

Induksi Kalus *Amorphophallus titanum* (Becc.) Becc. Melalui Kultur *In Vitro*

Callus Induction of Amorphophallus titanum (Becc.) Becc. Through In Vitro Culture

Yosephine Sri Wulan Manuhara^{1*}, Dannis Yuda Kusuma¹, Anjar Tri Wibowo¹

Diterima 5 Maret 2024/ Disetujui 9 Desember 2024

ABSTRACT

Amorphophallus titanum (Becc.) Becc. is a protected type of plant. Regeneration seeds in their natural habitat is difficult and takes a long time. In situ conservation with in vitro culture is an alternative for population recovery in its natural habitat. This study aims to determine the response of several types of explants and to plant growth regulator in callus induction. The type of explant used is petiolus, branching of leaf lamina and leaf lamina, while the plant growth regulator used is BAP, CPPU and TDZ. The results showed that vertically cultured petiolus was able to produce more calluses and a shorter time than horizontally cultured. Vertically cultured petiolus explants are the explants that produce the most calluses and the fastest initiation time compared to leaf lamina and leaf lamina branching explants. MS media with the addition of TDZ 1 mg L⁻¹ is the best medium in producing calluses. The fastest callus initiation time was obtained on MS media with the addition of TDZ 1 mg L⁻¹ with vertically cultured petiolus explant.

Keywords: petiole, plant growth regulator, thidiazuron

ABSTRAK

Bunga bangkai raksasa (*Amorphophallus titanum* (Becc.) Becc. merupakan jenis tumbuhan yang dilindungi. Regenerasi biji di habitat alami sulit dan memerlukan waktu yang lama. Konservasi *ex situ* dengan kultur *in vitro* menjadi alternatif pemulihan populasi di habitat alaminya. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui jenis eksplan dan zat pengatur tumbuh terbaik untuk menginduksi kalus *A. titanum*. Jenis eksplan yang digunakan antara lain *petiolus*, percabangan lamina daun dan lamina daun, sedangkan zat pengatur tumbuh yang digunakan antara lain BAP, CPPU, dan TDZ. Hasil penelitian menunjukkan petiolus yang dikultur secara vertikal mampu menghasilkan kalus lebih banyak dan waktu yang lebih pendek dibandingkan yang dikultur secara horisontal. Eksplan petiolus yang dikultur secara vertikal merupakan eksplan yang menghasilkan kalus terbanyak dan waktu inisiasi tercepat dibandingkan eksplan percabangan lamina daun dan lamina daun. Media MS dengan penambahan TDZ 1 mg L⁻¹ merupakan media terbaik dalam menghasilkan kalus. Waktu inisiasi kalus tercepat diperoleh pada media MS dengan penambahan TDZ 1 mg L⁻¹ dengan eksplan petiolus yang dikultur secara vertikal.

Kata kunci: petiolus, thidiazuron, zat pengatur tumbuh

PENDAHULUAN

Amorphophallus titanum (Becc.) Becc. pertama kali diidentifikasi oleh Odoardo Beccari pada tahun 1878. Tanaman endemik Sumatra ini dikenal sebagai bunga bangkai raksasa

atau titan arum dan termasuk dalam jenis tumbuhan yang dilindungi menurut Peraturan Pemerintah No. 7 Tahun 1999 serta peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. P72/Menlhk-Setjen/2015 tentang strategi dan rencana aksi konservasi *A. titanum* (Yuzammi et al., 2015; Puspitaningtyas dan Ariati, 2016). Berdasarkan laporan IUCN Red List 2018, *A. titanum* dikategorikan sebagai spesies terancam punah

¹Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo, Surabaya, Indonesia 6011.
E-mail: yosephine-s-w-m@fst.unair.ac.id (*penulis korespondensi)

(*endangered*) karena populasinya yang terbatas di habitat alaminya (Yuzammi dan Hadihah, 2018).

Penurunan populasi *A. titanum* di habitat aslinya disebabkan oleh faktor-faktor seperti alih fungsi lahan, kebakaran hutan, pembabatan hutan oleh masyarakat lokal, penurunan populasi burung rangkong sebagai penyebar alami biji (Yuzammi *et al.*, 2015), serta aktivitas ilegal pengumpulan umbi yang dikirim ke Jepang dan Korea (Yuzammi dan Hadihah, 2018), dan sebagai komoditi ekspor, baik sebagai komoditas *food dietary* maupun tanaman hias (Yudaputra *et al.*, 2021; Yudaputra *et al.*, 2022). Aktivitas ini mengancam kelestarian *A. titanum* karena regenerasi alami melalui biji sangat lambat (Yuzammi dan Hadihah, 2018; Yudaputra *et al.*, 2021). Sebagai langkah konservasi, pemerintah Indonesia memulai upaya konservasi *ex situ* pada tahun 2015, termasuk perbanyak bibit *A. titanum* melalui kultur *in vitro* untuk mendukung pemulihan populasi.

