ii}} \right)^2 \quad (4)$$

Dengan g_{ii} adalah elemen diagonal ke- i dari matriks G .

Persamaan GCV diperoleh dengan mengganti g_{ii} pada persamaan dengan $\sum_{i=1}^n g_{ii} = n^{-1} Tr(I - G)$. Nilai dari $Tr(I - G)$ adalah penjumlahan elemen diagonal matriks $(I - G)$. Fungsi GCV didefinisikan sebagai :

$$GCV = n^{-1} \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i))^2}{(n^{-1} \text{Tr}(I - G))^2}$$

$$GCV = \frac{MSE}{(n^{-1} \text{Tr}(I - G))^2} \quad (5)$$

dengan $n^{-1} \text{Tr}(I - G) < n$ dan $G = W(W^T W)^{-1} W^T$.

Penambahan titik knot tidak selalu menghasilkan nilai GCV yang semakin kecil. Nilai GCV yang optimal dihasilkan dari pemilihan titik knot yang optimal (Putri & Dwidayati, 2018)

METODE

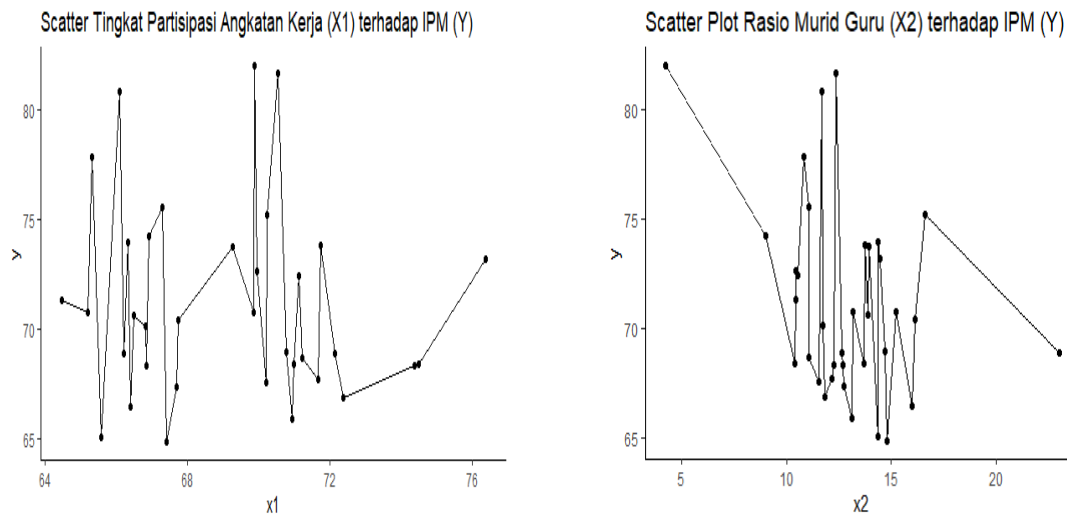
Data yang digunakan bersumber dari data sekunder yang diperoleh dari Badan Pusat Statistika Provinsi Jawa Tengah. Unit observasi sebanyak 35 Kabupaten/Kota. Adapun variable respon yang digunakan dalam penelitian ini adalah Indeks Pembangunan Manusia. Variabel prediktor antara lain Tingkat Partisipasi Angkatan Kerja (TPAK), Rasio Murid Guru, Kepadatan Penduduk, Angka Kesakitan, dan PDRB. Dalam penelitian ini akan digunakan kombinasi lima titik knot dengan orde linear.

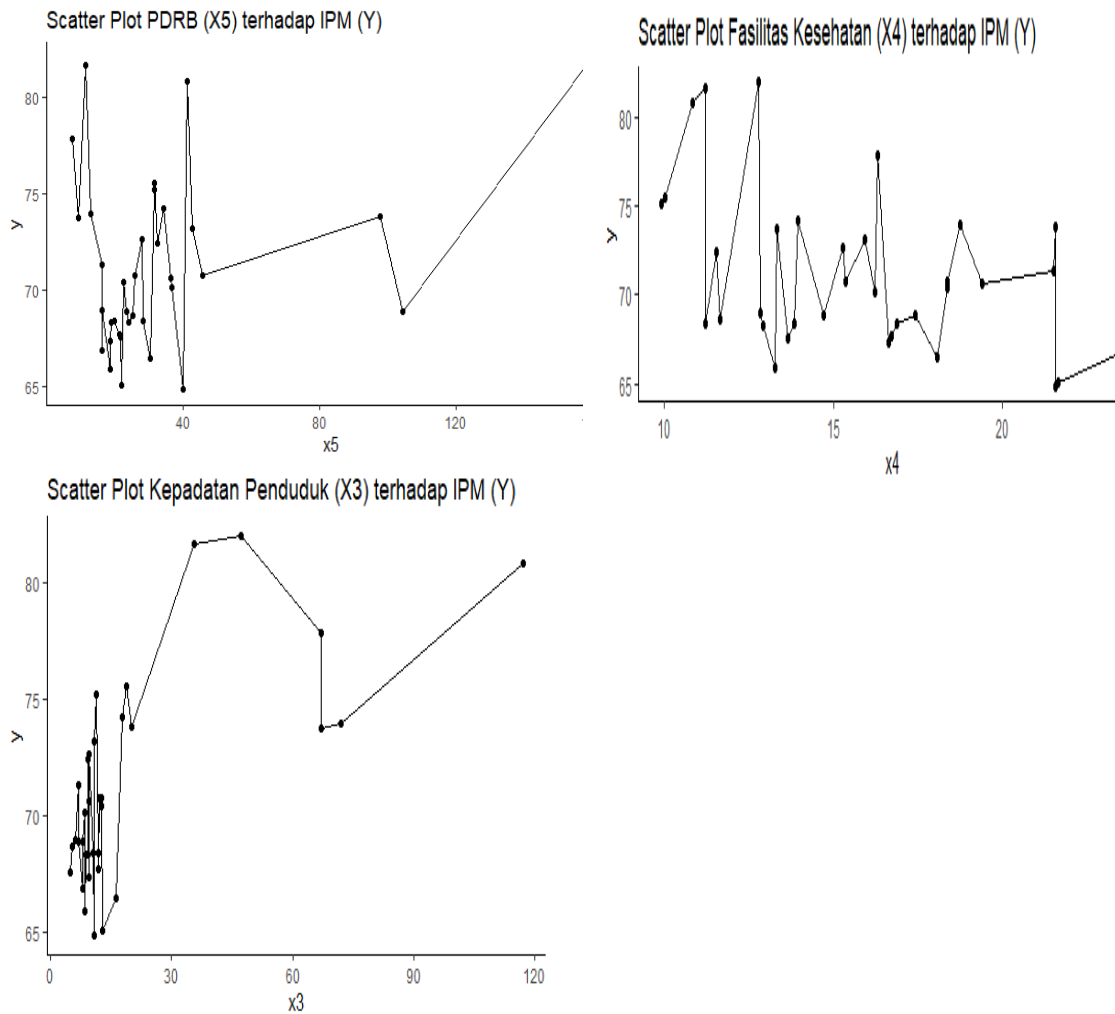
Adapun tahapan penelitian yaitu membuat *scatter plot* variable prediktor (X) terhadap variable respon (Y); memodelkan data dengan model regresi nonparametrik spline dengan satu, dua, tiga, empat, lima dan kombinasi titik knot; menentukan titik knot optimal berdasarkan nilai GCV minimum; memilih estimator regresi spline terbaik; melakukan uji signifikansi parameter; melakukan uji asumsi residual; membuat kesimpulan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Scatter Plot

