

Induksi Kalus Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri*) dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4-D dan BAP Secara *In Vitro*

Callus Induction of Iles-Iles (Amorphophallus Mueller) Tuber Using Concentration Combination of 2,4-D (2,4 -Dichlorophenoxyacetic Acid) and BAP (6-Benzyl Amino Purine) by In Vitro

Mochammad Masruri Aziz*, Evie Ratnasari, Yuni Sri Rahayu

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: masruri.bio@gmail.com

ABSTRAK

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri*) merupakan tanaman umbi-umbian yang mengandung kadar glukomannan tertinggi di antara *Amorphophallus* lainnya yang berada di Indonesia. Iles-iles mempunyai potensi dan prospek untuk dikembangkan karena senyawa glukomannan pada umbi mempunyai nilai ekonomi tinggi. Perbanyakan iles-iles secara alami membutuhkan waktu lama karena memiliki dormansi 1-5 bulan sehingga dilakukan alternatif perbanyakan dengan kultur jaringan. Tujuan penelitian adalah mendeskripsikan pengaruh kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap pembentukan kalus umbi iles-iles secara *in vitro* dan memperoleh kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP yang terbaik dalam pembentukan kalus. Penelitian ini menggunakan Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel manipulasi A = 0,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, B = 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, C = 1,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, D = 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP, E = 1 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP. Parameter pengamatan adalah waktu induksi kalus, biomassa kalus, pembentangan eksplan, warna dan tekstur kalus yang dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap induksi kalus umbi iles-iles dan kombinasi konsentrasi terbaik dalam menginduksi kalus umbi iles-iles adalah 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP (perlakuan B) dengan rerata waktu induksi 13 hari, rerata biomassa kalus 567 ± 413 mg, rerata pembentangan eksplan $7,31 \pm 1,70$ mm, dan terbentuk kalus yang kompak dan berwarna putih.

Kata kunci: umbi Iles-iles; 2,4-D; BAP; kalus; *in vitro*

ABSTRACT

Iles-iles (Amorphophallus muelleri) is a tuber plant known as carbohydrate source which contain highest glucomannan among other Amorphophallus in Indonesia. This plant is potential to be developed because the glucomannan contain in the tuber has high economic value. Naturally, iles-iles is cultivated using its tuber, leaf cutting, bulbil, and seed. These need long time because the material cultivation itself has dormancy stage from 1 to 5 month, so plant tissue culture was done as an alternative to cultivate it. The purposes of this research were to describe the effect of concentration combination of 2,4-D and BAP on the formation of callus and explants of the iles-iles tuber by in vitro and to determine the best concentration combination of 2,4-D and BAP in the formation of callus. This research used the Completely Randomize Design (CRD), with the variation of treatments, namely: A = 0.5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, B = 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, C = 1.5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP, D = 0.5 mg/l 2,4-D + 1.5 mg/l BAP, and E = 1 mg/l 2,4-D + 1.5 mg/l BAP. The parameters observed were time of callus induction, callus biomass, explants elongation, callus color and texture that were analyzed descriptively. The result showed that the concentration combination of 2,4-D and BAP affected on the callus induction. The best concentration combination in the induction of iles-iles tuber was 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP (treatment B) with induction time of 13 days, and the average biomass of callus 567 ± 413 mg, average elongation of explants 7.31 ± 1.70 mm, and formed compact callus and white.

Key words: iles-iles tuber; 2,4-D; BAP; callus; *in vitro*

PENDAHULUAN

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri*) merupakan tanaman umbi-umbian yang mengandung kadar glukomannan tertinggi diantara jenis *Amorphophallus* lainnya yang berada di Indonesia. Iles-iles mempunyai potensi dan prospek untuk

dikembangkan lebih lanjut karena kandungan senyawa glukomannan mempunyai nilai ekonomi tinggi (Sumarwoto, 2005). Glukomannan digunakan di berbagai industri, seperti industri kertas, tekstil, cat, bahan negatif film, bahan isolasi, pita seluloid dan bahan kosmetika (Ermiati

dan Laksamanhardja, 1996). Perlu ada usaha untuk memenuhi besarnya permintaan umbi iles-iles. Salah satunya adalah dengan membudidayakan tanaman iles-iles secara luas, intensif, dan berkelanjutan, untuk memenuhi permintaan pasar (Imelda *et al.*, 2008).