Namun, penelitian tentang kultur jaringan *A. titanum* masih terbatas. Penelitian terakhir oleh Irawati *et al.* (2017) mengeksplorasi berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT), seperti NAA, 2,4-D, BA, GA3, Kinetin, Zeatin, dan tCA. Dalam dua dekade terakhir, hanya sedikit penelitian baru yang dipublikasikan, termasuk penelitian oleh Setiawan *et al.* (2023) yang menggunakan metode stek pada petiole dan *rachis A. titanum*. Pembaruan data penelitian ini sangat diperlukan untuk mendukung konservasi *ex situ A. titanum* secara lebih efektif.

Penelitian ini merupakan bentuk dukungan dan kontribusi terhadap pengkayaan data penelitian tentang kultur jaringan *A. titanum* sebagai upaya konservasi *ex situ*. Penelitian ini menggunakan ZPT seperti 2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), 6-Benzylaminopurine (BAP), Thidiazuron (TDZ), dan N(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea (CPPU) untuk menguji respons pertumbuhan eksplan *A. titanum*. Penelitian bertujuan menentukan ZPT terbaik dalam menginduksi kalus pada eksplan petiolus *A. titanum*, dengan harapan dapat menjadi dasar bagi pengembangan protokol perbanyak bibit skala besar menggunakan bioreaktor.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai Agustus 2023.

Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan meliputi gelas ukur, timbangan digital (skala 0.1 mg), mikroskop stereo digital, autoklav, dan *laminar air flow* (LAF). Bahan yang digunakan termasuk media Murashige dan Skoog (MS), sukrosa, agar-agar, akuades, HCl 0.1M, KOH 0.1M, serta beberapa ZPT seperti

2,4-D (auksin), BAP, TDZ, dan CPPU (sitokinin).

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap. Setiap perlakuan terdiri dari 5 ulangan, tiap ulangan terdiri dari satu botol. Tiap botol terdiri dari 7 eksplan. Penelitian terdiri dari 2 tahapan kegiatan, yaitu a) uji posisi eksplan pada media induksi kalus, b) induksi kalus eksplan petiolus pada media yang mengandung tiga macam zat pengatur tumbuh, yaitu BAP, CPPU dan TDZ.

1. Uji posisi eksplan pada media induksi kalus.

Tujuan pengujian posisi eksplan pada media induksi kalus adalah mengetahui respons posisi eksplan *A. titanum* terbaik untuk menghasilkan kalus *A. titanum* pada media induksi kalus. Bahan yang digunakan media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Perlakuan terdiri atas posisi eksplan yaitu a) posisi horizontal dan b) posisi vertikal, serta perlakuan media dengan 3 macam ZPT yaitu :

- a) MS+ BAP 1 mg L⁻¹
- b) MS + TDZ 1 mg L⁻¹
- c) MS +CPPU 1 mg L⁻¹

Parameter yang diamati terdiri dari: waktu terbentuknya kalus, warna kalus, bentuk kalus, dan berat kalus.

2. Induksi kalus *A. titanum* dari eksplan *rachis* dan *lamina* daun

Tujuan kegiatan ini adalah mengetahui induksi kalus pada eksplan *rachis* dan *lamina* daun pada media MS ditambah zat pengatur tumbuh MS dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D 0.1 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹. Parameter yang diamati adalah waktu terbentuknya kalus, warna kalus, bentuk kalus, berat kalus. Data dianalisis menggunakan ANOVA dengan *software* IBM SPSS ver. 21 pada taraf signifikansi 5%, dan persentase induksi kalus dihitung dari 35 eksplan per perlakuan. Kedua kegiatan tersebut diawali dengan persiapan tanaman donor dan sterilisasi eksplan *A. titanum*.

