



Induksi Kalus Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Lokal Palu Pada Medium MS Dengan Penambahan 2,4-D (2,4-Asam Dikloropenoksi Asetat) Dan Air Kelapa

Melisa S.M. Sorentina¹ Haliani², Muslimin², I Nengah Suwastika^{1*}

¹Lab.Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu

²Lab.Kultur Jaringan, Fakultas Kehutanan, Universitas Tadulako, Palu

ABSTRACT

Shallot c.v. Local Palu (BML-Palu) is one of importance agricultural commodities in Palu and surrounding area of Central Sulawesi. Unfortunately, in agricultural system, it's facing difficulties in seed propagation. However, tissue culture approach was a potential technology which can be applied in order to overtake the problem. Our study was an early step in the application of this technology. We tried to find out the best combination of 2,4-D and coconut water in MS based medium, which suitable for callus induction. This experimental study was based on Completely Randomized Design (CRD), with 4 treatments, 3 replications, and 3 shallot explants on each unit. The treatments were PK1 (MS0 + 1 ppm 2,4-D + 10% coconut water), PK2 (MS0 + 1,5 ppm 2,4-D + 10% coconut water), PK3 (MS0 + 2 ppm 2,4-D + 10% coconut water), and PK4 (MS0 + 2,5 ppm 2,4-D + 10% coconut water). Out come of this research showed that all treatments, except PK2, were able to induce callus formation up to 80.55% of total explants. Based on the observed parameters i.e. time of Callus emerging, frequency of explants producing callus, callus morphology and callus cell observation; PK3 was the best medium in callus induction and growth. Callus on this medium was intermediate-type, white in color, active in cell propagation, also uniform in size. While PK2 was fail to induce the callus due to overproduction of secondary metabolite.

Keywords: MS, 2,4-D, Coconut Water, Callus Induction, *Allium ascalonicum* L. c.v. local Palu

ABSTRAK

Bawang merah lokal Palu (BML-Palu) merupakan salah satu komoditi khas Sulawesi Tengah. Selama ini, kendala dalam perbanyakan bawang merah yaitu dalam penyediaan bibit baik secara kualitas maupun kuantitas. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut yaitu dengan penerapan teknologi kultur jaringan. Penelitian ini merupakan tahap awal dalam pengembangan teknologi tersebut, yaitu dalam upaya menemukan media yang baik dalam induksi kalus BML-Palu. Penelitian ini bersifat experimental berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan, 3 kali ulangan, dan masing-masing unit

*) coresponding author: isuwastika@yahoo.com.au

terdiri dari 3 eksplan. Perlakuan berupa kombinasi ZPT dan air kelapa pada media dasar MS, yang terdiri dari: PK1 (MS0 + 1 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK2 (MS0 + 1,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK3 (MS0 + 2 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), dan PK4 (MS0 + 2,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan kecuali PK2, mampu menginduksi kalus hingga 80,55 % dari total eksplan yang ditanam. Berdasarkan parameter saat munculnya kalus, persentase eksplan menghasilkan kalus, morfologi kalus dan pengamatan sel kalus, PK3 merupakan medium terbaik dalam menghasilkan kalus BML-Palu. Media ini mampu mendorong terbentuknya kalus yang dominan bertipe intermediet dan berwarna putih, serta memiliki ukuran sel relatif besar dan seragam. Lain dari pada itu, perlakuan PK2 tidak mampu menginduksi kalus, tapi justru mendorong terbentuknya metabolit sekunder pada eksplan.

Kata Kunci : *MS, 2,4-D, Air Kelapa, Induksi Kalus, Allium ascalonicum* L.c.v. lokal Palu

I. LATAR BELAKANG

Di area pertanian lembah Palu (Sulawesi Tengah) yang beriklim kering terdapat jenis bawang merah yang beradaptasi dan dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik. Jenis bawang merah ini dikenal dengan nama bawang merah lokal Palu (BML Palu), dan sudah diolah menjadi produk olahan siap saji yang biasa disebut "Bawang Goreng Palu". Bawang goreng ini memiliki tekstur yang padat, rasanya gurih serta memiliki aroma yang khas sehingga banyak disenangi oleh masyarakat sebagai bumbu masak maupun makanan ringan. Oleh karena itu, bawang goreng ini dikategorikan sebagai komoditi khas Sulawesi Tengah yang memiliki daya saing tinggi (Ete dan Alam, 2009).

Bawang merah palu atau lebih dikenal bawang merah lokal Palu merupakan salah satu komoditi unggulan Sulawesi Tengah.

