Jurnal Biologi Tropis

Original Research Paper

Literature Review: The Role of Plant Growth Regulators in Embryogenic Callus Induction in *Curcuma* sp.

Nadia Riva Wikansari & Ratih Restiani*

Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta, Indonesia.

Article History
Received : August 11th, 2026
Revised : October 24h, 2026
Accepted : October 27th, 2026

*Corresponding Author: **Ratih Restiani,** Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta, Indonesia;
Email: ratih.restiani@staff.ukdw.ac.id

Abstract: Embryogenic callus development in Curcuma species depends on the type, concentration, and proportion of plant growth regulators (PGRs), particularly the interaction between auxins and cytokinins. These hormones regulate tissue dedifferentiation and influence subsequent regeneration. Although tissue culture is widely used for Curcuma propagation and conservation, callus induction efficiency varies according to species, explant type, and hormonal composition. This review discusses the effects of auxins, such as 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and naphthaleneacetic acid (NAA), alongside cytokinins, including benzylaminopurine (BAP), thidiazuron (TDZ), and kinetin, on embryogenic callus formation. Previous studies have reported promising PGR combinations, including 2,4-D at 2.0 mg/L combined with TDZ at 0.5 mg/L, although their effectiveness may differ among species. Appropriate hormonal balance is essential for improving the regenerative capacity of cultured tissues and supporting embryogenic or organogenic development. By comparing findings across Curcuma species, this review examines hormone-mediated physiological responses and challenges in protocol standardization. Further research is needed to clarify species-specific PGR requirements, the mechanisms underlying embryogenic competence, and the long-term stability of regenerated plants. Future efforts should prioritize hormone optimization, alternative PGR systems, and reproducible protocols for mass propagation, phytochemical production, and genetic resource conservation.

Keywords: Callus induction; Curcuma; Plant Growth Regulator (PGR); Plant regeneration; Tissue culture.

Pendahuluan

Curcuma merupakan salah satu genus tanaman rimpang dari famili Zingiberaceae yang memiliki nilai penting dalam bidang pangan, kesehatan, farmasi, dan industri berbasis bahan alam. Beberapa spesies *Curcuma*, seperti kunyit (*Curcuma longa* L.), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), dan *Curcuma zedoaria*, diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder bernilai tinggi, terutama kurkuminoid dan minyak atsiri. Kurkuminoid pada *Curcuma* berkontribusi terhadap berbagai aktivitas biologis dan menjadi salah satu alasan meningkatnya pemanfaatan tanaman tersebut sebagai bahan baku produk herbal, pangan fungsional, kosmetik, dan farmasi. Pada *C. longa*, misalnya, kandungan kurkuminoid merupakan komponen penting yang menjadi perhatian dalam pengembangan produk berbasis kunyit maupun dalam penelitian kultur *in vitro* untuk produksi senyawa bioaktif (Kaewthip *et al*., 2021). Selain memiliki nilai ekonomi, *Curcuma* juga memiliki nilai ilmiah karena kemampuan regenerasi vegetatifnya dan potensinya untuk dikembangkan melalui bioteknologi tanaman. Pengembangan metode perbanyakan yang efisien menjadi semakin penting seiring dengan meningkatnya kebutuhan terhadap bahan tanaman yang seragam, sehat, dan memiliki karakteristik unggul.

Secara alami, tanaman *Curcuma* umumnya diperbanyak secara vegetatif menggunakan rimpang. Rimpang berfungsi sebagai organ penyimpan cadangan makanan sekaligus sumber pertumbuhan tunas baru. Namun, perbanyakan konvensional melalui rimpang memiliki keterbatasan berupa rendahnya tingkat multiplikasi sehingga jumlah bahan tanam yang dapat dihasilkan dalam satu

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

© 2026 The Author(s). This article is open access

periode relatif terbatas. Penelitian terbaru pada *C. longa* cv. Trang 1 juga menunjukkan bahwa produktivitas rimpang yang rendah dan keterbatasan perbanyakan vegetatif konvensional menjadi kendala dalam pengembangan produksi tanaman secara komersial (Boonprasert *et al*., 2025). Oleh karena itu, diperlukan pendekatan alternatif yang mampu menghasilkan tanaman dalam jumlah lebih banyak dengan waktu dan ruang yang lebih efisien.

Salah satu pendekatan yang dapat digunakan adalah kultur jaringan atau kultur *in vitro*. Kultur jaringan memungkinkan sel, jaringan, atau organ tanaman dikultur secara aseptik pada media buatan yang mengandung nutrisi dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Melalui pengaturan kondisi kultur dan komposisi media, jaringan tanaman dapat diarahkan untuk mengalami pembelahan sel, dediferensiasi, pembentukan organ, hingga regenerasi menjadi tanaman utuh. Penerapan teknik *in vitro* pada genus *Curcuma* telah menunjukkan potensi dalam menghasilkan tanaman yang seragam secara morfologi dan genetik. Jena *et al*. (2020), misalnya, berhasil mengembangkan protokol mikropropagasi *C. zedoaria* dan menunjukkan bahwa tanaman hasil kultur *in vitro* memiliki keseragaman genetik serta karakteristik kimia yang sebanding dengan tanaman induknya.

Salah satu sistem penting dalam kultur jaringan adalah kultur kalus. Kalus merupakan kumpulan sel yang mengalami dediferensiasi dan proliferasi sebagai respons terhadap kondisi kultur serta keberadaan ZPT. Kalus yang memiliki kemampuan regeneratif dapat diarahkan untuk membentuk tunas dan akar melalui proses organogenesis atau membentuk embrio somatik melalui embriogenesis somatik. Oleh sebab itu, keberhasilan induksi kalus menjadi salah satu tahap penting dalam pengembangan sistem regenerasi *in vitro*. Pada *C. longa*, Kaewthip *et al*. (2021) menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi 2,4-D, TDZ, dan BA dapat menghasilkan respons induksi kalus yang berbeda, dengan kalus remah (*friable callus*) berhasil diperoleh dari eksplan pelepah daun pada media MS yang mengandung 0,50 mg/L 2,4-D.

Keberhasilan induksi dan regenerasi kalus sangat dipengaruhi oleh ZPT atau *Plant Growth Regulators* (PGRs). ZPT merupakan senyawa yang mengatur berbagai proses fisiologis tanaman, termasuk pembelahan, pemanjangan, dediferensiasi, dan diferensiasi sel. Dalam kultur jaringan, auksin dan sitokinin merupakan dua kelompok ZPT yang paling banyak digunakan untuk mengendalikan respons morfogenetik eksplan. Auksin sintetis seperti 2,4-D dan NAA banyak digunakan untuk menginduksi dediferensiasi dan pembentukan kalus, sedangkan sitokinin seperti BAP/BA, kinetin, dan TDZ berperan dalam proliferasi serta pembentukan tunas. Perbedaan jenis dan konsentrasi ZPT dapat menghasilkan respons yang berbeda pada eksplan maupun spesies *Curcuma*, sehingga komposisi ZPT perlu dioptimalkan untuk memperoleh kalus yang tidak hanya tumbuh dengan baik, tetapi juga memiliki kompetensi regenerasi.

Meskipun kultur *in vitro* memiliki potensi besar untuk mengatasi keterbatasan perbanyakan konvensional, pengembangan protokol kultur *Curcuma* masih menghadapi beberapa permasalahan. Salah satu kendala utama adalah keterbatasan bahan tanam dan rendahnya multiplikasi melalui rimpang. Penggunaan rimpang sebagai sumber eksplan juga memerlukan proses sterilisasi yang tepat karena jaringan yang berasal dari organ bawah tanah memiliki risiko membawa mikroorganisme. Kaewthip *et al*. (2021) menunjukkan bahwa proses sterilisasi eksplan rimpang *C. longa* merupakan tahapan penting untuk memperoleh bahan tanaman yang dapat dikultur secara aseptik.