Gambar 1 merupakan *scatter plot* yang menunjukkan pola hubungan variable prediktor terhadap variable respon. Dari Gambar 1 data mengalami pola naik turun yang tajam pada interval tertentu. Dapat dilihat bahwa pola hubungan antara variable IPM terhadap masing-masing variable predkctor yaitu TPAK, Rasio Murid Guru, Kepadatan Penduduk, Angka Kesakitan dan PDRB/1 jt tidak mengikuti pola hubungan tertentu. Selanjutnya dilakukan uji asumsi parametrik. Dengan bantuan R Studio didapatkan bawa model tidak mengikuti asumsi distribusi normal sehingga digunakan regresi nonparametrik. Langkah pertama yang dilakukan dalam membentuk model regresi spline truncated yaitu menentukan titik knot optimal dengan satu, dua, tiga, empat, dan lima titik knot yang digunakan. Tabel 1 merupakan hasil GCV minimum.





Gambar 1. Scatter plot x_1 , x_2 , x_3 , x_4 dan x_5

Model	GCV Minimum
Satu Titik Knot	8,43
Dua Titik Knot	7,80
Tiga Titik Knot	6,86
Empat Titik Knot	4,95
Lima Titik Knot	0,38
Kombinasi Titik Knot (5-5-5-5-5)	0,38

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh nilai GCV minimum sebesar 0,38 dengan menggunakan kombinasi lima titik knot (5-5-5-5-5) dengan lokasi titik knot pada variable x_1 terdapat pada titik 65,3; 65,71; 69,81; 70,22 dan 75,55. Untuk variable x_2 pada titik 5,52; titik 6,17; titik 12,63; titik 13,28 dan titik 15,87, Untuk variable x_3 pada titik 12,54; 16,42; 55,19; 59,07 dan 109,47. Untuk variable x_4 pada titik 10,87; 11,34; 16,07; 16,54 dan 22,68. Sementara untuk variable x_5 pada 18,09; 23,33; 75,75; 80,99 dan 149,14. Dengan demikian diperoleh model regresi spline *truncated* optimal menggunakan kombinasi lima titik knot, yang selanjutnya dilakukan pengujian model. Uji signifikansi parameter dilakukan untuk melihat apakah parameter pada variable prediktor berpengaruh signifikan terhadap variable respon atau tidak. Tabel 2 merupakan hasil uji serentak.

Tabel 2. Uji serentak signifikansi parameter

Sumber	Df	SS	MS	F_{hitung}	$p\text{-value}$
Regresi	30	682,119	22,74	231,77	0,0000394
Error	4	0,392	0,0981		
Total	34	682,511			

Dari Tabel 2 diperoleh bahwa $p\text{-value} = 0,0000394 < 0,05$. Jadi dapat diputuskan bahwa H_0 ditolak, artinya minimal terdapat satu parameter pada model regresi yang berpengaruh signifikan. Selanjutnya dilakukan uji signifikansi parameter secara parsial yang disajikan dalam Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 diperoleh bahwa semua parameter yang dihasilkan berpengaruh signifikan terhadap model regresi. Artinya masing-masing variable dapat dikatakan berpengaruh secara signifikan terhadap IPM. Langkah berikutnya yaitu uji asumsi residual yang dilakukan untuk mengetahui apakah residual memenuhi asumsi identik, independen, dan berdistribusi normal (IIDN) atau tidak. Hasil uji asumsi identik disajikan dalam Tabel 4

Tabel 4. Hasil uji Glejser

Sumber	Df	SS	MS	F_{hitung}	$p\text{-value}$
Regresi	30	0,18	0,0062	0,8609	0,653
Error	4	0,03	0,0072		
Total	34	0,22			

Berdasarkan Tabel 4 diperoleh nilai $p\text{-value}$ sebesar 0,653 dimana $p\text{-value} > 0,05$. Jadi H_0 gagal ditolak. Jadi dapat disimpulkan tidak terjadi heteroskedastisitas. Artinya asumsi residual identik terpenuhi.

Uji Durbin Watson menghasilkan nilai d_{hitung} sebesar 2,429467. Langkah selanjutnya yaitu menghitung nilai d_L . Dari tabel Durbin Watson dengan $n = 35$ dan $k = 6$ didapatkan $d_L = 1,0974$. Diperoleh bahwa $0 < d_{hitung} = 5,745877 > d_L = 1,0974$ atau $4 - d_L = 2,9026 < d_{hitung} = 5,745877 > 4$. Sehingga H_0 diterima. Artinya tidak terjadi autokorelasi. Jadi residual telah memenuhi asumsi independen. Dengan melakukan Uji Kolmogorov-Smirnov diperoleh nilai $p\text{-value} = 0,17539 > 0,05$, maka H_0 diterima. Artinya residual telah mengikuti pola distribusi normal.

Tabel 3. Uji Parsial Signifikansi Parameter

Var	Parameter	$p\text{-value}$
Konstanta	β_0	0,000013
x_1	β_1	0,00
	β_2	0,00
	β_3	0,0000003
	β_4	0,01288
	β_5	0,000043
	β_6	0,00
x_2	β_7	0,000031
	β_8	0,000006
	β_9	0,000012
	β_{10}	0,00
	β_{11}	0,00
x_3	β_{12}	0,00
	β_{13}	0,00
	β_{14}	0,00
	β_{15}	0,00
	β_{16}	0,0001
	β_{17}	0,00
x_4	β_{18}	0,00
	β_{19}	0,00
	β_{20}	0,00
	β_{21}	0,00

Var	Parameter	<i>p-value</i>
x_5	β_{22}	0,00
	β_{23}	0,00
	β_{24}	0,00
	β_{25}	0,00
	β_{26}	0,00
	β_{27}	0,00
	β_{28}	0,00
	β_{29}	0,00
	β_{30}	0,00