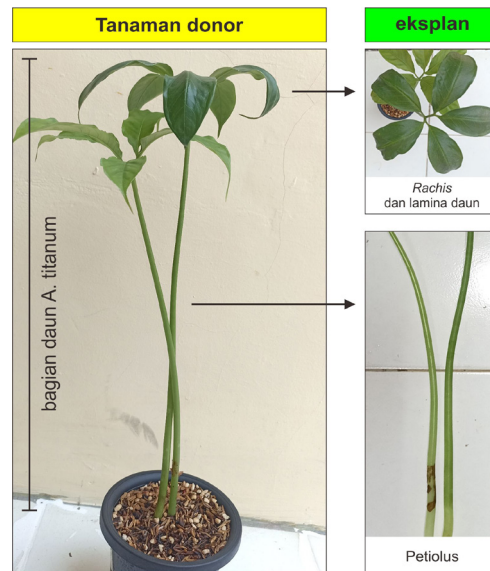
Persiapan Tanaman Donor *Amorphophallus titanum* (Becc.) Becc.

Biji *A. titanum* diperoleh dari penjual tanaman di Sumatera Barat. Biji dicekambahkan pada media *cocopeat* + perlite dan dipelihara di rumah kaca. Tanaman induk berusia 1 tahun dipelihara pada suhu 28–31°C dengan cahaya matahari tidak langsung, serta didesinfeksi dengan fungisida dan bakterisida berbahan aktif tembaga sulfat selama 30 hari sebelum digunakan sebagai donor eksplan. Bagian *rachis* daun, *lamina* daun, dan petiolus digunakan sebagai eksplan (Gambar 1).

Tahapan Penelitian Kultur Tanaman *Amorphophallus titanum* (Becc.) Becc.

Persiapan Eksplan:

Eksplan dari tanaman induk dipotong untuk memisahkan petiolus dan *lamina* daun. Masing-masing eksplan dicuci



Gambar 1. Tanaman donor *Amorphophallus titanum*

dengan detergen menggunakan sikat lembut dan dibilas dengan air mengalir hingga bersih dari sisa detergen. Eksplan direndam dalam larutan tembaga sulfat (CuSO_4) 2 g L^{-1} + tween20 1 mL L^{-1} selama 1 jam, lalu dibilas dengan akuades steril hingga bersih dari sisa larutan CuSO_4 . Tahapan ini dilakukan di luar *laminar air flow* (LAF).

Di dalam LAF, eksplan disterilisasi dengan larutan Bayclean® (NaClO 5.25%) 10% selama 15 menit, kemudian dibilas tiga kali dengan akuades steril, masing-masing 10 menit. Eksplan dipotong menjadi beberapa bagian: lamina daun sekitar 2 cm, pusat *rachis* daun 1 cm, dan petiolus 1 cm. Media yang digunakan adalah MS *full strength* dengan tambahan sukrosa 30 g L^{-1} , agar-agar 7 g L^{-1} , dan ZPT. pH media diatur pada 5.8, lalu disterilisasi dengan autoklav pada suhu $121 \text{ }^\circ\text{C}$ selama 15 menit.

Penelitian tahap pertama: eksplan lamina daun dan pusat *rachis* diinokulasi ke media MS dengan ZPT 2,4-D 0.1 mg L^{-1} + BAP 1 mg L^{-1} . Eksplan petiolus diinokulasi pada media dengan BAP 1 mg L^{-1} , TDZ 1 mg L^{-1} , dan CPPU 1 mg L^{-1} . Eksplan diletakkan di media secara horisontal atau ditancapkan vertikal. Penelitian tahap kedua: eksplan petiolus berdiameter 4–7 mm dipotong 1 cm dan diinokulasi pada media dengan ZPT BAP 1 mg L^{-1} , TDZ 1 mg L^{-1} , dan CPPU 1 mg L^{-1} . Eksplan ditancapkan secara vertikal pada media kultur. Kultur dipelihara di ruang inkubasi dengan pencahayaan LED 16 jam terang dan 8 jam gelap selama 4 minggu, pada suhu $25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