Bawang merah ini memiliki ciri yang mirip dengan bawang merah Sumenep berdasarkan jumlah anakan per rumpun, tinggi tanaman, jumlah daun, serta bobot basah dan kering umbi. Namun, bawang ini agak berbeda dengan bawang merah Tinombo yang juga merupakan bawang lokal Sulawesi Tengah. Selanjutnya, hasil perbandingan tiga jenis bawang merah lokal Sulawesi Tengah (Palu, Tinombo, dan Napu) dengan tiga jenis bawang merah introduksi (Sumenep, Bima, dan Filipina) menunjukkan bahwa bawang merah Palu memiliki ciri yang mirip dengan bawang merah Sumenep, Bima, dan Filipina berdasarkan jumlah anakan per rumpun, tinggi tanaman, jumlah daun, serta bobot basah dan kering umbi. Bawang merah lokal Palu cocok dikembangkan di dataran rendah dan daya adaptasinya lebih baik dibanding bawang merah Tinombo, sementara bawang merah Napu memiliki daya adaptasi yang

lebih luas, mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi (Maskar dkk, 2001).

Usaha pengembangan budidaya BML-Palu memiliki prospek yang baik mengingat tingkat produksi yang dicapai saat ini belum mampu memenuhi kebutuhan industri pengolahan bawang goreng. Salah satu kendala dalam pengembangan budidaya tersebut yaitu dalam penyediaan bibit baik secara kualitas maupun kuantitas. Selain itu, masih rendahnya penerapan teknologi perbanyak tanaman bawang merah. Perbanyak BML-Palu dilakukan secara vegetatif menggunakan umbi, dimana teknik ini tidak dapat menekan adanya serangan hama sehingga mengakibatkan menurunnya jumlah produksi tanaman. Permadi (1995), Tanaman hasil pembiakan vegetatif sangat rentan terhadap patogen sistemik yang dibawa dari induknya sehingga dapat menekan pertumbuhan dan produktivitas tanaman.

Melihat kondisi di atas, salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut yaitu dengan penerapan teknik kultur jaringan (*In vitro*). Pada penelitian ini menggunakan metode embriogenesis. Embriogenesis merupakan tahap awal dari induksi kalus secara tidak langsung. Kalus adalah sekumpulan sel yang *amorphous* yang

terjadi dari sel-sel jaringan membelah secara terus menerus. Induksi kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali (Gunawan, 1988). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh media yang cocok untuk pertumbuhan kalus tanaman bawang merah (*A. ascalonicum* L.) pada media MS dengan penambahan kombinasi hormone 2,4-D dan air kelapa.

Zat pengatur tumbuh 2,4-D yang merupakan turunan dari hormon auksin yang paling umum digunakan dalam menginduksi kalus karena memiliki sifat lebih stabil karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel tanaman ataupun oleh pemanasan pada proses sterilisasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Sementara Pemanfaatan air kelapa di dalam teknik kultur jaringan tanaman pertama kali dilaporkan oleh Van Overbeek *et al* (1941), pada kultur embrio *Datura stramonium*. Penggunaan ZPT 2,4-D dan air kelapa telah dilaporkan oleh Dwi (2012), dalam induksi kalus tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) yang menunjukan bahwa penggunaan 2,4-D yang dikombinasikan dengan 10% air kelapa baik untuk mengiduksi kalus tanaman anggur hijau.

II. BAHAN DAN METODE

Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu umbi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) lokal Palu yang diperoleh dari Desa Guntarano. Media MS disusun berdasar Murashige dan Skoog, (1962), dengan penambahan 2,4-D dan air kelapa dengan konsentrasi sesuai rancangan perlakuan. Sebelum penanaman, eksplant di disterilkan secara bertahap menggunakan detergen, fungisida (dethine), bakterisida (agrept), klorox (bayclean), dan iodine (betadin).

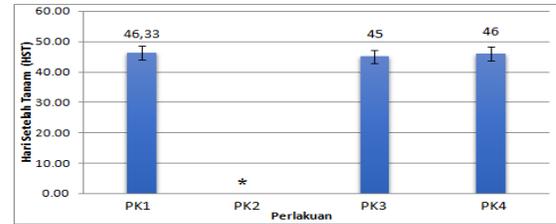
Penelitian ini disusun berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan, dan setiap satu unit percobaan menggunakan 3 eksplan sehingga diperoleh 36 eksplan dalam 12 unit percobaan. Perlakuan meliputi:

- PK1 = MS0 + 1 ppm 2,4-D + 10% Air Kelapa
- PK2 = MS0 + 1,5 ppm 2,4-D + 10% Air Kelapa
- PK3 = MS0 + 2 ppm 2,4-D + 10% Air Kelapa
- PK4 = MS0 + 2,5 ppm 2,4-D + 10% Air Kelapa

Parameter penelitian yang diamati meliputi: saat munculnya kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, warna kalus, tekstur kalus, dan pengamatan sel kalus.