Iles-iles merupakan tanaman *triploid* apomiksis (Jansen *et al.*, 1996), sehingga memiliki keragaman genetik yang terbatas dan tepungsari (pollen) sedikit dan kadang-kadang *steril*. Hal ini menyebabkan perbaikan keragaman genetik hanya dimungkinkan dengan cara induksi mutasi secara *in vitro* (Imelda *et al.*, 2007). Secara alami perbanyakkan iles-iles, menggunakan umbi, bagian umbi, stek daun, bulbil (umbi daun/umbi tetas), dan biji, perbanyakkan tersebut membutuhkan waktu lama karena ada masa dormansi 1-5 bulan (Sumarwoto, 2005), sehingga dilakukan perbanyakkan alternatif dengan teknik kultur jaringan tanaman.

Kultur jaringan tanaman iles-iles banyak dilaporkan menggunakan berbagai sumber eksplan, seperti menggunakan tunas muda yang baru muncul dari umbi (Imelda *et al.*, 2007), tangkai daun (Imelda *et al.*, 2008), hasil kultur biji (Mayasari, 2007; Rohmah, 2007), tunas dari biji (Suheriyanto *et al.*, 2012). Kultur jaringan tanaman merupakan teknik yang efektif dan efisien dalam menghasilkan bibit tanaman secara cepat, seragam, dalam jumlah tak terbatas, dan berkesinambungan. Pembentukan bibit unggul juga banyak dilakukan melalui kultur jaringan dengan cara mutasi maupun rekayasa genetik.

Iles-iles merupakan tanaman tahunan yang memiliki masa dormansi. Pada saat dormansi batang dan daun tanaman layu dan mati, hanya umbi atau biji yang dapat digunakan sebagai sumber eksplan. Biji iles-iles tidak selalu ada karena harus memasuki fase generatif. Habitat asli yang jauh dari laboratorium dan karena kandungan senyawa glukomannan yang tinggi pada umbinya sehingga dilakukan Kultur umbi digunakan sebagai sumber eksplan alternatif

Keseimbangan dan interaksi sitokinin dan auksin menentukan pertumbuhan dan morfologi tanaman secara *in vitro* (Armini, 1992). 2,4-D diketahui efektif dalam menginduksi kalus karena menginduksi pembelahan sel (Campanoni dan Nick, 2005), sedangkan BAP diketahui berperan dalam siklus pembelahan sel. Dengan adanya kombinasi kedua zat pengatur tersebut, diharapkan kalus yang terbentuk optimal karena 2,4-D dan BAP bersinergis untuk menginduksi membentuk kalus melalui pembelahan sel.

Tujuan penelitian adalah untuk mendeskripsikan pengaruh kombinasi

konsentrasi 2,4-D dan BAP terhadap pembentukan kalus umbi iles-iles secara *in vitro* dan menentukan kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP yang terbaik dalam pembentukan kalus.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang memanipulasi penambahan kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP pada media MS untuk menginduksi pertumbuhan kalus umbi iles-iles secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Kultur Jaringan Biologi FMIPA Unesa pada bulan Juli 2013 sampai Februari 2014. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 kali ulangan. Pelaksanaan penelitian meliputi: persiapan dan sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media MS, isolasi dan inokulasi umbi iles-iles, pemeliharaan (inkubasi) kultur, pengamatan dan analisis data.

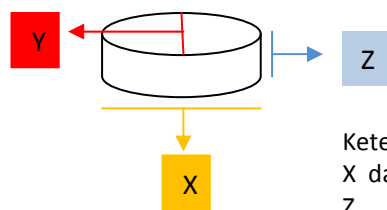
Alat yang digunakan pada penelitian ini seperti autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), oven, botol kultur, pengebor gabus, jangka sorong; sedangkan bahan yang digunakan adalah umbi tanaman iles-iles, asam askorbat, aquades, BAP, 2,4-D, bahan untuk media MS maupun sterilisasi eksplan. Sterilisasi peralatan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit, untuk bahan yang termolabil seperti asam askorbat, menggunakan membran milipore. Sterilisasi LAF dengan menggunakan alkohol 96% dan UV selama 2 jam.