Permasalahan lainnya adalah adanya variasi respons terhadap jenis dan konsentrasi ZPT. Tidak semua kombinasi ZPT menghasilkan kalus dengan karakteristik yang sama. Kalus yang terbentuk dapat memiliki tekstur kompak atau remah, warna yang berbeda, serta kemampuan regenerasi yang berbeda pula. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa keberhasilan kultur kalus tidak hanya ditentukan oleh kemampuan jaringan membentuk kalus, tetapi juga oleh kualitas dan kompetensi regeneratif kalus yang dihasilkan. Dengan demikian, optimasi kombinasi auksin dan sitokinin menjadi aspek penting dalam pengembangan protokol kultur kalus *Curcuma*.

Selain itu, sebagian penelitian pada *Curcuma* lebih banyak berfokus pada mikropropagasi melalui tunas atau organ tertentu dibandingkan pada pengembangan sistem kultur kalus yang dapat digunakan sebagai sumber regenerasi maupun produksi metabolit sekunder. Padahal, kultur kalus memiliki potensi untuk menghasilkan biomassa dalam jumlah besar dan dapat dimanfaatkan sebagai sistem produksi senyawa bioaktif secara *in vitro*. Oleh karena itu,

diperlukan kajian yang secara khusus membandingkan respons berbagai kombinasi ZPT terhadap induksi kalus serta kemampuan regenerasinya pada tanaman *Curcuma*.

Penelitian mengenai kultur *in vitro* *Curcuma* telah berkembang dari sekadar perbanyakan tanaman menuju pengembangan sistem regenerasi yang efisien dan dapat menghasilkan bahan tanaman yang seragam. Jena *et al*. (2020) menunjukkan bahwa mikropropagasi *C. zedoaria* dapat menghasilkan tanaman yang secara morfologi dan genetik seragam serta memiliki profil kimia yang sebanding dengan tanaman induknya. Hasil tersebut memperkuat potensi kultur *in vitro* sebagai metode perbanyakan tanaman *Curcuma* yang lebih efisien dan terkontrol.

Pada aspek kultur kalus, Kaewthip *et al*. (2021) telah menunjukkan bahwa jenis eksplan dan konsentrasi ZPT berpengaruh terhadap keberhasilan induksi kalus *C. longa*. Penelitian tersebut menguji 2,4-D, TDZ, dan BA pada media MS dan mendapatkan hasil bahwa eksplan pelepah daun yang diberi 0,50 mg/L 2,4-D menghasilkan induksi kalus remah tertinggi. Temuan tersebut menunjukkan bahwa 2,4-D memiliki peran penting dalam pembentukan kalus pada *C. longa*, tetapi sekaligus menunjukkan bahwa respons kalus sangat dipengaruhi oleh sumber eksplan dan formulasi ZPT yang digunakan.

Penelitian terbaru oleh Boonprasert *et al*. (2025) juga memperlihatkan bahwa pengembangan protokol mikropropagasi *C. longa* perlu mempertimbangkan optimasi berbagai ZPT, termasuk BA, TDZ, meta-topolin, IBA, dan NAA, pada tahapan perbanyakan tunas, perakaran, dan aklimatisasi. Penelitian tersebut menegaskan bahwa pemilihan serta kombinasi ZPT merupakan komponen penting dalam memperoleh sistem perbanyakan *Curcuma* yang efisien.

Berdasarkan perkembangan penelitian tersebut, masih terdapat ruang untuk mengkaji secara lebih sistematis hubungan antara kombinasi dan konsentrasi ZPT dengan keberhasilan induksi kalus serta potensi regenerasi kalus *Curcuma*. Oleh karena itu, kebaruan kajian ini diarahkan pada perbandingan berbagai kombinasi auksin dan sitokinin untuk mengidentifikasi formulasi ZPT yang mampu menghasilkan kalus dengan karakteristik optimal dan kompetensi regenerasi yang tinggi. Pendekatan ini tidak hanya mempertimbangkan persentase pembentukan kalus, tetapi juga karakteristik kalus yang dihasilkan sebagai indikator awal keberhasilan menuju tahap regenerasi.

Berdasarkan permasalahan dan perkembangan penelitian tersebut, review ini bertujuan untuk menganalisis dan membandingkan pengaruh berbagai kombinasi ZPT terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman *Curcuma*. Kajian difokuskan pada peran auksin dan sitokinin, jenis serta konsentrasi ZPT yang digunakan, respons pembentukan kalus, karakteristik kalus yang dihasilkan, dan potensi regenerasinya. Dengan membandingkan hasil berbagai penelitian, diharapkan dapat diperoleh informasi mengenai kombinasi ZPT yang paling potensial untuk mendukung pembentukan kalus yang memiliki kompetensi regeneratif.

Kajian ini memiliki urgensi dalam mendukung pengembangan metode perbanyakan *Curcuma* yang lebih cepat, efisien, dan terkontrol. Optimasi kultur kalus dapat menjadi dasar bagi pengembangan produksi bibit dalam jumlah besar sekaligus menyediakan sistem yang berpotensi digunakan untuk konservasi plasma nutfah dan produksi metabolit sekunder secara *in vitro*. Keberhasilan pengembangan protokol *in vitro* juga dapat membantu mengurangi ketergantungan terhadap perbanyakan melalui rimpang serta mendukung penyediaan bahan tanaman yang seragam dan berkualitas untuk kebutuhan penelitian maupun industri. Dengan demikian, pemahaman mengenai interaksi antara jenis dan konsentrasi ZPT dengan respons kalus menjadi bagian penting dalam pengembangan teknologi kultur jaringan *Curcuma* yang berkelanjutan.

Bahan dan Metode

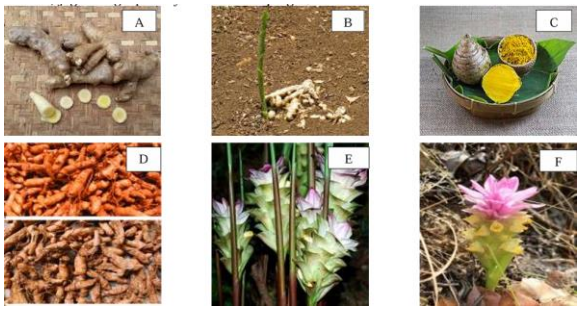
Penelitian ini disusun menggunakan metode literature review melalui tahapan penelusuran, seleksi, dan analisis terhadap publikasi ilmiah yang diterbitkan pada periode 2015–2025. Literatur yang dikaji mencakup artikel dari jurnal nasional terakreditasi Sinta 1–2 serta jurnal internasional bereputasi yang terindeks Scopus. Penelusuran awal dilakukan dengan memanfaatkan SciSpace AI untuk mengidentifikasi publikasi yang sesuai dengan fokus kajian. Selanjutnya, kredibilitas artikel dan informasi sitasinya diperiksa melalui Google Scholar, sedangkan status indeksasi jurnal diverifikasi menggunakan Scimago Journal Rank (SJR) atau Sinta. Proses pencarian menggunakan

kata kunci yang berkaitan dengan zat pengatur tumbuh, induksi kalus, dan Curcuma. Dari sekitar 100 artikel yang berhasil dihimpun, dilakukan penyaringan berdasarkan relevansi terhadap topik penelitian dan ketersediaan data yang memadai. Berdasarkan kriteria tersebut, sebanyak 30 artikel dipilih sebagai sumber utama untuk dianalisis dan disintesis dalam pembahasan literature review ini.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik dan Pemanfaatan Genus Curcuma