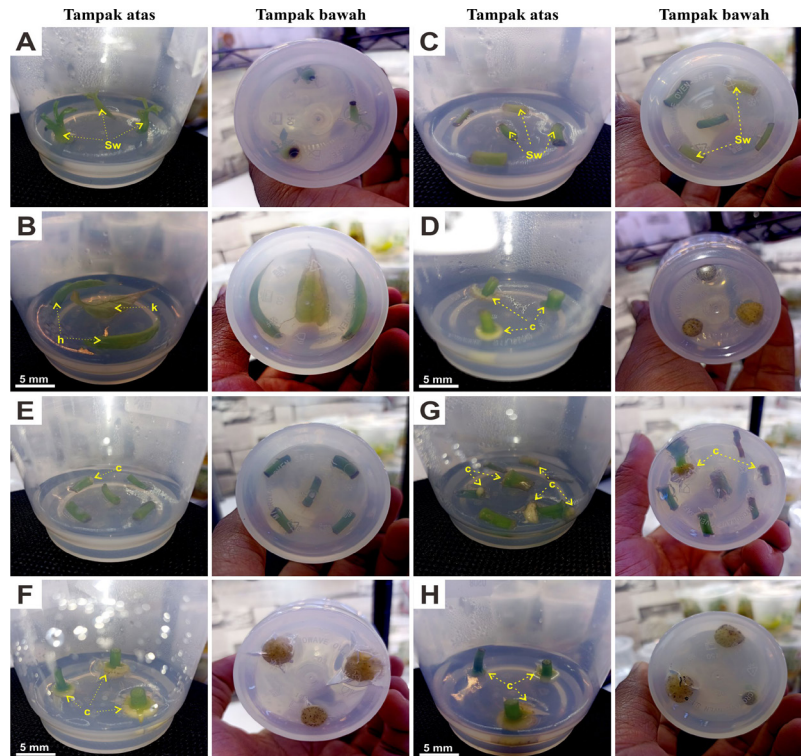
Induksi kalus *Amorphophallus titanum* (Becc.) pada beberapa media

Kombinasi ZPT 2,4-D 0.1 mg L^{-1} + BAP 1 mg L^{-1} memberikan hasil yang berbeda pada dua tipe eksplan. Eksplan

rachis mengalami pembengkakan jaringan tanpa pembentukan kalus (Gambar 2A, tanda Sw), sementara eksplan lamina daun hanya menunjukkan perubahan warna tanpa pertumbuhan kalus (Gambar 2B). Tidak ada respons lanjutan hingga minggu ke-4. Temuan ini berbeda dengan penelitian Irawati *et al.* (2017) yang menunjukkan bahwa kombinasi 2,4-D 1 mg L^{-1} dan NAA 1 mg L^{-1} menghasilkan kalus kompak dan berwarna hijau. Kombinasi 2,4-D + BAP dalam penelitian ini diduga tidak efektif karena konsentrasi 2,4-D yang rendah dan penggunaan BAP yang kurang optimal. Hasil ini berbeda dengan penelitian Li *et al.* (2021) dan Pari *et al.* (2024) pada tanaman *Dendrocalamus sinicus* dan *Gomphrena globosa*.

Penggunaan BAP 1 mg L^{-1} secara tunggal memberikan hasil positif pada induksi kalus eksplan *petiolus*, yang ditanam secara vertikal membentuk kalus kekuningan yang kompak pada minggu ke-4 (Gambar 2D, tanda c). Hasil ini sejalan dengan penelitian Siti (2024) bahwa BAP tunggal dengan konsentrasi 2–4 mg L^{-1} mampu menginduksi kalus dan tunas pada *A. titanum*. Hasil penelitian Dela (2021) menunjukkan bahwa BAP 2 mg L^{-1} efektif menginduksi kalus dan tunas, sedangkan kombinasi BAP 1 mg L^{-1} dan NAA 0.5 mg L^{-1} menghasilkan plantlet. Penggunaan BAP juga mempengaruhi kecepatan induksi rimpang mikro pada *Kaempferia parviflora* (Kafindra *et al.*, 2015).

Penggunaan TDZ 1 mg L^{-1} berhasil menginduksi kalus petiolus dengan posisi eksplan horisontal pada minggu ke-3 (Gambar 2E, tanda c). Eksplan yang ditanam secara vertikal menunjukkan kalus kompak berwarna kekuningan mulai minggu ke-3 hingga minggu ke-4 (Gambar 2F). Hasil ini sejalan dengan Restanto *et al.* (2023) bahwa TDZ tunggal efektif dalam merangsang kalus pada *A. muelleri*, dan kombinasi TDZ dan NAA menghasilkan kalus berwarna hijau pada *A. Muelleri* (Hardjo *et al.* 2023).



Gambar 2. Respon pertumbuhan eksplan *A. titanium* terhadap, (A-B) penambahan 2,4-D 0.1 mg L⁻¹ + BAP 1 mg L⁻¹, (C-D) penambahan BAP 1 mg L⁻¹, (E-F) penambahan TDZ 1 mg L⁻¹, dan (G-H) penambahan CPPU 1 mg L⁻¹. Sw (*swollen*): menggebu, h : hijau, k : kuning, dan c (*callus*) : kalus.