Umbi tanaman iles-iles (*A. muelleri*) yang digunakan sebagai sumber eksplan diambil dari hutan jati di Gunung Pandan kecamatan Rejoso, Nganjuk, Jawa Timur. Media yang digunakan adalah media padat dengan komposisi Murashige & Skoog (MS) yang diberi sukrosa 30 g/l dan agar 8 g/l. Keasaman media diatur sampai mencapai pH 5,8 dengan penambahan larutan KOH atau HCl. Selanjutnya media tersebut diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pada penelitian ini untuk menginduksi pembentukan kalus, pada media MS ditambahkan kombinasi konsentrasi BAP dan 2,4-D sebagai berikut 0,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP (A), 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP (B), 1,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP (C), 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP (D), 1 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP (E).

Sebelum jaringan umbi diisolasi umbi di kupas kulitnya dan dibersihkan dengan air mengalir. Isolasi dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet*, umbi dipotong dengan pengebor gabus, direndam dalam larutan asam askorbat, kemudian disterilisasi dengan alkohol 70%, NaOCl 1% (w/v), dan betadine. Sebelum diinokulasi eksplan direndam dalam larutan asam

askorabat steril kembali untuk mengurangi *browning* dan getah, kemudian diletakan di kertas saring steril untuk menyerap getah yang keluar pada eksplan. Jaringan umbi kemudian dipotong $\pm 0,2$ cm dan diinokulasikan. Semua kultur tersebut diinkubasikan dalam ruang ber-AC yang suhunya $\pm 26^{\circ}\text{C}$ pada kondisi gelap.

Pengamatan waktu induksi dilakukan setiap hari, sampai terbentuk kalus, massa sel yang belum terdeferensiasi dan tak terorganisir (tampak seperti tumor) eksplan. Biomassa kalus, pembentangan eksplan, warna kalus dan tekstur kalus diamati 95 hari setelah inokulasi. Biomassa dihitung dengan mengurangi berat akhir dengan berat awal eksplan, sedangkan pembentangan dihitung dengan merata-rata pertambahan panjang pada daerah pengukuran (x,y, dan z) (Gambar 1). Warna dibandingkan dengan diagram warna jaringan tumbuhan dari Munsell, tektur kalus dilihat dari tingkat kesulitan kalus terpisah dari jaringan eksplan, dikatakan remah jika kalus mudah terpisah dari jaringan eksplan,



Gambar 1 daerah pengukuran x,y, dan z




sebaliknya jika tekstur kompak. Data tersebut kemudian dianalisis secara deskriptif.




HASIL

Hasil penelitian induksi kalus umbi iles-iles dengan kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP secara *in vitro* menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap induksi kalus umbi iles-iles dimana hasil terbaik adalah pada perlakuan B (Tabel 1).

Perlakuan B memiliki rerata waktu induksi kalus ($13 \pm 3,05$ hari), rerata biomassa (567 ± 413 mg), dan rerata pembentangan eksplan ($7,31 \pm 1,70$ mm) yang terbaik, sedangkan rerata biomassa kalus terbaik kedua adalah pada perlakuan E (340 ± 264 mg), sedangkan untuk rerata pembentangan eksplan yang terbaik kedua adalah pada perlakuan C ($6,74 \pm 3,03$ mm). pada kontrol eksplan tidak terbentuk kalus, eksplan hanya mengalami pembentangan eksplan ($5,83 \pm 0,24$ mm) (Tabel 1).

Tabel 1 Rerata waktu induksi kalus, rerata biomassa kalus, rerata pembentangan eksplan, dan viabilitas kalus yang diinduksi dari jaringan umbi iles-iles dengan kombinasi konsenrasi 2,4-D dan BAP.

Perlakuan	Rerata waktu induksi kalus (hari)	Rerata Biomassa Kalus (mg)	Rerata Pembentangan Eksplan (mm)	Viabilitas kalus		Gambar kalus
				Tekstur kalus	Warna kalus	
A	$16 \pm 2,08$	175 ± 264	$5,42 \pm 3,28$	kompak	Putih	
B	$13 \pm 3,05$	567 ± 413	$7,31 \pm 1,70$	kompak	Putih	
C	$20 \pm 4,24$	307 ± 384	$6,74 \pm 3,03$	Kompak	Putih	

Perlakuan	Rerata waktu induksi kalus (hari)	Rerata Biomassa Kalus (mg)	Rerata Pembentangan Eksplan (mm)	Viabilitas kalus		Gambar kalus
				Tekstur kalus	Warna kalus	
D	19 ± 1,41	245 ± 210	5,65 ± 1,08	Kompak	Putih	
E	22 ± 2,52	340 ± 264	5,44 ± 3,03	kompak	putih	
Kontrol (F)	-	0	5,83 ± 0,24	-	-	