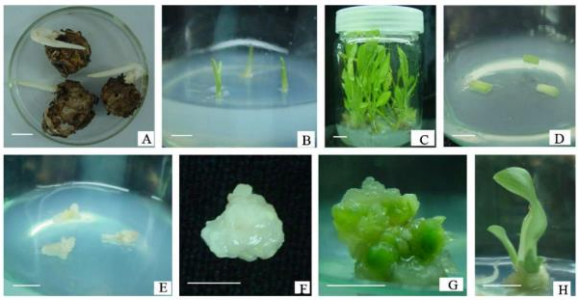
Curcuma merupakan genus tanaman herba tropis yang termasuk dalam famili Zingiberaceae dan terdiri atas lebih dari 80 spesies yang tersebar di berbagai wilayah Asia. Genus ini memiliki rimpang (rhizome) yang berperan penting sebagai tempat penyimpanan cadangan nutrisi sekaligus lokasi biosintesis berbagai senyawa bioaktif (Zhu et al., 2023). Salah satu spesies yang banyak dikenal adalah Curcuma longa, yang memiliki batang semu, daun berbentuk lanset yang tumbuh dari pangkal tanaman, serta rimpang dengan warna kuning hingga oranye pada bagian dalam dan aroma yang khas.



Gambar 1. A. Rimpang *Curcuma longa* (Wikimedia Commons, 2020); Gambar B. Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* (Wikimedia Commons, 2019); Gambar C. Rimpang *Curcuma amada* (ResearchGate, 2018); Gambar D. Rimpang *Curcuma amada* (Royal Botanic Gardens Kew, n.d.); Gambar E. Bunga *Curcuma attenuata* (Gingerwood Nursery, 2018); Gambar 6. Tanaman *Curcuma attenuata* berbunga (Pacific Bulb Society, 2019); Gambar F. Rimpang dan bunga *Curcuma aromatica* (Wikimedia Commons, 2020); Gambar F. Tanaman *Curcuma aromatica* di habitat alami (Frustrated Gardener, 2013).

Perbanyakan tanaman ini umumnya dilakukan secara vegetatif melalui pemisahan rimpang atau anakan, sehingga berpotensi dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan bibit dalam jumlah besar (Iweala et al., 2023). Selain itu, spesies lain, seperti Curcuma alismatifolia yang dimanfaatkan sebagai tanaman hias dan Curcuma zanthorrhiza atau temulawak, juga memiliki nilai ekonomi dalam bidang pangan, farmasi, dan hortikultura.

Rimpang Curcuma menjadi bagian tanaman yang paling banyak dimanfaatkan sebagai bumbu, sumber pewarna alami, dan bahan pengobatan tradisional karena mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti kurkuminoid, flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri. Sebaliknya, pemanfaatan daun dan bunganya masih relatif terbatas (Liu *et al.,* 2022). Dalam bidang kesehatan dan industri, genus Curcuma memiliki nilai ekonomi yang cukup besar. Kurkumin yang terkandung dalam rimpang Curcuma longa, misalnya, diketahui mempunyai beragam aktivitas biologis, termasuk sebagai anti-inflamasi, antioksidan, dan antimikroba, serta menunjukkan potensi dalam pengembangan agen antitumor.



Tahapan regenerasi tanaman langsung dan melalui kalus pada C. *soloensis* (batang = 5 mm). **Gambar 2**. (A) Rimpang sebagai bahan awal. (B) Tunas in vitro setelah 1 minggu. (C) Multiplikasi tunas pada media dengan 1,5 M TDZ selama 30 hari. (D) Pangkal tunas digunakan untuk induksi kalus. (E) Induksi kalus pada media MS + 2,5 M TDZ, 2,0 M BA, dan 1,2 M 2,4-D di tempat gelap (2 minggu). (F) Kalus setelah 30 hari. (G) Pembentukan primordia tunas pada media MS + 2,5 M TDZ, 9,0 M BA, dan 1,2 M NAA (2 minggu). (H) Tunas berkembang setelah 3 minggu di bawah cahaya. Sumber (Iqbal *et al*., 2024).

Karakteristik tersebut mendukung pemanfaatannya sebagai bahan baku dalam pengembangan fitofarmaka dan produk pangan fungsional (Fuloria *et al*., 2022). Dengan demikian, penelitian mengenai variasi morfologi rimpang antar galur, perbedaan kandungan metabolit sekunder, serta keberhasilan perbanyakan vegetatif menjadi aspek penting dalam pemilihan galur unggul. Hasil kajian tersebut dapat menjadi dasar untuk meningkatkan produktivitas rimpang sekaligus

mendukung pengembangan produk berbasis Curcuma yang memiliki nilai tambah.

Prinsip dan Aplikasi Kultur *In vitro* pada Tanaman Obat Genus Curcuma

Teknik kultur in vitro merupakan metode bioteknologi yang dimanfaatkan untuk memperbanyak tanaman serta mendukung produksi senyawa bioaktif melalui pemanfaatan sel dan jaringan tumbuhan. Pelaksanaannya dilakukan dengan menumbuhkan eksplan berupa sel, jaringan, atau organ tanaman pada media nutrisi buatan dalam lingkungan steril yang kondisi pertumbuhannya dapat dikendalikan. Proses ini melibatkan beberapa tahapan, mulai dari sterilisasi eksplan dan penanaman pada media, hingga penyesuaian komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) serta kondisi lingkungan, termasuk suhu dan pencahayaan (Dar et al., 2021). Pengaturan faktor-faktor tersebut memungkinkan pertumbuhan dan perkembangan jaringan berlangsung sesuai tujuan kultur. Penerapan kultur in vitro juga mendukung penyediaan bibit yang seragam dalam waktu relatif singkat serta mengurangi risiko kontaminasi patogen. Selain untuk perbanyakan, teknik ini dapat dimanfaatkan dalam penelitian fisiologi tumbuhan dan produksi metabolit sekunder di bawah kondisi yang terkontrol tanpa bergantung pada musim (Espinosa-Leal et al., 2018).

Kultur in vitro memiliki beberapa keunggulan dalam pengembangan dan pelestarian tanaman. Salah satunya adalah kemampuannya menghasilkan bibit dalam jumlah besar melalui perbanyakan massal (*mass propagation*). Kondisi kultur yang steril juga dapat membantu menghasilkan bahan tanaman bebas patogen, meskipun status bebas virus memerlukan prosedur khusus dan pengujian yang sesuai. Keunggulan lainnya mencakup konservasi plasma nutfah dan spesies langka melalui penyimpanan in vitro maupun kriopreservasi. Di samping itu, teknik ini dapat digunakan untuk menghasilkan metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, dan terpenoid, yang berpotensi dimanfaatkan dalam bidang farmasi (Chandran et al., 2020). Berbagai manfaat tersebut menjadikan kultur jaringan sebagai salah satu pendekatan bioteknologi yang mendukung pengembangan tanaman secara efisien dan berkelanjutan.

Pada genus Curcuma, beberapa pendekatan kultur in vitro yang dapat diterapkan meliputi kultur tunas, kultur rimpang, kultur suspensi sel, kultur embrio somatik, dan kultur kalus. Setiap metode memiliki karakteristik serta tujuan yang berbeda, tetapi secara umum diarahkan untuk mendukung perbanyakan, pertumbuhan, atau regenerasi tanaman (Long et al., 2022). Kultur tunas memanfaatkan bagian tanaman, seperti nodus dan mata tunas, untuk menghasilkan tunas baru. Sementara itu, kultur suspensi sel dilakukan dengan menumbuhkan sel dalam medium cair sehingga biomassa sel dapat dikembangkan untuk penelitian maupun produksi metabolit sekunder. Kultur embrio somatik memungkinkan pembentukan struktur menyerupai embrio dari sel somatik tanpa melalui fertilisasi. Di antara metode tersebut, kultur kalus banyak mendapat perhatian karena dapat dimanfaatkan untuk pembentukan biomassa, penelitian regenerasi, dan produksi senyawa bioaktif.