CPPU (*N(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea*) menginduksi kalus pada petiolus dengan konsisten pada kedua posisi eksplan yaitu horizontal, mulai terbentuk kalus pada minggu ke-4 (Gambar 2G, tanda c), dan vertikal berkembang menjadi kalus pada minggu ke-4 (Gambar 2H). CPPU dan TDZ merupakan sitokinin sintetik turunan urea, yang efektif merangsang terbentuknya kalus dan tunas melalui organogenesis tidak langsung (*indirect organogenesis*) (Grzegorzcyk-Karolak *et al.*, 2021). Penambahan CPPU pada *blueberry* (Zhou *et al.*, 2023) dan *Cocos nucifera* (Wilms *et al.*, 2021) dapat mempercepat induksi kalus meristematik.

Induksi dan Pertumbuhan Kalus pada Eksplan Petiolus *Amorphophallus titanum* (Becc.) Becc.

Keberhasilan perbanyak tanaman secara *in vitro* dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya jenis eksplan, demikian halnya dengan perbanyak *in vitro A. titanum*. Eksplan petiolus *A. titanum* merupakan eksplan yang responsif dibandingkan eksplan lainnya sebagai materi perbanyak dan regenerasi tanaman. Pengaruh ZPT bervariasi terhadap terbentuknya kalus pada eksplan petiolus *A. titanum* (Tabel 1).

Pertumbuhan kalus pada eksplan petiolus *A. titanum* dimulai pada minggu ke-1 di semua perlakuan kecuali pada ulangan ke-3 dengan perlakuan BAP. Pada minggu ke-2, semua kalus menunjukkan proliferasi yang meningkat (++) kecuali

ulangan ke-5 dengan perlakuan BAP (+). Pada minggu ke-3, proliferasi kalus bertambah (+++) di semua perlakuan kecuali ulangan 3 sampai 5 pada perlakuan BAP (++) . Pada minggu ke-4, proliferasi kalus maksimal (++++) paling banyak terlihat pada perlakuan TDZ, diikuti oleh CPPU, dan paling sedikit pada BAP. Induksi dan proliferasi kalus paling banyak terjadi pada perlakuan TDZ dengan 21 eksplan dari 5 ulangan, diikuti oleh CPPU dengan 18 eksplan dari 5 pengulangan, dan BAP dengan 11 eksplan dari 5 ulangan.

Induksi dan proliferasi kalus pada eksplan petiolus banyak terjadi pada perlakuan TDZ yaitu, 21 eksplan, kemudian pada perlakuan CPPU sebanyak 18 eksplan, dan perlakuan BAP sebanyak 11 eksplan. Berdasarkan hasil pengamatan ini, diketahui bahwa TDZ merupakan zat pengatur tumbuh yang paling optimal untuk induksi dan proliferasi kalus pada eksplan petiolus *A. titanum*. Induksi kalus menggunakan TDZ memberikan respons pembentukan kalus yang tinggi dibanding zat pengatur tumbuh lainnya. Aktivitas TDZ sebagai induktor kalus diduga berhubungan dengan kemampuannya sebagai agen penghambat enzim pengurai sitokinin. Senyawa TDZ akan berkompetisi dengan sitokinin untuk menempel pada sisi aktif enzim pengurai sehingga mencegah kerusakan sitokinin (Ali *et al.*, 2022).

Analisis ANOVA menunjukkan bahwa variasi ZPT tidak berbeda signifikan dalam induksi kalus (Tabel 2).

Hasil ini menunjukkan bahwa variasi ZPT yang digunakan dalam penelitian ini memiliki potensi yang sama dalam menginduksi kalus pada eksplan petiolus. Namun, persentase induksi kalus tertinggi diperoleh dari perlakuan TDZ (60%), diikuti CPPU (51.4%) dan BAP (31.4%). Zat pengatur tumbuh TDZ 1mg L⁻¹ terbukti sebagai ZPT paling efektif untuk induksi dan proliferasi kalus pada eksplan petiolus *A. titanum*.