Keterangan : A = Media MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP; B = Media MS + 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP; C = Media MS + 1,5 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP; D = Media MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP; E = Media MS + 1 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BAP

PEMBAHASAN

Perlakuan terbaik pada penelitian ini adalah perlakuan B, hal ini karena pada perlakuan B penambahan kombinasi 2,4-D dan BAP seimbang. Menurut Skoog dan Miller (1957) dalam Ikeuchi *et al.*, (2013) penambahan auksin dan sitokinin dalam jumlah yang seimbang akan mendorong pembentukan kalus. Dengan adanya penambahan 2,4-D dan BAP yang tepat, maka eksplan akan diarahkan untuk membentuk kalus, hal ini karena 2,4-D dan BAP dapat berkerja secara sinergis dalam pembelahan sel dan proses dediferensiasi, sehingga terjadi pembentukan kalus dan pertumbuhan kalus yang baik pada jaringan umbi iles-iles.

Perlakuan E memiliki rerata biomassa kalus terbaik kedua. Pembentukan kalus pada perlakuan E dapat terjadi meskipun penambahan 2,4-D dan BAP yang tidak seimbang. Hal ini karena pengaruh dari hormon endogen yang terdapat pada eksplan. Menurut Katuuk (1989) pada eksplan masih mengandung suplai makanan dan hormon endogen dan pembentukan kalus selain disebabkan dari interaksi hormon endogen dengan zat pengatur tubuh yang diberikan juga dapat disebabkan karena pelukaan jaringan. Adanya interaksi antara hormon endogen dengan zat pengatur tumbuh yang diberikan, sehingga nisba auksin dan sitokinin menjadi seimbang.

Pelukaan jaringan atau pengaruh hormon dapat menginduksi ekspresi gen *cdc2*, dimana Gen *cdc2* mempengaruhi kompetensi sel untuk membelah (Hemerly *et al.* 1993). Hal yang sama juga dapat terjadi pada perlakuan A, C, dan D, yaitu eksplan masih dapat terbentuk kalus meskipun perbandingan konsentrasi yang diberikan tidak seimbang.

Pada perlakuan C diketahui memiliki waktu induksi yang cukup lama (20 hari) (lihat Tabel 1). Hal ini sama dilaporkan oleh Sari (2008), yaitu pada induksi kalus batang jati menggunakan 1,5 mg/l 2,4-D memiliki waktu induksi yang paling lama di antara perlakuan yang lain. Menurut Zulkarnain dan Lizawati (2011) kebutuhan eksplan akan zat pengatur tumbuh 2,4-D untuk menginisiasi pembentukan kalus sangat rendah, sehingga pada konsentrasi 1 mg/l, sudah cukup untuk menginisiasi terbentuknya kalus. Salisbury dan Ross (1995) juga menjelaskan bahwa induksi akan meningkat seiring dengan penambahan dosis zat pengatur tumbuh yang diberikan sampai mencapai titik optimum. pada perlakuan C memiliki pembantangan eksplan terbaik kedua setelah B, hal ini dapat terjadi karena menurut Del Pozo *et al.*, (2002) Pada fase S, akumulasi auksin justru akan mendegradasi F-box protein *SKP2*, hal ini akan menghambat pembelahan sel tetapi akan meningkatkan ukuran sel.

Pada kontrol, tidak ada eksplan yang mengalami pembentukan kalus. Hal ini karena pada media tidak ditambahkan zat pengatur tumbuh (2,4-D dan BAP). Menurut Zhao *et al.* (2001) dengan tidak adanya penambahan hormon, protoplasma akan mati, jika di tambahkan dengan auksin sel akan mengalami rediferensiasi dan jika ditambahkan auksin dan sitokinin sel akan memasuki fase S dan terjadi proliferasi.

Pembentukan kalus pada jaringan eksplan pada penelitian ini dikarenakan jaringan eksplan yang kompeten. Menurut Sugiyama (1999), pada kultur *in vitro* sel pada jaringan eksplan harus memiliki sifat kompeten, kompeten merupakan kemampuan dari sel atau jaringan untuk merespons sinyal dari zat pengatur tumbuh yang ditambahkan, sehingga sel atau jaringan dapat berkembang.