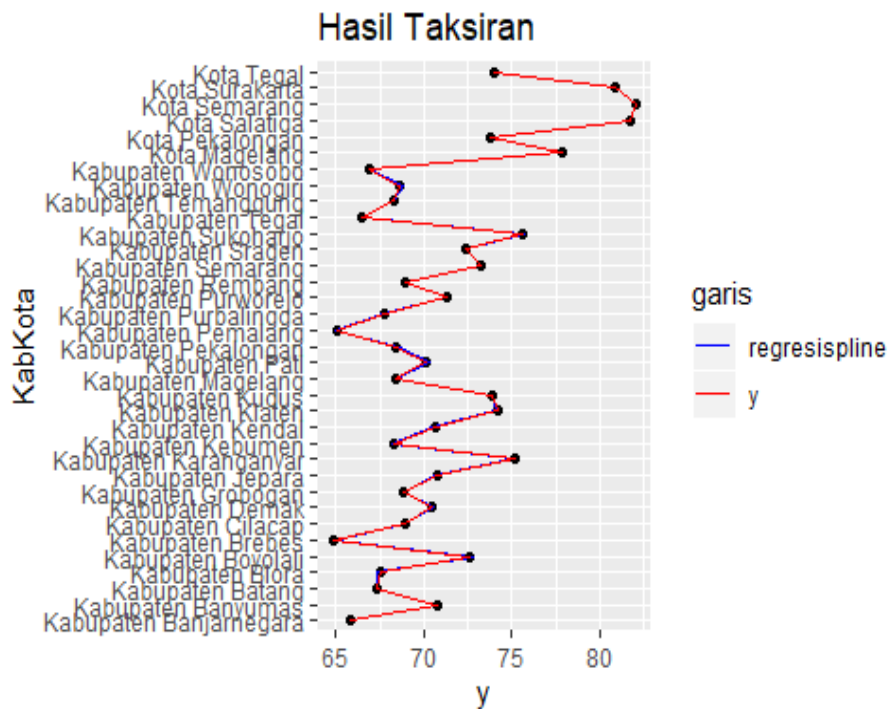
Model terbaik regresi nonparametrik spline *truncated* dihasilkan melalui pemilihan titik knot optimal (5-5-5-5) pada data Indeks Pembangunan Manusia Jawa Tengah dapat dituliskan sebagai berikut. Tanda (+) pada model menunjukkan bahwa terdapat fungsi sepotong (*truncated*) sebagai berikut.

$$\hat{y} = 11,88 + 8,97x_1 + 17,65(x_1 - 65,3)_+^1 - 9,43(x_1 - 65,71)_+^1 + 4,33(x_1 - 69,81)_+^1 - 5,79(x_1 - 70,22)_+^1 + 19,11(x_1 - 75,55)_+^1 + 42,95x_2 - 20(x_2 - 5,52)_+^1 - 26,36(x_2 - 6,17)_+^1 + 13(x_2 - 12,64)_+^1 - 10,49(x_2 - 13,28)_+^1 + 7,88(x_2 - 21,69)_+^1 + 0,45x_3 - 2,14(x_3 - 12,54)_+^1 + 1,52(x_3 - 16,42)_+^1 - 2,65(x_3 - 55,19)_+^1 + 4,33(x_3 - 59,07)_+^1 - 12,78(x_3 - 109,47)_+^1 + 44,42x_4 - 141,07(x_4 - 10,87)_+^1 + 96,31(x_4 - 11,34)_+^1 + 8,71(x_4 - 16,07)_+^1 - 10,41(x_4 - 16,54)_+^1 + 15,39(x_4 - 22,68)_+^1 - 1,97x_5 + 2,77(x_5 - 18,09)_+^1 - 0,85(x_5 - 23,33)_+^1 + 12,38(x_5 - 75,75)_+^1 - 15,03(x_5 - 80,99)_+^1 + 21,34(x_5 - 149,14)_+^1.$$

Fungsi *truncated* ditampilkan sebagai berikut

$$\hat{y}(x) = \begin{cases} 11,88+8,97x_1 & x_1 < 65,3 \\ -1152,74+8,68x_1 & 65,3 \leq x_1 < 65,71 \\ -532,85+0,75x_1 & 65,71 \leq x_1 < 69,81 \\ -835,42+3,58x_1 & 69,81 \leq x_1 < 70,22 \\ -428,53+2,21x_1 & 70,22 \leq x_1 < 75,55 \\ -1872,49+16,9x_1 & 75,55 \leq x_1 \\ -42,95x_2 & x_2 < 5,52 \\ 110,48-22,95x_2 & 5,52 \leq x_2 < 6,17 \\ 273,14-3,41x_2 & 6,17 \leq x_2 < 12,64 \\ 108,84-9,59x_2 & 12,64 \leq x_2 < 13,28 \\ 248,11-0,9x_2 & 13,28 \leq x_2 < 21,69 \\ 77,31-6,98x_2 & 21,69 \leq x_2 \\ -44,42x_3 & x_3 < 12,54 \\ 26,9-1,7x_3 & 12,54 \leq x_3 < 16,42 \\ 1,94-0,18x_3 & 16,42 \leq x_3 < 55,19 \\ 147,93-2,82x_3 & 55,19 \leq x_3 < 59,06 \\ -107,68-1,5x_3 & 59,07 \leq x_3 < 109,47 \\ 1291,6-11,28x_3 & 109,47 \leq x_3 \\ -44,42x_4 & x_4 < 10,87 \\ 1532,82-96,65x_4 & 10,87 \leq x_4 < 11,34 \\ 440,89-0,35x_4 & 11,34 \leq x_4 < 16,07 \\ 300,88-8,37x_4 & 16,07 \leq x_4 < 16,54 \\ 473,08-2,05x_4 & 16,54 \leq x_4 < 22,68 \\ 123,92-13,35x_4 & 22,68 \leq x_4 \\ 1,97x_5 & x_5 < 18,09 \\ -50,1+0,80x_5 & 18,09 \leq x_5 < 23,33 \\ -30,38+0,04x_5 & 23,33 \leq x_5 < 75,75 \\ -968,23+12,34x_5 & 75,75 \leq x_5 < 80,99 \\ 248,75+2,69x_5 & 80,99 \leq x_5 < 149,14 \\ -2933,9+18,65x_5 & 149,14 \leq x_5 \end{cases}$$

Kurva hasil estimasi dari regresi spline *truncated* menggunakan kombinasi titik knot (5-5-5-5) pada data Indeks Pembangunan Manusia Jawa Tengah dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva regresi spline truncated

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa secara visual, kurva regresi spline *truncated* mendekati nilai yang sebenarnya.