Induksi kalus pada eksplan petiolus *A. titanum* menghasilkan tiga tipe proliferasi, yaitu : (1) Tipe 1, kalus terinduksi di bagian atas dan basal dengan tekstur kompak menyerupai umbi mikro (*micro bulb*), disertai calon tunas. (2) Tipe 2, kalus kompak yang tidak beraturan menyerupai umbi mikro (*micro bulb*), terinduksi di bagian basal dengan calon tunas di tonjolan kalus. (3) Tipe 3, kalus dengan permukaan lebih beraturan menyerupai umbi *ex vitro* (*callus like bulb*) yang terinduksi setelah jaringan eksplan menggelembung, dengan calon tunas di permukaannya. Zat pengatur tumbuh BAP paling banyak menghasilkan kalus tipe 1 dan tipe 3. CPPU menghasilkan kalus tipe 2 dan tipe 1, sementara TDZ

menginduksi ketiga tipe kalus. Semua tipe kalus merupakan hasil dari pertumbuhan *indirect organogenesis* (Gambar 3).

TDZ diduga efektif karena kemampuannya menghambat enzim pengurai sitokinin, meningkatkan aktivitas sitokinin endogen dan ekspresi gen spesifik untuk pembentukan kalus (Ali *et al.*, 2022). Senyawa TDZ bersifat multipoten untuk menghasilkan perkembangan kalus yang berbeda (Gambar 3). Persentase pembentukan kalus *A. titanum* yang tinggi menggunakan TDZ karena aktivitas senyawa TDZ sebagai *cytokinin binding protein* (CBP) mengakibatkan aktifitas sitokinin endogen semakin kuat, hal ini sejalan dengan penelitian Gharari *et al.* (2021). Dalam penelitian Gharari *et al.* (2019) menyebutkan bahwa TDZ mampu menghasilkan organogenesis dan regenerasi tanaman *Scutellaria bornmuelleri* hingga 93%. Xiong *et al.* (2022) melaporkan bahwa TDZ juga efektif untuk kalus dan tunas pada *Eurydendrum exelsum*. Penggunaan TDZ pada *Xanthosoma sagittifolium* juga menunjukkan hasil yang baik untuk induksi tunas primordia (Bansal *et al.*, 2023).

Tabel 1. Pertumbuhan kalus dari eksplan petiolus *A. titanum* selama 4 minggu masa kultur

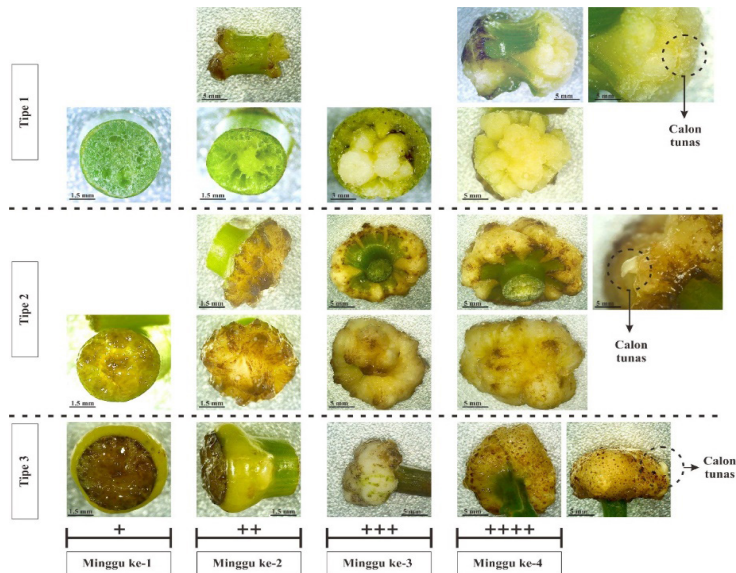
Jenis ZPT (1 mg L ⁻¹)	No. Ulangan	Minggu ke-				Jumlah kalus yang tumbuh	Tipe kalus
		1	2	3	4		
BAP	1	+	++	+++	+++	4	Tipe 1
	2	+	++	+++	++++	1	Tipe 1
	3	-	++	++	+++	2	Tipe 1
	4	+	++	++	++	1	Tipe 3
	5	+	+	++	+++	3	Tipe 1
CPPU	1	+	++	+++	++++	3	Tipe 2
	2	+	++	+++	+++	6	Tipe 2
	3	+	++	+++	++++	2	Tipe 1
	4	+	++	+++	+++	5	Tipe 2
	5	+	++	+++	++++	2	Tipe 2
TDZ	1	+	++	+++	++++	3	Tipe 1
	2	+	++	+++	++++	4	Tipe 1
	3	+	++	+++	++++	5	Tipe 2
	4	+	++	+++	+++	6	Tipe 2
	5	+	++	+++	++++	3	Tipe 3

Keterangan: tanda (+) menunjukkan ada pertumbuhan kalus, sedangkan tanda (-) menunjukkan tidak perkembangan kalus.