2,4-D dan BAP yang masuk ke dalam jaringan eksplan umbi iles-iles menginduksi ekspresi gen yang berperan dalam pembelahan sel sehingga mengubah sel-sel pada jaringan eksplan umbi iles-iles yang sudah terdiferensiasi menjadi sel yang meristem kembali, atau mengalami dediferensiasi dengan cara masuk kembali ke dalam siklus pembelahan sel. Pada kultur *in vitro* tergantung pada auksin dan sitokinin dan juga kemampuan jaringan untuk merespons interaksi antara fitohormon dan zat pengatur tumbuh selama dikultur dan pada awal proses dediferensiasi. Proses dediferensiasi diawali dengan aktivasi ekspresi gen yang menyandi komponen untuk siklus sel, seperti cyclins and cyclin-dependent kinases (CDKs) sehingga dapat memasuki siklus sel kembali (Sugiyama, 1999).

Pembentukan kalus dapat diinduksi oleh 2,4-D dan BAP karena dapat menginduksi pembentukan kalus (proses dediferensiasi) dan pertumbuhan kalus melalui pembelahan sel. Auksin dapat memengaruhi pembelahan sel, dengan menginduksi ekspresi dari *cyclin* tipe-D (CYCD) dan *cyclin depend-kinase* (CDKA) pada fase G1. Auksin dilaporkan dapat mengurangi ekspresi dari KRP dalam menghambat fosforilasi dari CYCD/CDKA. Auksin juga diketahui secara tidak langsung menstabilkan E2FC dan DPB, protein yang mengontrol ekspresi gen pada fase S (Rechenmann, 2010). Sitokinin diketahui berperan penting dalam pembelahan sel. Sitokinin berhubungan dengan semua tahap pada siklus pembelahan sel, dengan meningkatkan peralihan dari tahap G1 ke S (Sintesis DNA) dan G₂ ke mitosis pada siklus sel. Pada tahap peralihan dari G₁ ke S, sitokinin menginduksi transkripsi CyCD3 sedangkan pada peralihan dari G₂ ke Mitosis, sitokinin menginduksi ekspresi dari *cdc2*

(D'Agostino dan Keiber, 1999). Gen *cdc2* diketahui memengaruhi kopetensi sel untuk membelah (Hemerly *et al.* 1993).

Pada setiap perlakuan, dalam ulangnya terdapat eksplan yang tidak menunjukkan pertumbuhan kalus karena umbi yang dikultur mengalami pencoklatan (*browning*) atau kehitaman (*blackening*) dan kemudian eksplan mati. Pencoklatan pada kultur umbi iles-iles juga dapat disebabkan fenol yang teroksidasi, menurut Gerohe dan Sherington (1984) dalam Hutami (2008) pencoklatan pada jaringan juga dapat disebabkan karena tanaman mempunyai fenol yang tinggi dan teroksidasi ketika sel dilukai pada saat isolasi eksplan. Oksidasi fenol yang berubah menjadi quinon dan senyawa lain (polimerasenywa) sangat beracun menyebabkan pencoklatan medium dan kematian eksplan (Hutami, 2008).

Pada eksplan yang tidak mengalami pertumbuhan kalus, dapat disebabkan karena pada jaringan eksplan tidak memiliki informasi dan perangkat fisiologis yang lengkap sehingga tidak dapat memasuki siklus pembelahan sel. Hal ini seperti dijelaskan Yusnita (2003) karena adanya totipotensi sel, yaitu setiap sel tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang. Umur eksplan juga mempengaruhi keberhasilan pengkulturan. Katuuk (1989) menjelaskan pada sel-sel yang tua, kemampuan dalam beregenerasi (membentuk kalus) sudah berkurang karena kandungan jaringan meristematik yang berkurang.

SIMPULAN

Kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP berpengaruh terhadap induksi kalus umbi iles-iles secara *in vitro*. Kombinasi konsentrasi pada perlakuan B media MS + 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BAP) merupakan perlakuan terbaik dengan rerata waktu induksi 13 hari, rerata biomassa kalus 567 ± 413 mg, rerata pembentangan eksplan 31 ± 1,70 mm dan memiliki tekstur kalus kompak dan berwarna putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Armini NM. 1992. *Perbanyakan Tanaman dalam Bioteknologi Tanaman*. (ed) Wattimena G A, Gunawan LW., Mattjik NA, Syamsudin E, Armini NM, dan Ernawati A. Bogor : IPB.
- Campioni P dan Nick P. 2005. Auxin-Dependent Cell Division and Cell Elongation. 1-Napthaleneacetic Acid and 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Activate Different Pathways. *Plant Physiology* Vol. 137: 939-948.