SIMPULAN

Berdasarkan nilai GCV minimum didapatkan model regresi nonparametrik spline *truncated* terbaik pada data IPM Jawa Tengah beserta lima variable yang mempengaruhi yaitu menggunakan kombinasi lima titik knot optimal (5-5-5-5-5). Seluruh variable berpengaruh signifikan terhadap model

$$\hat{y} = 11,88 - 8,97x_1 + 17,65(x_1 - 65,3)_+^1 - 9,43(x_1 - 65,71)_+^1 + 4,33(x_1 - 69,81)_+^1 - 5,79(x_1 - 70,22)_+^1 + 19,11(x_1 - 75,55)_+^1 + 42,95x_2 - 20(x_2 - 5,52)_+^1 - 26,36(x_2 - 6,17)_+^1 + 13(x_2 - 12,64)_+^1 - 10,49(x_2 - 13,28)_+^1 + 7,88(x_2 - 21,69)_+^1 + 0,45x_3 - 2,14(x_3 - 12,54)_+^1 + 1,52(x_3 - 16,42)_+^1 - 2,65(x_3 - 55,19)_+^1 + 4,33(x_3 - 59,07)_+^1 - 12,78(x_3 - 109,47)_+^1 + 44,42x_4 - 141,07(x_4 - 10,87)_+^1 + 96,31(x_4 - 11,34)_+^1 + 8,71(x_4 - 16,07)_+^1 - 10,41(x_4 - 16,54)_+^1 + 15,39(x_4 - 22,68)_+^1 - 1,97x_5 + 2,77(x_5 - 18,09)_+^1 - 0,85(x_5 - 23,33)_+^1 + 12,38(x_5 - 75,75)_+^1 - 15,03(x_5 - 80,99)_+^1 + 21,34(x_5 - 149,14)_+^1$$

Pada penelitian ini hanya terbatas pada orde linier, untuk penelitian selanjutnya dapat menggunakan orde lain seperti orde kuadrat dan kubik pada model regresi nonparametrik spline dengan kombinasi titik knot sehingga memungkinkan mendapatkan hasil yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiantara, I. N. 2006. Model spline dengan knots optimal. *Jurnal Ilmu Dasar*, 7(6), 77-85.
- Budiantara, I.N. 2009. Spline dalam regresi nonparametrik dan semiparametrik sebuah pemodelan statistika masa kini dan masa mendatang, Pidato Pengukuhan untuk Jabatan Guru Besar dalam Bidang Ilmu Matematika, ITS Press, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Demu, K.R., Saputro, D. R. S., & Widyaningsih, P. 2017. Model regresi nonoparametrik sline truncated pada data indeks pembangunan manusia (IPM) di Indonesia. Universitas Sebelas Maret.
- Eubank, R.L. 1999. *Nonparametric Regression and Spline Smoothing*. Second Edition. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Eubank, R.L. 1988. *Spline Smoothing and Nonparametric Regression*. Marcel Dekker.Inc. New York.

- Fox, J. 2000. Nonparametric simple regression; smoothing scatterplots. International Educational and Professional Publisher. New Delhi, London.
- Hardle, W. 1990. *Applied Nonparametric Regression*. New York: Cambridge University Press.
- Montoya, E.L, Ulloa, N, & Miller, V. 2014. A simulation study comparing knot selection methods with equally spaced knots in a penalized regression spline. *International Journal of Statistics and Probability*, 3(3), 96-110. <http://doi.org/10.5539/ijsp.v3n3p96>
- Putri, TDP., & Dwidayati, NK. 2018. Pemodelan regresi nonparametrik spline multivariable. *Unnes Journal of Mathematics*, 7(2).
- Scholica, C. N., Budiantara, I.N., & Ratna, M. 2018. Regresi nonparametrik spline truncated untuk memodelkan presentase unmet need di Kabupaten Gresik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2), D61-D68. <http://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.35259>
- Wahba, G. 1990. Spline models for observational data. SIAM, CBMS-NSF Regional Conference Series and Applied Mathematics.

Pengaruh Pemberian Elisitor Ekstrak Khamir pada Pertumbuhan Kultur Kalus Gembili dengan Penambahan ZPT 2,4-D dan Kinetin

Ananda Lutfiah, Noor Aini Habibah*

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Gedung D6 Lt. 1, Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang, Indonesia, 50229

E-mail: nooraini@mail.unnes.ac.id

Diterima 5 Agustus 2022

Disetujui 15 Oktober 2022

Dipublikasikan 28 Oktober 2022

Abstrak

Senyawa bioaktif pada tanaman gembili dapat dihasilkan lebih banyak dari kalus dibandingkan tanaman utuhnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian 2,4-D dan kinetin serta elisitor ekstrak khamir terhadap pertumbuhan kultur kalus gembili. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dua faktorial, yaitu kombinasi 2,4-D (1 ppm; 0,5 ppm) dan kinetin (1 ppm; 0,5 ppm) serta elisitor ekstrak khamir (0,5%; 1%; 2,5% (b/v)). Kalus berumur tiga bulan disubkultur dan diinkubasi selama 2,5 bulan. Kemudian dielisitasi dengan ekstrak khamir dan dipelihara selama 30 hari. Indikator pertumbuhan kalus yang diamati meliputi berat basah, warna dan tekstur kalus. Data dianalisis menggunakan ANOVA dua arah dan diuji lanjut dengan DMRT 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D dan kinetin berpengaruh terhadap rerata berat basah kalus. Sedangkan pemberian elisitor ekstrak khamir tidak berpengaruh terhadap rerata berat basah kalus gembili. Rerata berat basah kalus tertinggi sebesar 3,35 gram dicapai pada kombinasi 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 0,5 ppm dengan elisitor 1% (b/v). Tekstur kalus yang dihasilkan pada seluruh perlakuan adalah remah dan berwarna coklat muda hingga coklat kehitaman.

Kata kunci: Dioscorea, elisitor, kalus, khamir, kinetin, 2,4-D

Abstract

More bioactive compounds in gembili plants can be produced from callus than whole plants. This study aimed to determine the effect of 2,4-D and kinetin and yeast extract elicitor added to the growth of gembili callus culture. The research design used was a completely randomized design with two factors, a combination of ZPT 2,4-D (1 ppm; 0.5 ppm) and kinetin (1 ppm; 0.5 ppm) and yeast extract elicitor (0.5 ppm). %; 1%; 2.5% (w/v)). Three month old callus were subcultured and incubated for 2.5 months. Then it was elicited with yeast extract and maintained for 30 days. The callus growth indicators observed included callus wet weight, color and texture. Data were analyzed using two-way ANOVA and further tested with 5% DMRT. The results showed that the combination of 2,4-D and kinetin had an effect on the average wet weight of callus. While the provision of yeast extract elicitor did not affect the average wet weight of gembili callus. The highest callus wet weight average of 3.35 gram was achieved at the combination of 0.5 ppm ZPT 2,4-D + 0.5 ppm kinetin with elicitor 1% (b/v). The callus texture produced in all treatments was crumb and light brown to blackish brown in color.