Tabel 2. Rerata dan persentase eksplan petiolus *A. titanum* yang membentuk kalus setelah 4 minggu masa kultur

Variasi ZPT (1 mg L ⁻¹)	Rerata induksi kalus ^(a)	Persentase induksi kalus (%) ^(b)
BAP	2.2 ± 1.3	31.4
CPPU	3.6 ± 1.8	51.4
TDZ	4.2 ± 1.3	60.0

Keterangan: (a) hasil rerata induksi kalus (n = 5) tidak berbeda nyata berdasarkan ANOVA pada taraf α = 5% dan (b) persentase induksi kalus dari total eksplan yang digunakan pada masing-masing perlakuan (n = 35).



Gambar 3. Tipe perkembangan kalus dari petiolus *A. titanum* selama 4 minggu masa kultur. Jumlah tanda (+) menunjukkan proliferasi kalus.

KESIMPULAN

Respons terbentuknya kalus tiga macam eksplan (lamina daun, *rachis*, dan petiolus) diperoleh dengan perlakuan ZPT tunggal, yaitu BAP, CPPU dan TDZ. Penggunaan TDZ 1 mg L⁻¹ menghasilkan persentase induksi yang tinggi (60%) dengan pertumbuhan tipe kalus yang beragam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Riset, teknologi dan Pengabdian kepada Masyarakat, KEMENDIKBUDRISTEK dengan Surat Keputusan No. 0536/ES/PG.02.00/2023 dan perjanjian/Kontrak No. 114/E5/PG.02.00.PL/2023; 1316/UN3.LPPM/PT.01.03/2023.

DAFTAR PUSTAKA

Ali, H.M., T. Khan, M.A. Khan, N. Ullah. 2022. The multipotent thidiazuron: A mechanistic overview of its roles in callogenesis and other plant cultures in vitro. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 69(6): 2624-2640. Doi: <https://doi.org/10.1002/bab.2311>

Bansal, S., M.K. Sharma, S. Singh, P. Joshi, P. Pathania, E.V. Malhotra, S. Rajkumar, P. Misra. 2023. Histological and molecular insights in to in vitro regeneration pattern of *Xanthosoma sagittifolium*. *Sci. Rep.* 13(1): p.5806. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33064-8>

Dela, R. Wati. 2021. Organogenesis tidak langsung bunga bangkai (*Amorphophallus titanum* (Becc)) secara in

vitro dengan memakai BAP (*6-benzyl amino purine*) dan NAA (*Naphthalene Acetic Acid*). Diploma thesis. Universitas Andalas.

Gharari, Z., K. Bagheri, A. Sharafi, A. H. Danafar. 2019. Thidiazuron induced efficient in vitro organogenesis and regeneration of *Scutellaria bornmuelleri*: an important medicinal plant. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 55: 133-138. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09965-7>

Gharari, Z., K. Bagheri, G. Karimkhanlooie, A. Sharafi. 2021. Study of tissue culture and in vitro organogenesis of *Scutellaria bornmuelleri* using benzylaminopurine, Isopentenyl adenine and thidiazuron. *S. Afr. J. Bot.* 139: 458-469. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.03.030>.

Grzegorzczuk-Karolak, I., K. Hnatuszko-Konka, M. Krzemińska, M.A. Olszewska, A. Owczarek. 2021. Cytokinin-based tissue cultures for stable medicinal plant production: Regeneration and phytochemical profiling of *Salvia bulleyana* shoots. *Biomolecules.* 11(10): 1-14. Doi: <https://doi.org/10.3390/biom11101513>

Hardjo, P.H., A.N. Wijaya, W.D. Savitri, F. Irawati. 2023. Plant Regeneration in *Amorphophallus muelleri* Blume. through Organogenic. *Biosaintifika.* 15(1): 60-66. Doi: <http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v15i1.40501>