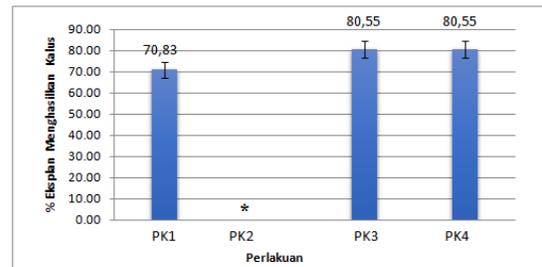
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Saat munculnya kalus



Gambar 1. Rata-rata hari saat munculnya kalus (HST) eksplan bawang merah (*Allium ascalonicum* L.). PK1 (MS0+ 1 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK2 (MS0+ 1,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK3 (MS0+ 2 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), dan PK4 (MS0+2,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), tanda I pada grafik menunjukkan Standar Error. (*) = Eksplan Tidak tumbuh.

b. Persentase Eksplan yang menghasilkan kalus



Gambar 2. Persentase rata-rata eksplan berkalus pada medium perlakuan. PK1 (MS0+ 1 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK2 (MS0+ 1,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK3 (MS0+ 2 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), dan PK4 (MS0+ 2,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), tanda I pada grafik menunjukkan Standar Error. (*) = eksplan Tidak tumbuh

c. Tipe kalus

No	Perlakuan	Ulangan		
		1	2	3
1	PK1	Kompak	Intermediet	Kompak
2	PK2	-	-	-
3	PK3	Intermediet	Intermediet	Kompak
4	PK4	Kompak	Kompak	Intermediet

Tabel 1. Tipe kalus terbentuk pada tiap perlakuan

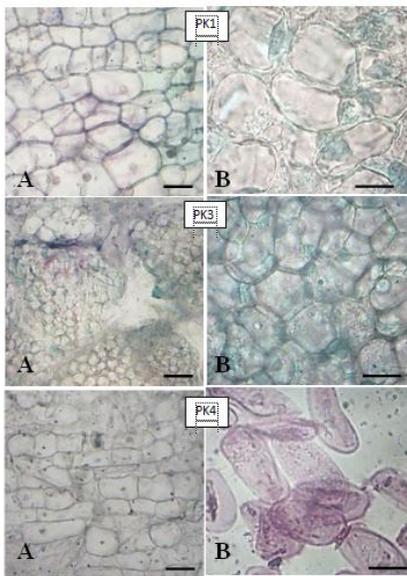
Keterangan: (-) = Tidak tumbuh

d. Warna Kalus



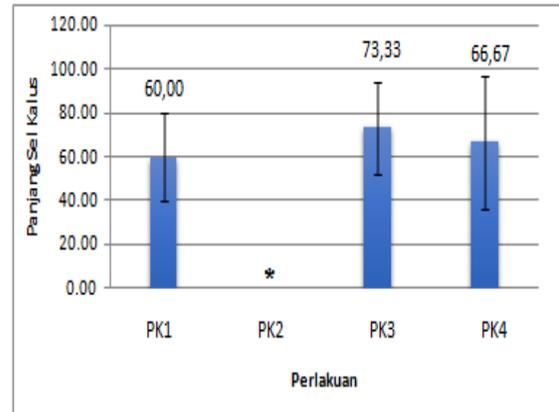
Gambar 3. Warna kalus eksplan bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) yang dibentuk tiap medium perlakuan (PK1, PK3 dan PK4), warna yang dibentuk putih kekuningan dan kuning kecoklatan.