- Del Pozo JC, Boniotti MB, Gutierrez C. (2002). *Arabidopsis* E2Fc functions in cell division and is degraded by the ubiquitin-SCF(AtSKP2) pathway in response to light. *Plant Cell* 14: 3057–3071.
- D'Agostino I B. dan Keiber JJ. 1999. Molecular mechanisms of cytokinin action. *Current Opinion in Plant Biology* 2:359–364.
- Ermiaati dan Laksmanaharja MP. 1996. Manfaat iles-iles (*Amorphophallus* spp.) sebagai bahan baku Makanan dan Industri. *Jurnal Litbang Pertanian*, XV (3): 74-80.
- Hemerly AS, Paulo Ferreira Engler J de A, Montagu M Van, Engler G, dan Inze D. 1993. cdc2a Expression in *Arabidopsis* is Linked with Competence for Cell Division. *The Plant Cell* 5, 171 1-1723.
- Hutami S. 2008. Ulasan Masalah Pencoklatan Pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 4(2):83-88.
- Imeda M, Wulansari A, dan Poerba YS. 2008. Regenerasi Tunas dari Kultur Tangkai Daun Iles-iles (*Amorphophalus muelleri* Blume). *Biodiversitas* 9 (3): 173-176.
- Ikeuchi M, Sugimoto K, dan Iwase A. 2013. Plant Callus: Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, Vol. 25: 3159–3173.
- Imeda M, Wulansari A, dan Poerba YS. 2007. Mikropropagasi Tanaman iles-iles (*Amorphophalus muelleri* Blume). *Berita Biologi* 8(4). 271-277.
- Jansen PCM, Van der Wilk C, dan Hetterscheld WLA. 1996. *Amorphophallus* Blume ex Decaisne [Internet] Record from Proseabase. Flach, M. & Rumawas, F. (Editors). PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation, Bogor, Indonesia. <http://www.proseanet.org>. Accessed from Internet: 10-November-2012.
- Katuuk JRP. 1989. *Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman*. Jakarta :departemen pendidikan dan kebudayaan.
- Mayasari I. 2007. Perbanyakan Iles-iles (*Amorphophalus muelleri* blume) secara Kultur *In vitro* dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP. *Skripsi* tidak dipublikasikan. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Rechenmann CP. 2010. Cellular Responses to Auxin: Division versus Expansion. *Cold Spring Harb Perspect Bio* 2010;2:a001446:1-15
- Rohmah SN. 2007. Penggunaan BAP dan 2,4-D dalam Kultur *in vitro* iles-iles. *Skripsi* tidak dipublikasikan. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Salisbury FB, dan Ross CW. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*, jilid 3. terjemahan Lukman DR, Sumaryono. Bandung: Penerbit ITB.
- Sari N, Ratnasari E, dan Isnawati. 2013. Pengaruh Penambahan Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan 6-Bensil Aminopurin (BAP) pada Media MS terhadap Tekstur dan Warna Kalus Eksplan Batang Jati (*Tectona grandis* Linn. F.) "JUL". *LenteraBio* 2(1) : 69–73
- Sugiyama M. 1999. Organogenesis *In Vitro* *Current Opinion in Plant Biology* 2:61–64.
- Suheriyanto D., Romaidi, dan Resmisari RS. 2012. Pengembangan Bibit Unggul Porang (*Amorphophalus Oncophilus*) Melalui Teknik Kultur *In Vitro* Untuk Mendukung Ketahanan Pangan Nasional. *El-Hayah* 3(1) : 16-23.
- Sumarwoto. 2005. Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume); Deskripsi dan sifat-sifat lainnya. *Biodiversitas* 6 (3): 185-190.
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta . Agro Media Pustaka.
- Zhao J, Morozova N, Williams L, Libs L, Avivi Y, dan Grafi G. 2001. Two phases of chromatin decondensation during dedifferentiation of plant cells: distinction between competence for cell fate switch and acommitment for S phase. *J. Biol. Chem.* 276, 22772– 22778.
- Zulkarnain dan Lizawati. 2011. Proliferasi Kalus dari Eksplan Hipokotil dan Kotiledon Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) pada Pemberian 2,4-D. *Jurnal Natur Indonesia* 14(1) : 19-25