Penerapan kultur in vitro juga penting dalam pengembangan tanaman obat, terutama bagi spesies yang pertumbuhannya relatif lambat atau sulit diperbanyak menggunakan metode konvensional. Melalui teknik ini, perbanyakan dan regenerasi tanaman dapat dilakukan dalam kondisi yang terkontrol sehingga ketergantungan terhadap lingkungan alami dan perubahan musim dapat dikurangi. Menurut Espinosa-Leal et al. (2018), kultur jaringan berpotensi mendukung penyediaan bahan tanaman obat yang seragam sekaligus memfasilitasi produksi senyawa bioaktif dalam lingkungan laboratorium. Teknik tersebut juga berkontribusi terhadap upaya pelestarian sumber daya genetik, khususnya pada spesies yang keberadaannya terbatas atau terancam punah (Chandran *et al.,* 2020).

Salah satu metode yang banyak digunakan dalam penelitian bioteknologi tanaman obat adalah kultur kalus. Metode ini melibatkan pembentukan kumpulan sel yang belum terdiferensiasi dari eksplan yang ditanam pada media dengan komposisi ZPT tertentu. Auksin dan sitokinin merupakan kelompok hormon yang umum digunakan untuk mengatur proses pembentukan dan pertumbuhan kalus (Dar et al., 2021). Selanjutnya, jaringan yang terbentuk dapat diarahkan menuju pembentukan organ melalui organogenesis atau pembentukan embrio somatik, bergantung pada kondisi kultur dan kombinasi hormon yang diberikan. Fleksibilitas dalam pengaturan kondisi pertumbuhan menjadikan kultur kalus berguna untuk penelitian regenerasi, perbanyakan jaringan, serta pengembangan sistem produksi biomassa

secara in vitro (Okello et al., 2021).

Selain mendukung regenerasi tanaman, kultur kalus berpotensi dimanfaatkan sebagai sistem produksi metabolit sekunder. Produktivitas senyawa bioaktif dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor, antara lain jenis dan konsentrasi ZPT, kondisi pencahayaan, serta pemberian elisitor yang sesuai. Iqbal et al. (2024) melaporkan bahwa penerapan teknologi nano pada kultur kalus Curcuma longa berpotensi meningkatkan pembentukan kalus, pertumbuhan jaringan, dan produksi kurkuminoid yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian lain oleh Abdelazeez et al. (2025) pada Scutellaria baicalensis menunjukkan potensi kultur kalus dalam menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Temuan tersebut memperlihatkan bahwa kultur kalus dapat dikembangkan bukan hanya untuk mendukung perbanyakan tanaman, tetapi juga sebagai platform bioteknologi dalam produksi senyawa bioaktif yang bernilai ekonomi. Pengembangan metode ini diharapkan dapat mendukung penyediaan bahan baku alami secara lebih terkendali sekaligus mengurangi ketergantungan pada pemanenan tanaman langsung dari habitat alaminya.

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Efektivitas Induksi Kalus Tanaman Curcuma dalam Kultur *In vitro*

Pelaksanaan kultur *in vitro* dapat mengalami sejumlah hambatan, di antaranya kontaminasi mikroorganisme, rendahnya kemampuan eksplan dalam merespons proses induksi, serta munculnya gangguan fisiologis berupa hiperhidrasi dan pencokelatan akibat oksidasi senyawa fenolik. Kondisi tersebut dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan jaringan selama proses kultur. Salah satu faktor yang memengaruhi keberhasilan kultur adalah komposisi media yang harus menyediakan unsur hara makro dan mikro, vitamin, serta sumber karbon dalam proporsi yang sesuai untuk menunjang dediferensiasi sel dan pembentukan kalus (Sidik *et al*., 2024). Selain itu, keseimbangan antara auksin dan sitokinin berperan dalam mengendalikan respons perkembangan jaringan, sehingga pembentukan kalus dapat berlangsung sesuai tujuan kultur (Dar *et al*., 2021). Jenis serta umur eksplan juga perlu diperhatikan karena jaringan muda yang memiliki aktivitas meristematik umumnya menunjukkan kemampuan regenerasi yang lebih tinggi dibandingkan jaringan yang lebih tua (Haris *et al*., 2025). Faktor lingkungan, seperti pH media, kelembapan, jenis bahan pemadat (*gelling agent*), dan kondisi fisik maupun kimia lainnya, turut memengaruhi keberhasilan pertumbuhan eksplan. Ketidaksesuaian kondisi tersebut dapat menghambat perkembangan jaringan hingga menyebabkan kematian eksplan (Pasternak & Steinmacher, 2024).

Untuk meningkatkan keberhasilan kultur, diperlukan pengembangan dan penyempurnaan protokol melalui rancangan percobaan yang terstruktur. Pendekatan ini memungkinkan pengujian pengaruh serta interaksi antara komposisi media, karakteristik eksplan, dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT). Keberhasilan kultur juga dapat ditingkatkan melalui penyempurnaan metode sterilisasi, penanganan dan pemotongan eksplan yang tepat, serta penggunaan bahan tambahan, seperti antioksidan atau adsorben arang aktif, untuk mengurangi dampak oksidasi fenolik. Dengan demikian, keberhasilan induksi kalus ditentukan oleh keterpaduan antara kecukupan nutrisi, keseimbangan hormonal, kondisi fisiologis eksplan, dan pengendalian lingkungan kultur. Pengaturan seluruh faktor tersebut secara sistematis diharapkan dapat meningkatkan konsistensi dan efisiensi regenerasi jaringan (Song *et al*., 2023).

Berdasarkan berbagai faktor yang memengaruhi pembentukan kalus tersebut, pengaturan jenis dan konsentrasi ZPT menjadi salah satu aspek penting dalam menentukan respons jaringan pada genus *Curcuma*. Oleh sebab itu, hasil penelitian terdahulu mengenai penggunaan kombinasi auksin dan sitokinin perlu ditelaah untuk mengetahui pengaruhnya terhadap keberhasilan induksi kalus. Ringkasan mengenai berbagai formulasi ZPT beserta respons pembentukan kalus yang dilaporkan pada spesies *Curcuma* disajikan pada Tabel 1 sebagai dasar untuk membandingkan hasil penelitian dan mengidentifikasi kombinasi hormon yang potensial.