Keywords: Dioscorea, elicitor, callus, yeast, kinetin, 2,4-D

How to cite:

Lutfiah, A., Habibah, N. A. (2022). Pengaruh pemberian elisitor ekstrak khamir pada pertumbuhan kultur kalus gembili dengan penambahan ZPT 2,4-D dan kinetin. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Science*, 45(2), 77-83.

PENDAHULUAN

Gembili (*Dioscorea esculenta*) merupakan salah satu tanaman pokok alternatif yang ada di Indonesia. Gembili banyak dimanfaatkan umbinya sebagai bahan makanan sumber karbohidrat. Belum banyak masyarakat yang mengetahui bahwa gembili memiliki potensi sebagai tanaman obat. Umbi gembili mengandung senyawa inulin sekitar 14,77% (Istianah, 2010). Metabolit sekunder lainnya yang dihasilkan dari umbi gembili adalah dioscorin dan diosgenin. Dioscorin adalah protein simpanan pada umbi gembili yang berperan sebagai antioksidan dan bermanfaat untuk kesehatan (Hou *et al.*, 2001). Terdapat penelitian tentang diosgenin yang menunjukkan beberapa aktivitas biologis seperti antibakteri, antiinflamasi, dan sebagai antioksidan yang efektif (Cong *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2015; Junchao *et al.*, 2017).

Metabolit sekunder dari tanaman dapat diproduksi secara efektif dengan teknik kultur jaringan. Penerapan teknik ini memiliki beberapa kelebihan, antara lain tidak bergantung pada iklim, tanah dan letak geografis, meningkatkan produktivitas dengan menurunkan biaya produksi, dan tidak memerlukan herbisida maupun pestisida (Ningsih, 2014). Kultur kalus sangat dipengaruhi oleh pemberian zat pengatur tumbuh, jenis eksplan dan kondisi lingkungan/media. Biasanya zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur kalus adalah kombinasi auksin dan sitokinin. Penelitian Wahyuni *et al.* (2020) melaporkan bahwa kombinasi zat pengatur tumbuh NAA 3 ppm dan BAP 0,5 ppm mampu menghasilkan persentase kalus tertinggi pada eksplan *Aquilaria filaria*. Kombinasi BAP 0,5 ppm dan 2,4-D 1 ppm menghasilkan kalus terbaik pada eksplan daun vegetatif *Sonchus arvensis* L. (Rahayu & Suhayanto, 2020).

Elisitasi adalah teknik penambahan zat atau molekul dalam media pertumbuhan untuk menstimulasi respon stres sehingga meningkatkan metabolit sekunder pada tanaman (Narayani & Srivastava, 2017). Elisitor merupakan molekul atau zat yang menstimulasi respon pertahanan diri suatu tanaman. Elisitor adalah senyawa yang diberikan dalam konsentrasi yang rendah pada sel untuk menginisiasi peningkatan biosintesis senyawa-senyawa tertentu (Namdeo, 2007). Elisitor digolongkan dalam dua kelompok yaitu elisitor biotik dan abiotik. Elisitor abiotik dikelompokkan dalam faktor fisik dan senyawa kimia, sedangkan elisitor biotik bersumber dari agen hayati (Patel & Krishnamurthy, 2013). Contoh elisitor abiotik antara lain asam jasmonat, asam salisilat, cahaya, tekanan osmotik, cadmium, dan lain-lain. Beberapa contoh elisitor biotik antara lain hormon tumbuhan, derivat mikroorganisme (ekstrak khamir), dan derivat dinding sel (kitosan dan kitin) (Estrada *et al.*, 2016). Pada penelitian Yuliani *et al.* (2018), penambahan elisitor *Aspergillus sp.* sebanyak 4 mg/L pada kalus *Artemisia annua* L. memiliki kandungan senyawa artemisin yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Penambahan elisitor ekstrak khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) dengan konsentrasi 0,5% pada agregat sel *Catharantus roseus* L. dapat meningkatkan kandungan ajmalisin dalam agregat sebanyak 108,440% dan dalam medium sebanyak 216,508% (Ratnasari *et al.*, 2001).

Potensi umbi gembili sebagai bahan obat dapat ditingkatkan melalui kultur kalus agar diperoleh kondisi optimal pertumbuhan kalus gembili. Pertumbuhan kalus ini sangat dipengaruhi oleh pemberian zat pengatur tumbuh, serta kandungan metabolit sekundernya dapat ditingkatkan dengan penambahan elisitor. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian elisitor ekstrak khamir pada kultur kalus gembili dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin.

METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2021 sampai April 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang. Bahan tanaman dalam penelitian ini adalah umbi gembili. Variabel bebas meliputi kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin serta elisitor ekstrak khamir. Variabel terikat berupa berat basah, tekstur dan warna kalus. Variabel kontrol diantaranya media MS padat, suhu $18 \pm 20^\circ\text{C}$, kelembaban 58%, dan dalam kondisi gelap. Rancangan penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktorial. Faktor pertama adalah kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D (0,5 ppm; 1 ppm) dan kinetin (0,5 ppm; 1 ppm) dengan 4 taraf perlakuan, sedangkan faktor kedua adalah elisitor ekstrak khamir dengan 3 taraf perlakuan (0,5%; 1%; 2,5 % (b/v)). Unit penelitian adalah 4 x 3 kombinasi dengan tiga kali pengulangan.

Pembuatan Media Tanam

Media perlakuan terdiri atas media MS instan, myo-inositol, gula, zat pematat (agar), dan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin. Formulasi media perlakuan adalah (1) media A (2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm), (2) media B (2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm), (3) media C (2,4-D 0,5 ppm + kinetin

1 ppm), (4) media D (2,4-D 0,5 ppm + kinetin 0,5 ppm). Tahap selanjutnya, media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit.

Pembuatan Elisitor

Ekstrak khamir dibuat dari ragi komersial. Fermipan sebanyak 1 gram dilarutkan ke dalam 150 ml larutan gula steril dalam kondisi hangat. Larutan fermipan didiamkan selama 30 menit hingga terlihat berbuih, selanjutnya diautoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 20 menit. Endapan yang dihasilkan selanjutnya dikeringkan menggunakan oven, kemudian digerus sehingga terbentuk serbuk. Elisitor ekstrak khamir dibuat pada konsentrasi 0,5%; 1%; 2,5% (b/v).

Subkultur dan Elisitasi

Kalus umur tiga bulan dipotong ± 1 gram kemudian ditanam pada media perlakuan. Kultur kalus dipelihara selama 2,5 bulan dalam kondisi gelap. Tahapan selanjutnya, kalus dielisitasi dengan elisitor ekstrak khamir. Elisitasi dilakukan dengan menuangkan elisitor sebanyak 2 ml ke permukaan media kultur kalus. Proses inkubasi setelah elisitasi dilakukan selama satu bulan.