- Irawati, Witjaksono, K.U. Nugraheni, Y. Isnaini, S. Mursidawati, E. Handini, R.V. Garvita, A. Leksonowati, E.M. Della Rahayu, R.K. Wati. 2017. In vitro culture of *Amorphophallus titanum* (Becc.) Becc. ex Archang at bogor botanic gardens. *Bul. Kebun Raya*. 20(1): 33-42. Doi: <https://doi.org/10.14203/BKR.V20I1.407>
- Kafindra, L., N. Khumaida, S.W. Ardie. 2015. Induksi rimpang mikro *Kaempferia parviflora* secara in vitro dengan penambahan bap dan sukrosa. *J. Hort. Indonesia*. 6(1): 54-63. Doi: <https://doi.org/10.29244/jhi.6.1.54-63>
- Li, J., C. Gao, Y. Miao, Z. Liu, K. Cui. 2021. Development of a highly efficient callus induction and plant regeneration system for *Dendrocalamus sinicus* using hypocotyls as explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 145: 117-125. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01996-y>
- Pari, M., W.Q. Lee, C.K.F. Wong, C.Y. Teh. 2024. Induction of callus culture through plant growth regulators supplementation and the effect of elicitors on enhancement of betalain synthesis using *Gomphrena globosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 156(1): 19. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02628-x>
- Puspitaningtyas, D.M., S.R. Ariati. 2016. Konservasi ex situ *Amorphophallus titanum* di Kebun Raya Bogor, Indonesia. hal. 219-225. *Dalam* A.D. Setyawan, Sugiyarto, A. Pitoyo, Sutomo, A. Widiastuti, G. Windarsih., (eds). *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon. Bogor*, 17 September 2016.
- Restanto, D.P., B.S. Gumelar, T. Handoyo, M. Ubaidillah, M.C. Prayoga. 2024. Organogenesis formation Porang plant (*Amorphophallus muelleri* B.) At Several Concentrations of TDZ (Thidiazuron). *J. Penelitian Pertanian Terapan*. 24(1): 1-7. Doi: <https://doi.org/10.25181/jppt.v24i1.2882>
- Siti, R., 2024. Organogenesis bunga bangkai (*Amorphophallus titanum* (Becc.)) dengan pemberian BAP (*Benzyl Amino Purine*) secara in vitro. Diploma thesis. Universitas Andalas.
- Setiawan, R.B., Yusniwati, M. Handayani, Jumsalia. 2023. Penggunaan Indole Butirat Acid (IBA) untuk Induksi Akar Setek *Amorphophallus titanum* dan *Amorphophallus gigas*. *J. Hort. Indonesia*. 14(2): 87-92. Doi: <https://doi.org/10.29244/jhi.14.2.87-92>
- Wilms, H., D. De Bièvre, K. Longin, R. Swennen, J. Rhee, B. Panis. 2021. Development of the first axillary in vitro shoot multiplication protocol for coconut palms. *Sci. Rep.* 11(1): 18367. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97718-1>
- Xiong, Y., S. Chen, T. Wu, K. Wu, Y. Li, X. Zhang, J.A.T. Silva, S. Zeng, G. Ma. 2022. Shoot organogenesis and somatic embryogenesis from leaf and petiole explants of endangered *Euryodendron excelsum*. *Sci. Rep.* 12(20506): 1-9. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24744-y>
- Yudaputra, A., I.A. Fijridiyanto, J.R. Witono, I.P. Astuti. 2021. The plant expedition of an endangered giant flower *Amorphophallus titanum* in Sumatra. *Warta Kebun Raya*. 19(1): 23-29.
- Yudaputra, A., I.A. Fijridiyanto, J.R. Witono, I.P. Astuti, I. Robiansyah, R. Hendrian, P. Hutabarat, A.Y. Yuswandi, P.D. Raharjo, W.P. Cropper. 2022. Habitat preferences, spatial distribution and current population status of endangered giant flower *Amorphophallus titanum*. *Biodivers. Conserv.* 31: 831-854. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10531-022-02366-0>
- Yulianto, S.E., N. Augustien, R. Hidayat. 2017. Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh (Cpau) Pada Tanaman Porang (*Amorphophallus Onchophyllus*) Di Ketinggian Tempat Yang Berbeda. *Berkala Ilmiah Agroteknologi-PLUMULA*. 5(1).
- Yuzammi, J.T., Hadiyah. 2018. *Amorphophallus titanum*, Titan Arum. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e. T118042834A118043213.
- Yuzammi, S., Mursidawati, D., Asikin., Sugiarti, H., Gunawan, A., Nugroho, U.M., Rahmat. 2015. Strategi Dan Rencana Aksi Konservasi Bunga Bangkai (*Amorphophallus titanum*) 2015-2025. Direktorat Jenderal Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan RI, Jakarta.
- Zhou, Y., Q. Li, Z. Wang, Y. Zhang. 2023. High efficiency regeneration system from Blueberry Leaves and stems. *Life*. 13(1): 242. Doi: <https://doi.org/10.3390/life13010242>