Tabel 1. Perbandingan hasil penelitian dan mengidentifikasi kombinasi hormon yang potensial

No	Judul Artikel	Hasil Penelitian	Referensi
1	Growth Regulators Affect the Growth and Biochemical Activity of *Curcuma longa* Plants Grown *in vitro*.	ZPT secara signifikan meningkatkan pertumbuhan jumlah tunas dan panjang tunas (perlakuan terbaik).	Ferrari *et al*., (2019)
2	Benzylaminopurine Induces High-Frequency Multiplication In Vulnerable *Curcuma Pseudomontana* J. Graham.: A Potential Ex Vivo Conservation Tool	Tunas mencapai panjang rata-rata 6,40 ± 0,36 cm.	Vaze *et al*., (2024)
3	High-frequency callus organogenesis, large-scale cultivation and assessment of clonal fidelity of regenerated plants of *Curcuma caesia* Roxb., an important source of camphor	Tingkat induksi kalus optimal sebesar 84% tercapai ketika eksplan tunas dikultur pada MS dengan kombinasi ZPT 2,4-D 6,7 µM + NAA 2,7 µM.	Jose & Thomas, (2015)
4	Pengaruh Kosentrasi Naa Dan Tdz (*Thidiazuron*) Terhadap Organogenesis Kalus Kencur (*Kaempferia Galanga* L.)	Memberikan jumlah tunas terbanyak (rata-rata 3,10 tunas) serta kombinasi ini mendorong pertumbuhan organogenesis kalus secara optimal.	Kholifah *et al*., (2022)
5	*In vitro* Propagation, Evaluation of Antioxidant Activities, and Phytochemical Profiling of Wild and *In vitro*-Cultured Plants of *Curcuma larsenii* Maknoi & Jenjitikul—A Rare Plant Species in Thailand	Kombinasi BA 3 mg/L + NAA 0,5 mg/L menghasilkan kalus padat dan akar terbanyak.	Saensouk *et al*., (2024)
6	Clonal propagation of turmeric (*Curcuma longa*) and confirmation of genetic fidelity of the micropropagated shoots by RAPD markers	Kombinasi BAP 20,0 mg/L + NAA 0,5 mg/L menghasilkan regenerasi tertinggi, yaitu 4,42 tunas per eksplan. Eksplan tunas juga menunjukkan persentase regenerasi tertinggi sebesar 72,49%.	Rani *et al*., (2024)
7	*In vitro* Shoot Multiplication of *Curcuma xanthorrhiza* with Coconut Water and Banana Extract Nutrient	Kombinasi alami ini mempercepat pertumbuhan kalus dan tunas dibanding kontrol.	Andini & Yunus, (2020)
8	*In vitro* multiplication and acclimatization of black galingale (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)	Menghasilkan jumlah tunas terbanyak (3,38 tunas/eksplan) dan tinggi plantlet tertinggi (2,51 cm).	Khumaida *et al*., (2019)
9	*In vitro* propagation of red ginger (*Zingiber officinale* Roxb. var. Rubrum) in different concentrations of sucrose and growth regulator	Tunas mulai muncul (*bud break*) dalam 13–14 hari dan jumlah tunas per eksplan: rata-rata 6,33 tunas.	(Inderiati *et al*., 2023)
10	Callus indu ction, direct and indirect organogenesis of ginger (*Zingiber officinale* Rosc).	Induksi kalus awal 2,4-D 1,00 mg/L paling efektif. Untuk subkultur kalus, 2,4-D 0,5 mg/L saja sudah optimal. Organogenesis langsung jumlah tunas dan akar tetinggi yaitu pada 4,5 mg/L BAP. Organogenesis tidak langsung kombinasi 1,00 mg/L dan 0,5 mg/L NAA optimal untuk menginduksi tunas dan akar dari kalus.	Ammar et al., (2016)

Pengaruh Jenis Eksplan dan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh terhadap Regenerasi *In vitro Curcuma longa* L

Perbanyakan tanaman melalui kultur in vitro pada genus Curcuma masih memiliki beberapa kendala, terutama karena setiap spesies dan jenis eksplan dapat memberikan respons yang berbeda terhadap kondisi kultur. Penggunaan satu protokol yang sama belum tentu menghasilkan keberhasilan yang optimal pada semua spesies. Salah satu hal yang perlu diperhatikan adalah pemilihan jenis dan ukuran eksplan, seperti rimpang, tunas rumpun, ujung pucuk, dan daun. Setiap bagian tanaman memiliki karakteristik jaringan meristematik dan kondisi fisiologis yang berbeda. Oleh karena itu, ukuran eksplan yang tidak sesuai dapat memengaruhi keberhasilan sterilisasi,

pembentukan kultur awal, hingga proses regenerasi tanaman (Chintakovid et al., 2021). Pada genus Curcuma, rimpang dan tunas rimpang sering digunakan untuk menghasilkan tunas maupun plantlet karena memiliki jaringan meristematik aktif dan cadangan nutrisi yang mendukung pertumbuhan. Sebaliknya, penggunaan daun atau batang dapat lebih diarahkan pada pembentukan kalus, bergantung pada komposisi serta keseimbangan auksin dan sitokinin dalam media kultur (Fonsekage et al., 2021).

Pemilihan eksplan juga perlu disesuaikan dengan tujuan perbanyakan yang ingin dicapai. Rimpang atau tunas rimpang (rhizome buds atau sprouted rhizome) banyak digunakan pada tahap inisiasi dan multiplikasi karena mampu mendukung pembentukan tunas baru secara langsung. Respons tersebut berkaitan dengan keberadaan jaringan meristematik dan cadangan nutrisi yang tersedia pada eksplan. Meskipun demikian, kemampuan setiap eksplan dalam membentuk kalus tidak selalu sama. Eksplan rimpang cenderung mengalami organogenesis ketika ditumbuhkan pada media dengan sitokinin, seperti BAP, sedangkan eksplan daun dan potongan batang dapat lebih responsif terhadap induksi kalus pada kondisi dengan auksin yang lebih dominan, misalnya 2,4-D (NS et al., 2020). Perbedaan ini menunjukkan bahwa pemilihan metode kultur perlu mempertimbangkan jenis eksplan dan jalur regenerasi yang diharapkan, baik melalui organogenesis maupun embriogenesis somatik.

Selain karakteristik eksplan, komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) turut menentukan keberhasilan kultur. BAP (6-benzylaminopurine) merupakan sitokinin yang umum digunakan untuk merangsang pembelahan sel dan pembentukan tunas. Sementara itu, kelompok auksin, seperti NAA (naphthaleneacetic acid), IAA, dan 2,4-D, berperan dalam pengaturan pertumbuhan jaringan, termasuk induksi kalus dan proses diferensiasi. Penggunaan kedua kelompok hormon tersebut perlu disesuaikan agar pertumbuhan jaringan dapat berlangsung sesuai tujuan kultur. Kombinasi auksin dan sitokinin dapat mendukung tahapan regenerasi yang berbeda, mulai dari pembentukan kalus hingga pembentukan tunas dan akar. Sebaliknya, pemberian sitokinin dalam konsentrasi tinggi tanpa penyesuaian komponen hormon lainnya berpotensi menyebabkan pertumbuhan tunas yang tidak normal, menghambat pemanjangan tunas, atau menurunkan kemampuan regenerasi jaringan (Fonsekage et al., 2021; Rahmat et al., 2021).

Perbedaan respons terhadap kombinasi ZPT dapat dilihat dari penelitian Rani et al. (2024) pada Curcuma longa. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan BAP bersama NAA berpengaruh terhadap regenerasi tunas. Kombinasi BAP 20,0 mg/L dan NAA 0,5 mg/L menghasilkan rata-rata 4,42 tunas pada setiap eksplan, sedangkan persentase regenerasi tertinggi yang dilaporkan pada eksplan tunas mencapai 72,49%. Hasil ini memperlihatkan bahwa BAP dapat mendukung pembentukan dan perbanyakan tunas, sementara penambahan NAA pada onsentrasi tertentu turut memengaruhi respons perkembangan jaringan. Dengan demikian, keberhasilan regenerasi tidak hanya berkaitan dengan konsentrasi sitokinin, tetapi juga dengan komposisi hormon lain yang digunakan dalam media kultur (Rani et al., 2024).