Pengambilan Data

Kalus diamati pada hari ke-30 setelah elisitasi. Data yang diambil adalah berat basah, tekstur dan warna kalus. Pengambilan data berat basah dilakukan dengan menimbang kalus menggunakan neraca analitik dengan tingkat ketelitian 0,0001 gram, kemudian data dianalisis dengan uji ANOVA dua arah menggunakan perangkat SPSS ver. 16.0, apabila terdapat perbedaan maka dilakukan uji lanjut DMRT 0,5%. Sementara pengamatan morfologi kalus dilakukan secara visual dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat basah kalus diukur dengan cara menimbang kalus menggunakan neraca analitik dengan tingkat ketelitian 0,001 gram. Berikut data berat basah kalus gambili. Data rerata berat basah kalus umbi gambili terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh pemberian ZPT dan elisitor terhadap berat basah kalus

ZPT (ppm)		Elisitor (b/v)	Rerata berat kalus (gram)
2,4-D	Kinetin		
1	1	0,5%	2,17
1	0,5	0,5%	2,18
0,5	1	0,5%	2,62
0,5	0,5	0,5%	3,32
1	1	1%	2,67
1	0,5	1%	2,27
0,5	1	1%	3,04
0,5	0,5	1%	3,35
1	1	2,5%	2,60
1	0,5	2,5%	2,78
0,5	1	2,5%	2,17
0,5	0,5	2,5%	2,39

Berdasarkan uji ANOVA dua arah, nilai signifikansi pada elisitor ekstrak khamir $0,171 > 0,05$ sehingga tidak terdapat perbedaan rerata berat basah kalus gambili berdasarkan variasi konsentrasi elisitor ekstrak khamir. Nilai signifikansi zat pengatur tumbuh $0,037 < 0,05$ sehingga terdapat perbedaan rerata berat basah kalus gambili berdasarkan variasi kombinasi ZPT 2,4-D dan kinetin. Hasil uji DMRT 5% pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap berat basah kalus dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil uji DMRT 5%, pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi rendah yaitu 2,4-D 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm mampu menghasilkan kalus dengan rerata berat basah tertinggi yaitu 3,02 gram. Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan perlakuan 2,4-D 0,5 ppm dan kinetin 1 ppm sebesar 2,61 gram. Rerata berat kalus pada konsentrasi lain juga tidak berbeda jauh, pada kombinasi 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm (2,48 gram) dan 2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm (2,41 gram).

Tabel 2. Hasil uji DMRT 5% pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap berat basah kalus

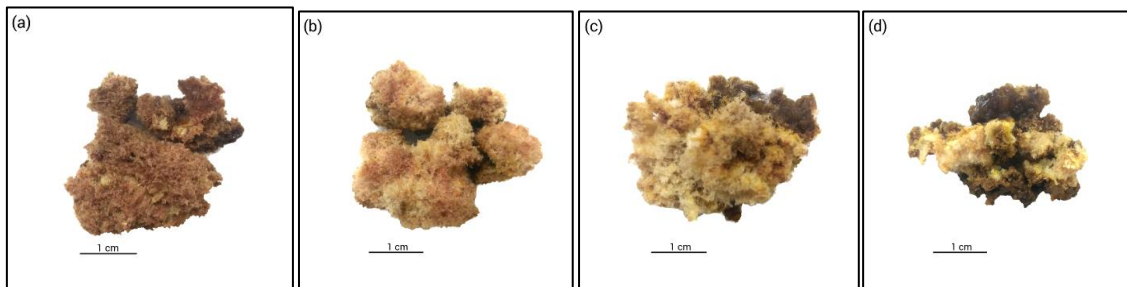
ZPT (ppm)		Rerata Berat Basah Kalus (gram)
2,4-D	Kinetin	
1	1	2,4789 ^b
1	0,5	2,4078 ^b
0,5	1	2,6089 ^{ab}
0,5	0,5	3,0200^a

Keterangan: Huruf superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan secara nyata, sedangkan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata.

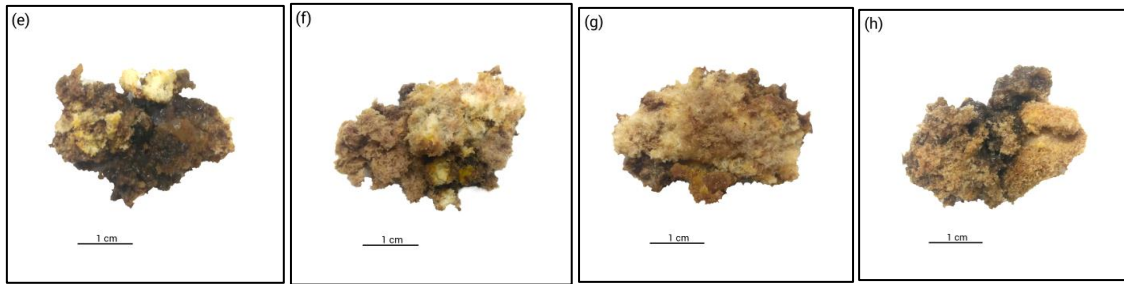
Bertambahnya berat kalus mencirikan adanya pertumbuhan sehingga dijadikan salah satu variabel dalam pengamatan pertumbuhan kalus. Berat basah kalus bergantung pada kecepatan sel-selnya dalam pembelahan. Pembelahan sel dipengaruhi oleh pemberian hormon eksogen dan hormon endogen eksplan. Pemberian ZPT yang sesuai dan interaksinya dengan hormon endogen akan menghasilkan pertumbuhan kalus yang optimal. Metabolisme fenol secara positif memengaruhi sistem kultur jaringan bersama dengan metabolisme auksin yang berperan dalam perbesaran sel dan sintesis senyawa lainnya (Hutami, 2008).

Berdasarkan analisis statistik, pemberian elisitor ekstrak khamir tidak berpengaruh terhadap berat basah kalus. Hal ini mungkin dikarenakan elisitor khamir bersifat biotik yang berperan dalam peningkatan kandungan metabolit sekunder dibandingkan untuk memicu pertumbuhan kalus. Merujuk pada penelitian Kasmiyati *et al.* (2008), bahwa pemberian ekstrak khamir pada planlet *Artemisia vulgaris* tidak berpengaruh nyata terhadap berat segar planlet. Penambahan elisitor yeast sebanyak 2 ml pada kultur kalus *Oxystelma esculentum* (L.F) menghasilkan senyawa kaempferol tertinggi sebesar 0,958 mg/g berat kering (Maliga & Yogananth, 2018). Pemberian elisitor ekstrak khamir 10 mg/L pada kultur kalus *Artemisia monosperma* mampu menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi (Al-Gendy *et al.*, 2016).