e. Sel kalus tanaman bawang merah (*A. ascalonicum* L.) lokal Palu



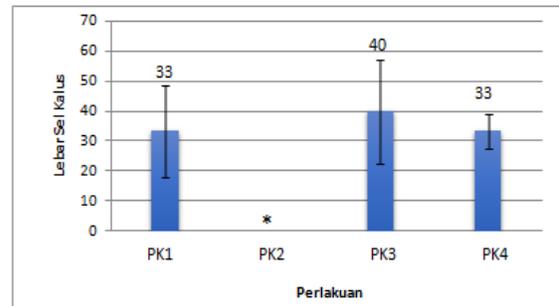
Gambar 4. Pengamatan sel kalus dari tiap perlakuan yang menunjukkan adanya sekumpulan sel. Sel Kalus diamati pada dibawah mikroskop pada perbesaran lemah (A), dan pada perbesaran kuat (B). Garis hitam di bagian bawah gambar menunjukkan skala 20 μ m.

f. Ukuran panjang sel kalus



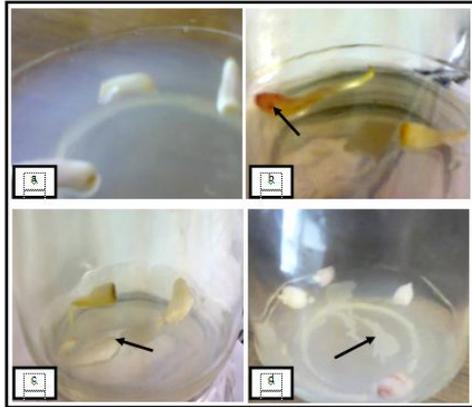
Gambar 5. Rata-rata panjang sel kalus bawang merah (*A. ascalonicum* L.) pada masing-masing perlakuan yang di cobakan. (*) = eksplan Tidak tumbuh.

g. Ukuran lebar sel kalus



Gambar 6. Rata-rata lebar sel kalus bawang merah (*A. ascalonicum* L.) pada masing-masing perlakuan yang di cobakan. PK1 (MS0+ 1 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK2 (MS0+ 1,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), PK3 (MS0+ 2 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), dan PK4 (MS0+ 2,5 ppm 2,4-D + 10% air kelapa), tanda I pada grafik menunjukkan Standar Error. (*) = eksplan Tidak tumbuh.

h. kondisi eksplan medium PK2



Gambar 7. Kondisi eksplan pada perlakuan PK2 (MS0 + 1,5 ppm 2,4-D + 10% Air kelapa

Keterangan :

- a : Kondisi eksplan pada 2 HST
- b : Tanda panah menunjukkan terbentuk pigmen warna merah pada eksplan
- c : Tanda panah menunjukkan Terjadi pembengkakan pada eksplan
- d : Tanda panah menunjukkan Terbentuk lendir pada eksplan dan media

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa, pada kultur kalus dari eksplan bawang merah (*A. ascalonicum* L.) lokal Palu, hanya tiga perlakuan yang dapat menginduksi adanya pertumbuhan kalus. Satu perlakuan PK2 (MS0 + 1,5 2,4-D + 10% air kelapa) tidak mampu menginduksi kalus, meskipun terlihat adanya tanda-tanda terbentuknya kalus yang berupa pembengkakan jaringan. Selain itu, eksplan juga menghasilkan lendir, bau khas bawang merah yang kuat serta mengalami perubahan warna eksplan dari putih menjadi coklat dan terdapat pigmen warna merah (Gambar 7). Dilihat dari tanda-tanda tersebut eksplan diduga menghasilkan metabolit sekunder yang merupakan asam fenolik yang dapat

menghambat pertumbuhan kalus. Menurut Wattimena (1988), asam-asam fenolik yang dihasilkan oleh eksplan bersama-sama dengan asam absisik (ABA) merupakan inhibitor endogen yang menghambat terbentuknya kalus. Hal ini berbeda hasil dengan penelitian Hellyanto (2008), dimana dengan perlakuan MS + 1,5 ppm 2,4-D + 1 ppm Kinetin menunjukkan nilai yang optimal dalam menginduksi kalus. Hal ini juga diduga eksplan bawang merah yang digunakan berbeda sehingga memberikan pengaruh yang berbeda pula. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini analisa data lebih lanjut dihitung didasarkan pada 3 perlakuan yang dapat menginduksi kalus.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, respon pertumbuhan kalus tercepat terlihat pada perlakuan PK3 dengan rata-rata 45 hari setelah tanam. Eksplan yang memberikan respon yang lambat yaitu perlakuan PK1 dengan rata-rata 46.33 hari setelah tanam. Jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian induksi kalus yang lain, laju pembentukan kalus pada penelitian ini termasuk lambat, karna pada penelitian sebelumnya (Hellyanto,2008) waktu pembentukan kalus hanya berkisar antara 2 sampai 3 minggu. Hal ini dimungkinkan adanya perbedaan karakter eksplan yang digunakan, sehingga mempengaruhi laju