Hasil penelitian tersebut dapat dibandingkan dengan kajian Ferrari et al. (2019), yang menggunakan kombinasi BAP 4,44 µM, kinetin (KIN) 0,46 µM, dan NAA 1,08 µM. Konsentrasi tersebut setara dengan sekitar 1,0 mg/L BAP, 0,10 mg/L KIN, dan 0,24 mg/L NAA. Kombinasi ketiga ZPT tersebut dilaporkan mampu meningkatkan jumlah serta panjang tunas dibandingkan perlakuan BAP tunggal. Temuan ini menunjukkan bahwa penambahan kinetin dan NAA dapat memberikan respons pertumbuhan yang berbeda ketika dikombinasikan dengan BAP. Jika dibandingkan dengan penelitian Rani et al. (2024), kedua penelitian tersebut memperlihatkan bahwa formulasi ZPT yang berbeda dapat menghasilkan respons regenerasi yang berbeda pula. Rani et al. (2024) menekankan penggunaan kombinasi BAP dan NAA, sedangkan Ferrari et al. (2019) menunjukkan potensi kombinasi BAP, kinetin, dan NAA dalam mendukung pembentukan serta pemanjangan tunas. Oleh karena itu, komposisi ZPT perlu disesuaikan dengan karakteristik eksplan dan tujuan kultur karena tidak ada satu formulasi yang dapat langsung dianggap paling sesuai untuk seluruh kondisi perbanyakan C. longa.

Perbandingan kedua penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ZPT tidak selalu diikuti oleh peningkatan pertumbuhan tanaman. Respons eksplan dipengaruhi oleh interaksi antara jenis dan konsentrasi hormon serta kondisi fisiologis jaringan yang digunakan. Pada penelitian Rani et

al. (2024), konsentrasi BAP yang relatif tinggi menghasilkan respons regenerasi yang baik ketika dikombinasikan dengan NAA pada konsentrasi tertentu. Di sisi lain, Ferrari et al. (2019) melaporkan bahwa kombinasi BAP, kinetin, dan NAA pada konsentrasi yang lebih rendah juga dapat mendukung proliferasi dan pemanjangan tunas. Kedua hasil tersebut memperlihatkan bahwa penentuan konsentrasi ZPT yang sesuai harus dilakukan melalui pengujian, dengan mempertimbangkan jenis eksplan, komposisi hormon, dan hasil regenerasi yang ingin diperoleh (Ferrari et al., 2019; Rani et al., 2024).

Berdasarkan temuan tersebut, perbanyakan Curcuma secara in vitro perlu memperhatikan pemilihan eksplan, keseimbangan ZPT, dan tujuan kultur. Penggunaan rimpang atau tunas rimpang berukuran sedang, sekitar 0,5–2 cm, dapat dipertimbangkan untuk mendukung proses inisiasi dengan tetap memperhatikan risiko kontaminasi dan nekrosis. Selain itu, kombinasi sitokinin dan auksin perlu diuji untuk memperoleh respons regenerasi yang sesuai. Optimasi protokol juga sebaiknya dilakukan secara bertahap agar kondisi kultur dapat disesuaikan dengan kebutuhan induksi kalus maupun pembentukan organ. Pendekatan ini penting karena keberhasilan kultur tidak hanya ditentukan oleh satu faktor, tetapi oleh kesesuaian antara eksplan, media, dan perlakuan hormonal.

Berdasarkan penelitian yang dirangkum dalam Tabel 1, sebagian besar studi perbanyakan in vitro pada genus Curcuma menggunakan tunas rimpang (microshoots) atau rimpang muda sebagai bahan eksplan. Pemilihan tersebut berkaitan dengan keberadaan jaringan meristematik dan cadangan nutrisi yang dapat menunjang pembentukan tunas secara langsung melalui organogenesis. Sebagai contoh, Vaze et al. (2024) menggunakan tunas rimpang Curcuma pseudomontana pada media MS yang mengandung BAP 2 mg/L. Perlakuan tersebut menghasilkan tunas dengan panjang rata-rata 6,40 ± 0,36 cm. Hasil ini menunjukkan bahwa eksplan dari rimpang dapat mendukung pertumbuhan dan pemanjangan tunas pada kondisi media yang sesuai. Berbeda dengan penelitian tersebut, Jose dan Thomas (2015) melaporkan bahwa segmen tunas Curcuma caesia mengalami pembentukan kalus dengan tingkat induksi sebesar 84% ketika ditumbuhkan pada media yang mengandung 2,4-D 6,7 µM dan NAA 2,7 µM. Perbedaan respons ini memperlihatkan bahwa jenis eksplan dan komposisi ZPT dapat memengaruhi jalur perkembangan jaringan.

Peran jaringan muda yang memiliki aktivitas meristematik juga terlihat pada penelitian Kholifah et al. (2022) terhadap Kaempferia galanga. Kalus hijau yang berasal dari embrio somatik menunjukkan respons organogenesis yang optimal pada media MS dengan penambahan NAA 1 ppm dan TDZ 2 ppm, menghasilkan rata-rata 3,10 tunas per eksplan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa jaringan yang telah melalui tahap pembentukan kalus tetap berpotensi menghasilkan tunas apabila kondisi kultur mendukung proses regenerasi. Sementara itu, Saensouk et al. (2024) melaporkan bahwa tunas mikro Curcuma larsenii berukuran sekitar 1 cm menghasilkan kalus padat dan jumlah akar tertinggi pada kombinasi BA 3 mg/L dan NAA 0,5 mg/L. Temuan tersebut menunjukkan bahwa ukuran eksplan dan kombinasi ZPT perlu diperhatikan untuk memperoleh respons pertumbuhan yang sesuai.

Penggunaan bahan tambahan alami juga dilaporkan dapat memengaruhi pertumbuhan eksplan. Andini dan Yunus (2020) menemukan bahwa tunas rimpang Curcuma xanthorrhiza berukuran 5 cm yang diberi tambahan air kelapa dan ekstrak pisang menunjukkan pembentukan kalus dan tunas yang lebih cepat dibandingkan kontrol. Hasil tersebut menunjukkan adanya potensi penggunaan bahan organik alami untuk mendukung pertumbuhan jaringan selama kultur. Selain itu, Khumaida et al. (2019) melaporkan bahwa tunas rimpang Curcuma aeruginosa berukuran 1–2 cm yang ditanam pada media MS dengan BAP 6 mg/L menghasilkan rata-rata 3,38 tunas per eksplan dengan tinggi plantlet mencapai 2,51 cm. Kedua penelitian ini memperlihatkan bahwa eksplan rimpang dapat digunakan untuk mendukung inisiasi dan multiplikasi tunas, meskipun hasilnya tetap bergantung pada perlakuan yang diberikan.

Pola serupa juga ditemukan pada genus Zingiber, yang masih termasuk dalam famili Zingiberaceae. Inderiati et al. (2023) menggunakan kecambah steril dari ujung tunas rimpang Zingiber officinale var. rubrum. Pembentukan tunas mulai terlihat dalam waktu 13–14 hari, dengan rata-rata 6,33 tunas per eksplan pada media MS yang mengandung BAP 1 mg/L dan sukrosa 30 g/L. Hasil tersebut menunjukkan bahwa eksplan dari ujung tunas rimpang dapat memberikan respons regenerasi yang relatif cepat. Sementara itu, Ammar et al.

(2016) melaporkan adanya perbedaan jalur organogenesis pada Zingiber officinale. Ujung pucuk menunjukkan organogenesis langsung pada media dengan BAP 4,5 mg/L, sedangkan pembentukan tunas secara tidak langsung dilaporkan pada media yang mengandung BAP 1,0 mg/L dan NAA 0,5 mg/L. Perbedaan tersebut memperlihatkan bahwa jenis eksplan dan formulasi ZPT dapat menentukan jalur regenerasi yang terjadi selama kultur.