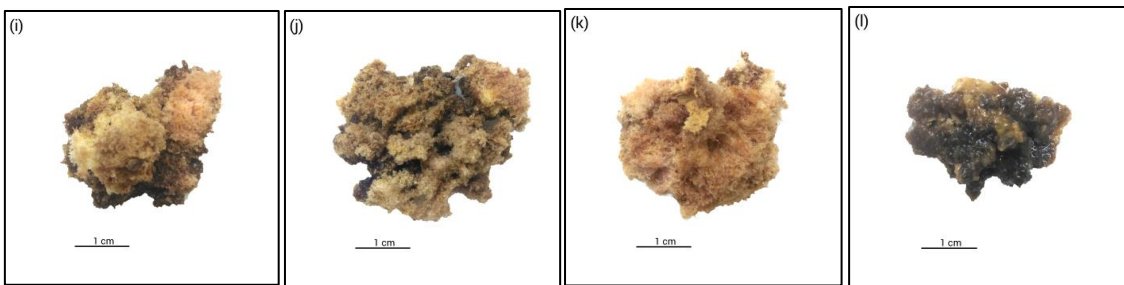
Morfologi kalus diamati pada hari ke-30 setelah elisitasi. Morfologi kalus diamati secara visual berupa tekstur dan warna kalus. Gambar 1-3 menunjukkan morfologi kalus gembili setelah elisitasi dan diinkubasi selama 30 hari.



Gambar 1. Morfologi kalus gembili (*Dioscorea esculenta* L.) setelah elisitasi dengan ekstrak khamir selama 30 hari, (a) 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm + ekstrak khamir 0,5% (b/v); (b) 2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm + ekstrak khamir 0,5% (b/v); (c) 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 1 ppm + ekstrak khamir 0,5% (b/v); (d) 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 0,5 ppm + ekstrak khamir 0,5% (b/v)



Gambar 2. Morfologi kalus gembili (*Dioscorea esculenta* L.) setelah elisitasi dengan ekstrak khamir selama 30 hari, (e) 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm + ekstrak khamir 1% (b/v); (f) 2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm + ekstrak khamir 1% (b/v); (g) 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 1 ppm + ekstrak khamir 1% (b/v); (h) 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 0,5 ppm + ekstrak khamir 1% (b/v)



Gambar 3. Morfologi kalus gembili (*Dioscorea esculenta* L.) setelah elisitasi dengan ekstrak khamir selama 30 hari, (i) 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm + ekstrak khamir 2,5% (b/v); (j) 2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm + ekstrak khamir 2,5% (b/v); (k) 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 1 ppm + ekstrak khamir 2,5% (b/v); (l) 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 0,5 ppm + ekstrak khamir 2,5% (b/v)

Seluruh kalus yang diamati menunjukkan kalus bertekstur remah. Kalus remah memiliki ciri-ciri ruang antarselnya terlihat renggang dan mudah dipisahkan. Tekstur kalus dipengaruhi oleh pemberian zat pengatur tumbuh, jenis eksplan, dan kondisi lingkungan kultur (Hariyati *et al.*, 2016; Sugiyarto & Kuswandi, 2014). Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin pada kalus memicu aktifnya pembelahan dan pembesaran sel sehingga terbentuk kalus bertekstur remah. Hal ini sejalan dengan penelitian Setiawati *et al.* (2019), pemberian kombinasi 2,4-D 1 ppm dan kinetin 0,5 ppm pada eksplan *Chrysanthemum morifolium* menghasilkan kalus remah. Permukaan kalus yang memiliki kontak secara langsung dengan media terlihat berair. Hal ini dikarenakan area tersebut berfungsi sebagai penyerapan nutrisi untuk diteruskan ke jaringan di atasnya.

Warna kalus merupakan salah satu indikator pertumbuhan kalus. Berdasarkan hasil pengamatan hampir seluruh eksplan hasil elisitasi mengalami pencoklatan (*browning*). Pencoklatan kalus disebabkan oleh eksplan yang dilukai. Luka tersebut memicu stres dan meningkatkan aktivitas Fenilalanin amonia liase (PAL) yang diikuti produksi fenilpropanoid sehingga menyebabkan pencoklatan. Merujuk pada Hutami, (2008) bahwa fenol yang mengalami oksidasi menjadi quinon dan senyawa lain yang beracun bagi sel mengakibatkan terjadinya pencoklatan. Senyawa PAL diaktivasi oleh enzim *Polyphenol oxidase* (PPO). Pada kondisi normal, enzim dan substrat berada di ruang yang berbeda dalam sel dan akan keluar bersama ketika sel rusak. Perubahan permeabilitas membran menyebabkan pelepasan enzim dan substrat pada sitosol dan dapat memicu pencoklatan (Li *et al.*, 2016).

Pada pengamatan warna kalus, hampir seluruhnya berwarna coklat. Pencoklatan (*browning*) pada kalus merupakan hal yang bersifat alamiah yang menandakan kemunduran fisiologis kalus (Rismayanti & Nafi'ah, 2021). Hal ini diduga karena waktu inkubasi setelah subkultur yang relatif lama yakni 2,5 bulan setelah kalus diinduksi selama tiga bulan. Setelah inkubasi subkultur selama 2,5 bulan, kalus dielisitasi dengan ekstrak khamir dan dipelihara selama 30 hari. Perubahan warna kalus dari putih kekuningan menjadi coklat diduga disebabkan oleh umur kalus yang semakin tua dan kandungan nutrisi yang terkandung dalam media mulai menurun. Hal ini sejalan dengan penelitian Zulfitra *et al.* (2018), bahwa kalus dari eksplan *Coffea arabica* L. yang muncul pertama kali berwarna

putih dan berangsur berubah menjadi putih kekuningan hingga coklat setelah diinkubasi selama 60 hari.

Umur kalus yang semakin tua memengaruhi kemampuan tumbuh kalus yang semakin menurun diikuti dengan perubahan fisik kalus. Ketika kandungan nutrisi dalam media kultur rendah, maka proses regenerasi selnya akan melambat dan berpengaruh pada warna dan tekstur kalus yang dihasilkan. Hal ini ditandai dengan sel-sel kalus yang semakin renggang serta perubahan warna kalus dari putih kekuningan, kuning kecoklatan hingga coklat. Hal ini sejalan dengan penelitian Rahayu *et al.*, (2020) bahwa kalus *Acalypha indica* mengalami pencoklatan karena berada dalam media kultur terlalu lama, sedangkan nutrisi dalam media sudah mulai habis. Selain itu pada penelitian Mahadi *et al.* (2016), pertumbuhan kalus *Citrus macrocarpa* semakin menurun pada pekan ke-7 yang ditandai dengan munculnya pencoklatan kalus disebabkan semakin berkurangnya unsur hara dan zat pengatur tumbuh dalam media kultur.