pertumbuhan kalus. Gunawan (1992), menyatakan kondisi kultur, genotip tanaman, dan tipe eksplan akan memberikan respon yang berbeda terhadap sel, jaringan dan organ tanaman yang dikulturkan *secara in vitro*. Selain itu, laju pertumbuhan kalus dipengaruhi adanya hormon 2,4-D karena merupakan salah satu senyawa yang paling sering digunakan untuk menginduksi pembelahan sel atau menginduksi kalus (Wattimena, 1992). Hormon 2,4-D diharapkan masuk ke dalam jaringan melalui jaringan eksplan yang dilukai sehingga dapat mendorong hormon auksin endogen dari tanaman untuk menstimulasi pembelahan sel terhadap pembentukan kalus (Ulfa, 2011). Analisis ragam menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata terhadap saat munculnya kalus antara perlakuan PK1, PK3, dan PK4 (gambar 2).

Pada Parameter pengamatan persentase eksplan menghasilkan kalus tertinggi dihasilkan oleh PK3 dan PK4 dengan persentase rata-rata 80,55 sedangkan untuk persentase eksplan berkalus terendah PK1 dengan persentase rata-rata 70,83 (gambar 2). Hal ini diduga penambahan kombinasi 2,4-D dan 10% air kelapa dapat berinteraksi dengan hormon endogen pada eksplan sehingga mampu memacu dalam menghasilkan kalus. Syahid dan Natalini,

(2007); Andaryani, (2010), menjelaskan efektifitas zat pengatur tumbuh eksogen juga bergantung pada konsentrasi hormon endogen dalam jaringan tanaman sehingga memberikan pengaruh bersama terhadap pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro*. Penggunaan air kelapa dalam penelitian ini bertujuan membantu hormon 2,4-D dalam proses pembelahan sel serta membantu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan kalus. Penggunaan 10 % air kelapa dilaporkan oleh Dwi (2012), dalam induksi kalus tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) yang menunjukan penggunaan 2,4-D yang dikombinasikan dengan 10% air kelapa baik untuk menginduksi kalus tanaman anggur hijau. Hasil analisis ragam persentase pembentukan kalus disajikan pada (Gambar 2).

Data pengamatan tekstur kalus dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil pengamatan tekstur kalus yang terbentuk yaitu kompak dan intermediet. Pada PK1 dan PK4 tekstur kalus terbentuk bertipe dominan kompak dan memiliki warna kalus yang berwarna putih kecoklatan dan kekuningan serta sel relatif kecil dan seragam. Sedangkan PK3 memiliki tekstur kalus dominan intermediet, warna kalus putih kekuningan, dan sel relatif besar dan seragam. Tekstur kalus dibedakan menjadi 3

macam yaitu kompak (*non friable*), intermediet dan remah (*friable*) (Turhan, 2004). Lizawati (2012), kalus dengan struktur remah (*friable*) ikatan antar sel nya tampak renggang, kalus akan mudah dipisahkan dan mudah pecah serta sebagian kalus lengket pada pinset. Untuk kalus dengan struktur kompak (*non friable*), selnya terlihat kompak, sulit dipisahkan dan sangat padat. Turhan (2004), menyebutkan bahwa kalus intermediet merupakan kalus yang sebagian kompak dan sebagian remah.

Warna kalus (Gambar 3) yang terbentuk dari saat munculnya sampai akhir pengamatan kalus menunjukkan perubahan warna yaitu dari warna putih menjadi putih kekuningan kemudian menjadi warna kuning kecoklatan. Perubahan warna kalus tersebut menandakan terjadi penurunan pertumbuhan pada sel-sel kalus, seperti yang dideskripsikan oleh Widayanto (2004) dan (Peterson & Smith, 1991). Selanjutnya dijelaskan warna putih pada kalus menandakan sel-sel yang masih muda yang aktif membelah, warna kuning atau putih kekuningan menunjukkan bahwa sel-sel yang dewasa menuju fase pembelahan aktif, warna coklat atau kuning kecoklatan menunjukkan gejala penuaan sel atau senesen. Pengamatan sel kalus eksplan bawang merah (*A. ascalonicum* L.) yang

diamati dibawah mikroskop menunjukkan adanya pembelahan sel secara terus-menerus serta memiliki jumlah sel yang banyak (gambar 4) PK1 menunjukkan sel yang relatif lebih kecil dibandingkan medium PK3 dan PK4, hal ini dilihat dari ukuran sel kalus yang terbentuk. Tetapi, PK3 memiliki ukuran sel relatif besar dibandingkan PK4.