Secara umum, hasil penelitian pada genus Curcuma dan Zingiber menunjukkan bahwa tunas mikro yang berasal dari rimpang berpotensi menjadi eksplan yang sesuai untuk perbanyakan in vitro. Jaringan tersebut dapat mendukung pembentukan tunas secara langsung sehingga kebutuhan melalui tahap kalus yang panjang dapat dikurangi pada protokol tertentu. Namun, keberhasilan kultur tetap dipengaruhi oleh kondisi fisiologis eksplan, komposisi media, serta perlakuan hormonal yang digunakan. Kesimpulan ini sejalan dengan pembahasan Bandara et al. (2023) dan Fonsekage et al. (2021), yang menekankan pentingnya karakteristik jaringan dan aktivitas meristem dalam menentukan respons perbanyakan tanaman. Oleh karena itu, pemilihan eksplan yang tepat perlu disertai optimasi media dan ZPT agar protokol yang dikembangkan dapat menghasilkan regenerasi yang konsisten.

Kesimpulan

Keberhasilan induksi kalus embriogenik pada genus Curcuma dipengaruhi oleh keseimbangan penggunaan auksin dan sitokinin. Kombinasi 2,4-D 2,0 mg/L dan TDZ 0,5 mg/L dilaporkan sebagai perlakuan yang paling optimal dalam menghasilkan kalus bertekstur remah (friable) dengan kemampuan regenerasi yang baik. Sementara itu, penambahan BAP sebesar 2,0 mg/L memberikan hasil terbaik dalam mendukung pembentukan dan pertumbuhan tunas. Hasil tersebut menunjukkan bahwa teknik kultur jaringan berpotensi mendukung perbanyakan tanaman Curcuma, mempertahankan kestabilan genetik, serta meningkatkan produksi metabolit sekunder yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Penggunaan eksplan meristematik juga berpotensi meningkatkan konsistensi respons terhadap pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT).

Meskipun demikian, perbedaan respons antarspesies, variasi jenis eksplan, dan keterbatasan pemahaman mengenai mekanisme fisiologis serta genetik yang terlibat masih menjadi kendala dalam pengembangan protokol kultur jaringan yang dapat diterapkan secara luas pada seluruh spesies Curcuma. Oleh sebab itu, penelitian berikutnya perlu difokuskan pada penentuan kombinasi dan konsentrasi ZPT yang sesuai untuk setiap spesies, pengkajian lebih lanjut terhadap mekanisme embriogenesis dan organogenesis, serta pengembangan media kultur dengan memanfaatkan ZPT alami atau teknologi baru. Penelitian tersebut diharapkan dapat menghasilkan protokol regenerasi yang lebih konsisten, dapat diulang (reproducible), dan mudah diterapkan, sehingga mampu menunjang pengembangan industri fitofarmaka sekaligus mendukung pelestarian sumber daya genetik Curcuma secara berkelanjutan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu baik secara dukungan material maupun non moril selama pelaksanaaan.

Referensi

Abdelazeez, W. M. A., Aboueldis, G. R., Suliman, A. A., & Mohammed, D. M. (2025). Production of secondary metabolites in callus cultures of Scutellaria baicalensis L. and assessment of their anti-inflammatory and antioxidant efficacy in ulcerative colitis rats. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *160*(3). https://doi.org/10.1007/s11240-025-02996-6

Ammar, M. A. A., Mawahib, E. M. E.-N., & Sakina, M. Y. (2016). Callus induction, direct and indirect organogenesis of ginger (Zingiber officinale Rosc). *African Journal of Biotechnology*, *15*(38), 2106–2114. https://doi.org/10.5897/ajb2016.15540

Andini, N., & Yunus, A. (2020). *In vitro Shoot Multiplication of Curcuma xanthorrhiza with Coconut Water and Banana Extract Nutrient*. *10*(3).

Bandara, M. M. N. T., Dahanayake, N., Perera, P. C. D., & Subasinghe, S. (2023). Development of In-Vitro Protocol to Enhance Mass Production of Turmeric (Curcuma longa L.). *Tropical Agricultural Research and Extension*, *26*(1), 44. https://doi.org/10.4038/tare.v26i1.5630

Boonprasert, A., Chitphet, P., Sanevas, N., Kraichak, E., Vuttipongchaikij, S., & Wongkantrakorn, N. (2025). Development of an Efficient Micropropagation Protocol for Curcuma longa L. cv. Trang 1. *International Journal of Plant Biology*, *16*(2). https://doi.org/10.3390/ijpb16020064

Chandran, H., Meena, M., Barupal, T., & Sharma, K. (2020). Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. In *Biotechnology Reports* (Vol. 26). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00450

Chintakovid, N., Tisarum, R., Samphumphuang, T., Sotesaritkul, T., & Cha-Um, S. (2021). In vitro acclimatization of curcuma longa under controlled iso-osmotic conditions. *Plant Biotechnology*, *38*(1), 37–46. https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.20.1021a

Da, S. A., Nawchoo, I. A., Tyub, S., & Kamili, A. N. (2021). Effect of plant growth regulators on in vitro induction and maintenance of callus from leaf and root explants of Atropa acuminata Royal ex Lindl. *Biotechnology Reports*, *32*. https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00688

Davies, D. (2013, April 9). *Curcuma aromatica in bloom.* The Frustrated Gardener. https://frustratedgardener.com/2013/04/09/

Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A., & García-Lara, S. (2018). In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds. In *Planta* (Vol. 248, Issue 1). Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/s00425-018-2910-1

Ferrari, M. P. de S., Queiroz, M. dos S., Andrade, M. M. de, Trettel, J. R., & Magalhães, H. M. (2019). Growth Regulators Affect the Growth and Biochemical Activity of Curcuma longa Plants Grown in vitro. *Journal of Agricultural Science*, *11*(10), 277. https://doi.org/10.5539/jas.v11n10p277

Fonsekage, H., Upendri, L., & Seran, T. H. (2021). In vitro propagation of turmeric (Curcuma longa L.) through direct somatic embryogenesis with reference to types of explants and plant growth regulators: A review. *Ciencias Agronomicas*. https://doi.org/10.35305/agro38.309

Fuloria, S., Mehta, J., Chandel, A., Sekar, M., Rani, N. N. I. M., Begum, M. Y., Subramaniyan, V., Chidambaram, K., Thangavelu, L., Nordin, R., Wu, Y. S., Sathasivam, K. V., Lum, P. T., Meenakshi, D. U., Kumarasamy, V., Azad, A. K., & Fuloria, N. K. (2022). A Comprehensive Review on the Therapeutic Potential of Curcuma longa Linn. in Relation to its Major Active Constituent Curcumin. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820806

Gecheva, G., Pall, K., Todorov, M., Traykov, I., Gribacheva, N., Stankova, S., & Birk, S. (2021). Anthropogenic stressors in upland rivers: Aquatic macrophyte responses. a case study from bulgaria. *Plants*, *10*(12). https://doi.org/10.3390/plants10122708

Gingerwood Nursery. (2018). *Curcuma attenuata (ornamental turmeric).* Retrieved from https://gingerwoodnursery.com/wp-content/uploads/2018/02/Curcuma_elata1.jpg

Haris, M., Rasheed, S., Shahroz Rahman, Ishmal Fatima, Ayesha Mazhar, & Farrukh Azeem. (2025). Tissue Culture Optimization: Maize Callus Induction and Factors Affecting the Callus Efficiency. *Integrative Plant Biotechnology*, *3*(2), 73–99. https://doi.org/10.55627/pbiotech.003.02.1288

Inderiati, S., Yanti, Hanafi, & Ruhumuddin, S. (2023). In vitro propagation of red ginger (Zingiber officinale Roxb. var. Rubrum) in different concentrations of sucrose and growth regulator. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1208*(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/1208/1/012041