Pada penelitian Habibah *et al.* (2021), kalus dari jenis eksplan yang sama yaitu umbi gembili pada umur tiga bulan masih berwarna hijau dikarenakan kalus tersebut dipelihara dalam kondisi terang. Pada kondisi terang, etioplas mampu berdiferensiasi menjadi proplastida dan menghasilkan kloroplas yang mengandung klorofil sehingga menghasilkan kalus berwarna hijau. Sedangkan pada kultur umbi gembili ini, kalus tidak berwarna hijau karena dipelihara dalam kondisi gelap. Pada kondisi ini, etioplas tidak mengalami diferensiasi menjadi proplastida sehingga warna kalus tetap kekuningan bahkan coklat. Pencoklatan diduga juga dapat terjadi akibat terlalu lama terkena udara luar saat proses subkultur.

SIMPULAN

Konsentrasi optimal kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin adalah 0,5 ppm 2,4-D dan 0,5 ppm kinetin dengan rerata berat basah kalus 3,02 gram. Pemberian elisitor ekstrak khamir tidak berpengaruh terhadap rerata berat basah kalus. Kombinasi 2,4-D 0,5 ppm dan kinetin 0,5 ppm dengan elisitor ekstrak khamir 1% adalah kondisi optimal untuk pertumbuhan kalus pada parameter rerata berat basah kalus yaitu sebesar 3,35 gram. Warna dan tekstur yang ditunjukkan pada seluruh perlakuan adalah coklat kekuningan hingga coklat tua dengan tesktur remah.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Gendy, A. A., Ali, R. M., Hamdan, D. A., & Abdel-Ghani, A. E. (2016). Elicitation induced flavonoids, phenolic constituents, antioxidant and cytotoxic activities of *Artemisia monosperma* callus cultures. *Journal of Medicinal Plants Research* 10(40), 717-731. <https://doi.org/10.5897/JMPR2016.6248>
- Chen, Y., Tang, Y. M., Yu, S. L., Han, Y. W., Kou, J. P., Liu, B. L., Yu, B. Y. (2015). Advances in the pharmacological activities and mechanisms of diosgenin. *Chinese Journal of Natural Medicines* 13(8), 578-587. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30053-4](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30053-4)
- Cleland, R. E. (1987). Auxin and cell elongation. In R. E. Cleland, Plant hormones and their role in plant growth and development (pp. 205-220). Washington: Department of Biology, University of Washington.
- Cong, S., Tong, Q., Peng, Q., Shen, T., Zhu, X., Xu, Y., Qi, S. (2020). In vitro anti-bacterial activity of diosgenin on *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. *Molecular Medicine Reports* 22(6), 5392-5398. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11620>
- Habibah, N. A., Safitri, S., Pratiwi, Y. R., Wijawati, N., Musafa, F., Puspitasari, A. S. (2021). Callus induction from tuber of lesser yam (*Dioscorea esculenta*) on MS media supplemented by 2,4-D and kinetin. *Journal of Physics: Coference Series* 1918 052029. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1918/5/052029>
- Hariyati, M., Bachtiar, I., & Sedijani, P. (2016). Induksi kalus tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium*) dengan pemberian benzil amino purin (BAP) dan diklorofenoksi acetyl acid (2,4-D). *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA* 2(1), 89-96. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.37>
- Hutami, S. (2008). Ulasan: masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *Jurnal Agro Biogen* 4(2), 83-88. <http://dx.doi.org/10.21082/jbio.v4n2.2008.p83-88>
- Indah, P. N., & Ermavitalini, D. (2013). Induksi kalus daun nyamplung (*Calophyllum inophyllum* Linn.) pada beberapa kombinasi konsentrasi 6-benzylaminopurine (BAP) dan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Jurnal Sains dan Seni Pomits* 2(1), 1-6. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v2i1.2571>

- Kasmiyati, S., Herawati, M. M., & Kristianti, E. B. (2008). Pertumbuhan *Artemisia vulgaris* secara kultur pucuk pada medium dengan kandungan mioinositol dan ekstrak khamir. *Biota* 13(2), 62-67. <https://doi.org/10.24002/biota.v13i2.2672>
- Li, Y., Meng, T., Wang, Y., & Zhang, X. (2016). Study on enzymatic browning in suspension cultures of licorice cells. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 30(2), 277-283. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1114906>
- Mahadi, I., Syaff'i, W., & Sari, Y. (2016). Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2,4-D dan BAP dengan metode in vitro. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 21(2), 84-89. <https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84>
- Maliga, K. D., & Yogananth, N. (2018). The Enhancement of kaempferol by yeast elicitor in callus cultures of *Oxystelma esculentum* (L.F). *Journal of Chemical Pharmaceutical Research* 9(2), 56-59. <https://doi.org/10.22376/ijpbs.2018.9.2.p135-139>
- Namdeo, A. G. (2007). Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacognosy Reviews* 1(1), 69-78.
- Narayani, M., & Srivastava, S. (2017). Elicitation: a stimulation of stress in in vitro plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production. *Phytochemistry Reviews* 16, 1227-1252. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9534-0>
- Ningsih, I. Y. (2014). Pengaruh elisitor biotik dan abiotik pada produksi flavonoid melalui kultur jaringan tanaman. *Pharmacy* 11(2), <https://doi.org/117-132>. 10.30595/pji.v11i2.829
- Patel, H., & Krishnamurthy, R. (2013). Elicitors in plant tissue culture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 134, 60-65. https://doi.org/10.1007/10_2013_183
- Rahayu, S., & Suharyanto. (2020). Induksi kalus dengan 2,4D dan BAP pada eksplan daun vegetatif dan generatif tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *BioEksakta* 2(3), 479-486.
- Rismayanti, A. Y., & Nafi'ah, H. H. (2021). Modifikasi media pada induksi kalus kopi arabika (*Coffea arabica* L.) berbuah kuning. *Jurnal Agro Wiralodra* 4(2), 42-49. <https://doi.org/10.31943/agrowiralodra.v4i2.60>
- Setiawati, T., Ayalla, A., & Witri, A. (2019). Induksi kalus krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) dengan penambahan berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT). *Jurnal Pendidikan, Matematika Dan Sains* 3(2), 119-132. <https://doi.org/10.33541/edumatsains.v3i2.884>
- Yuliani, F., Dewi, W. S., Yunus, A., & Siswanto, U. (2018). The study of artemisin content in callus *Artemisia annua* L. cultures elicited with endophytic fungi *Aspergillus* sp. *Molekul* 13(2), 155-161. <http://doi.org/10.20884/1.jm.2018.13.2.459>
- Zulfitra, R., Gustian, & Satria, B. (2018). Induksi kalus embriogenik kopi arabika (*Coffea arabica* L.) secara in vitro. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia*, (hal. 404-412). Padang.