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa medium yang paling baik dalam menginduksi kalus tanaman bawang merah (*A. ascalonicum* L.) lokal Palu yaitu PK3 (MS0 + 2 ppm 2,4-D + 10% air kelapa). Hal ini dapat dilihat dari kecepatan pembentukkan kalus 45 HST, persentase berkalus 80,55%, tipe kalus dominan intermediet dan berwarna putih, serta memiliki ukuran sel relatif besar dan seragam. Hal ini menandakan bahwa kalus yang terbentuk bersifat embrionik. Kalus yang embriogenik ditandai dengan kalus yang berwarna putih kuning, mengkilat dan, remah (mudah dipisahkan membentuk fragmen), sedangkan kalus yang non embriogenik berwarna kuning kecoklatan, agak pucat dan lembek berair sehingga sulit dipisahkan (Peterson and Smith, 1991).

IV. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih pada ibu Weniati, S.Hut atas bantuan dan

kerjasamanya selama penelitian. Penelitian ini dibantu sebagian secara finansial oleh Pusat Studi Bioteknologi pada Lembaga Penelitian UNTAD.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Andaryani, S., 2010, *Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi Bap DAN 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Secara In Vitro*, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. 40 hal.
- Dwi PYD N.L.M., 2012, *Pengaruh Penambahan Air Kelapa Dan Berbagai Konsentrasi Hormon 2,4-D Pada Medium Ms Dalam Menginduksi Kalus Tanaman Anggur Hijau (Vitis vinifera L.)*, Jurnal Natural Science, Vol. 1.(1) 53-62.
- Ete, A., dan Alam N., 2009, *Karakteristik Mutu Bawang Goreng Palu Sebelum Penyimpanan*. Jurnal Agroland 16 (4) : 273 – 280, Desember 2009.
- Gunawan, L.W., 1988, *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*, PAU Bioteknologi, Institut pertanian bogor, Bogor.
- Gunawan, L.W., 1992, *Tehnik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan. PAU Bioteknologi, IPB. Bogor. 304 hal.
- Hellyanto, R, 2008, *Pengaruh Jenis Media Terhadap Embriogenesis Somatik Dua Kultivar Bawang Merah (Allium cepa cv. Ascalonicum L.)*, Program Studi Holtikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 52 hal.
- Hendaryono, D.P.S dan Wijayani, A., 1994, *Teknik Kultur Jaringan*, Kanisius, Yogyakarta.
- Lizawati, 2012, *Induksi Kalus Embriogenik Dari Eksplan Tunas Apikal Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Dengan Penggunaan 2,4 d dan TDZ*. Vol 1 No.2 April-Juni 2012.
- Maskar, basrum, A. Lasenggo dan M. Slamet., 2001, *Uji Multilokasi Bawang Merah Palu*. Laporan Tahun 2001. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Tengah, Palu.
- Permadi, A. H., 1995, *Pemuliaan Bawang Merah*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor.
- Peterson, G., R. Smith., 1991, *Effect of abscisic acid and callus size on regeneration of American and international rice varieties*, Plant Cell Rep10: 35-38.
- Pierik, R. L. M., 1997, *In Vitro Culture of Higher Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Syahid, S.F. dan Kristina, N.N.,2007, *Induksi dan Regenerasi Kalus Keladi Tikus (Typonium flagelliforme Lodd.) Secara In Vitro*, Jurnal Littri Vol. 13. No 4: 142-146.
- Turhan, H., 2004, *Callus Induction and Growth in Transgenic Potato Genotypes*. African Journal of Biotechnology 3(8): 375-378.
- Ulfa, M. B., 2011, *Penggunaan 2,4-D Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah*, Media

- Litbang Sulteng IV (2) : 137-141, Desember 2011.
- Van Overbeek, J., M. E. Concklin dan A. F. Blakeslee., 1941, *Factors in Coconut Milk Essential for Growth and Development of Very Young Datura Embryos*. Science 94: 350-351.
- Wattimena L. W. Gunawan, N. A. Mattjik, E. Syamsudin, N. M. A. Wiendi, dan A. Ernawati., 1992, *Bioteknologi Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi*. IPB. Bogor. 309 hal.
- _____, G. A., 1988, *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Widayanto, W., 2004, *Pengaruh 2,4-D dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan serta Kandungan Metabolit Sekunder Kalus Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.) Secara In Vitro*. Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.