Iqbal, M., Aftab, Z. E. H., Anjum, T., Rizwana, H., Akram, W., Aftab, A., Sajid, Z. A., & Li, G. (2024). Nano-Integrated Plant Tissue Culture to Increase the Rate of Callus Induction, Growth, and Curcuminoid Production in Curcuma longa. *Plants*, *13*(13). https://doi.org/10.3390/plants13131819

Iweala, E. J., Uche, M. E., Dike, E. D., Etumnu, L. R., Dokunmu, T. M., Oluwapelumi, A. E., Okoro, B. C., Dania, O. E., Adebayo, A. H., & Ugbogu, E. A. (2023). Curcuma longa (Turmeric): Ethnomedicinal uses,

phytochemistry, pharmacological activities and toxicity profiles—A review. In *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine* (Vol. 6). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2023.100222

Jena, S., Ray, A., Sahoo, A., Sahoo, S., Dash, B., Kar, B., & Nayak, S. (2020). Rapid plant regeneration in industrially important Curcuma zedoaria revealing genetic and biochemical fidelity of the regenerants. *3 Biotech*, *10*(1). https://doi.org/10.1007/s13205-019-2009-9

Jose, S., & Thomas, T. D. (2015). High-frequency callus organogenesis, large-scale cultivation and assessment of clonal fidelity of regenerated plants of Curcuma caesia Roxb., an important source of camphor. *Agroforestry Systems*, *89*(5), 779–788. https://doi.org/10.1007/s10457-015-9811-0

Kaewthip, W., Dheeranupattana, S., Junta, P., & Shank, L. (2021). Sterile Tissue Preparation and Callus Induction of Curcuma longa Linn. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, *20*(3), 1–10. https://doi.org/10.12982/CMUJNS.2021.062

Kholifah, N., Shofiyani, A., Purnawanto, A. M., & Puspawiningtiyas, E. (2022). PENGARUH KOSENTRASI NAA DAN TDZ (THIDIAZURON) TERHADAP ORGANOGENESIS KALUS KENCUR (Kaempferia galanga L.). In *AGRITECH* (Issue 2).

Khumaida, N., Ardie, S. W., Setiadi, A., & Artiningsih, L. N. (2019). In vitro multiplication and acclimatization of black galingale (Curcuma Aeruginosa Roxb.). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *9*(4), 110–116. https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90414

Li, D., Luo, G., Guo, S., Huang, R., Yang, J., Cao, T., & Yu, J. (2023). Nuclear DNA Amounts in Chinese Bryophytes Estimated by Flow Cytometry: Variation Patterns and Biological Significances. *Plants*, *12*(7). https://doi.org/10.3390/plants12071564

Liu, S. T., Zheng, S. W., Hou, A. J., Zhang, J. X., Wang, S., Wang, X. J., Yu, H., & Yang, L. (2022). A review: The phytochemistry, pharmacology, and pharmacokinetics of Curcumae Longae Rhizoma (Turmeric). In *World Journal of Traditional Chinese Medicine* (Vol. 8, Issue 4, pp. 463–490). Wolters Kluwer Medknow Publications. https://doi.org/10.4103/2311-8571.351523

Long, Y., Yang, Y., Pan, G., & Shen, Y. (2022). New Insights Into Tissue Culture Plant-Regeneration Mechanisms. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.926752

NS, S., KN, K., G, P., K, S., & N, J. (2020). Standardization of tissue culture protocol for turmeric (Curcuma longa L.) Cv. Salem. *International Journal of Chemical Studies*, *8*(1), 2721–2726. https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i1ao.8681

Okello, D., Yang, S., Komakech, R., Chung, Y., Rahmat, E., Gang, R., Omujal, F., Lamwaka, A. V., & Kang, Y. (2021). Indirect in vitro Regeneration of the Medicinal Plant, Aspilia africana, and Histological Assessment at Different Developmental Stages. *Frontiers in Plant Science*, *12*. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.797721

Pacific Bulb Society. (2019). *Curcuma attenuata flower form.* Retrieved from https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Curcuma

Pasternak, T. P., & Steinmacher, D. (2024). Plant Growth Regulation in Cell and Tissue Culture In Vitro. In *Plants* (Vol. 13, Issue 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/plants13020327

Rahmat, E., Lee, J., & Kang, Y. (2021). Javanese Turmeric (Curcuma xanthorrhiza Roxb.): Ethnobotany, Phytochemistry, Biotechnology, and Pharmacological Activities. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2021). Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2021/9960813

ResearchGate. (2018). *Freshly harvested Curcuma amada rhizomes.* Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/328271212

Royal Botanic Gardens, Kew. (2020). *Curcuma amada Roxb.* Plants of the World Online. https://powo.science.kew.org/taxon/331178-

Rani, M., Miah, M. A. H., Hasan, M. T., Rashid, M. H., Yasmin, S., & Haque, M. S. (2024). Clonal propagation of turmeric (*Curcuma*

longa) and confirmation of genetic fidelity of the micropropagated shoots by RAPD markers. *Plant Tissue Culture and Biotechnology, 34*(1), 55–69.

Saensouk, S., Benjamin, S., Chumroenphat, T., & Saensouk, P. (2024). In Vitro Propagation, Evaluation of Antioxidant Activities, and Phytochemical Profiling of Wild and In Vitro-Cultured Plants of Curcuma larsenii Maknoi & Jenjitikul—A Rare Plant Species in Thailand. *Horticulturae*, *10*(11). https://doi.org/10.3390/horticulturae10111181

Sidik, N. J., Agha, H. M., Alkamil, A. A., Alsayadi, M. M. S., & Mohammed, A. A. (2024). A Mini Review of Plant Tissue Culture: The Role of Media Optimization, Growth Regulators in Modern Agriculture, Callus Induction and the Applications. *AUIQ Complementary Biological System*, *1*(2), 96–109. https://doi.org/10.70176/3007-973x.1019

Song, W., Song, Y., Liu, X., Zhang, X., Xin, R., Duan, S., Guan, S., & Sun, X. (2023). Improvement of Culture Conditions and Plant Growth Regulators for In Vitro Callus Induction and Plant Regeneration in Paeonia lactiflora Pall. *Plants*, *12*(23). https://doi.org/10.3390/plants12233968

Subramanian, M., Gantait, S., Jaafar, J. N., Ismail, M. F., & Sinniah, U. R. (2025). Micropropagation of white turmeric (Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe) and establishment of adventitious root culture for the production of phytochemicals. *Industrial Crops and Products*, *223*. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.120101

Vaze, G. V., Hurkadale, P. J., & Hegde, H. V. (2024). 6-Benzylaminopurine Induces High-Frequency Multiplication In Vulnerable Hill Turmeric (Curcuma pseudomontana J. Graham): A Potential In Vitro Conservation Tool. *Biotropia*, *31*(1), 87–95. https://doi.org/10.11598/BTB.2024.31.1.2120

Wikimedia Commons. (2019). *Curcuma xanthorrhiza Roxb.* Wikimedia Foundation. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c9/Temulawak.jpg

Wikimedia Commons. (2020). *Curcuma aromatica.* Wikimedia Foundation. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c8/Curcuma_aromatica.jpg

Wikimedia Commons. (2020). *Curcuma longa.* Wikimedia Foundation. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c9/Turmeric_root.jpg

Zhu, X., Quan, Y. Y., Yin, Z. J., Li, M., Wang, T., Zheng, L. Y., Feng, S. Q., Zhao, J. N., & Li, L. (2023). Sources, morphology, phytochemistry, pharmacology of Curcumae Longae Rhizoma, Curcumae Radix, and Curcumae Rhizoma: a review of the literature. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 14). Frontiers Media SA. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1229963