

## Kombinasi BAP dan NAA untuk Media Perbanyak Nanas Varietas Smooth Cayenne, Toboali in Vitro

### Combination of BAP and NAA for the Propagation Media of Pineapple, Smooth Cayenne Varieties, Toboali in Vitro

Nia Dahniar\*, Pepi Elvavina

Biotechnology center, LPPM, Institut Pertanian Bogor, Bogor, West Java 16151, Indonesia

Received 14 October 2021; Accepted 20 June 2021; Published 30 June 2022

#### ABSTRACT

Toboali pineapple variety is a smooth cayenne variety because it contains high antioxidants in the form of vitamins A and C. In addition, it is a source of citric and malic acids, substances that can be used to enhance the taste of the fruit. Pineapple is a plant that is propagated with vegetative organs such as suckers, slips, and crowns. However, conventional propagation has a low propagation rate. Tissue culture is an in vitro technique used in the rapid propagation of plants and in large quantities to meet the needs of cultivation and research. The selection of regeneration media is very influential on the development of plants in tissue culture. This study aimed to obtain the optimal media combination with BAP and NAA in the regeneration of Smooth Cayenne pineapple (Toboali) in vitro for mass propagation of seedlings and genetic engineering research. This study used 6 levels of BAP, namely 0, 1, 2, 3, 4, 5 mg.L<sup>-1</sup> and 4 levels of NAA, namely 0, 1, 2, 3 mg.L<sup>-1</sup>. The treatment used was a combination of BAP and NAA as many as 24 treatments with 3 replications. The best pineapple regeneration medium for mass plant propagation in this study was BAP 3 mg.L<sup>-1</sup> without NAA media which produced the highest shoots of 17.33 shoots per explant at 12 week after planting. The best pineapple regeneration medium for genetic engineering research was a combination BAP 3 mg.L<sup>-1</sup> and NAA 2 mg.L<sup>-1</sup> media which produced 18.33 shoots per explant from embryogenic callus.

**Keywords:** *Ananas comosus*; Embryogenic callus; Regeneration; Tissue culture

**Cite this as (CSE Style):** Dahniar N, Elvavina P. 2022. Kombinasi BAP NAA untuk media perbanyak nanas varietas Smooth Cayenne, Toboali. *Agrotechnology Res J.* 6(1):21–26. <https://dx.doi.org/10.20961/agrotechresj.v6i1.55629>.

#### PENDAHULUAN

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Toboali termasuk varietas Smooth Cayenne yang berasal dari kepulauan Bangka Belitung. Nanas Toboali mengandung antioksidan tinggi berupa vitamin A dan C. Selain itu, merupakan sumber asam sitrat dan malat, zat yang dapat digunakan untuk meningkatkan cita rasa buah. Nanas ini cukup terkenal didaerah tersebut karena memiliki buah yang besar dan manis (Tikendra et al. 2019; Mayerni et al. 2020; Ebrahimzadegan dan Maroufi 2022; Sultana et al. 2022). Tanaman ini dibudidayakan secara vegetatif konvensional melalui bibit berupa organ vegetatif seperti mahkota (*crown*) dan anakan (Jana et al. 2013; Danova et al. 2018; Dhurve et al. 2021). Hal ini disebabkan karena perbanyak nanas secara generatif menghasilkan sedikit biji, sulit tumbuh, dan sering terjadi segregasi. Kekurangan perbanyak bibit nanas secara

vegetatif konvensional yaitu menghasilkan jumlah bibit yang rendah dan umur panen lebih lama yaitu sekitar 24 bulan (Fernando et al. 2020). Sedangkan dalam budidaya nanas dibutuhkan bibit yang berkualitas dan seragam yang dapat diperoleh dalam waktu cepat dan jumlah yang banyak (Hossain 2018; Li et al. 2022).

Kultur jaringan merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam produksi bibit nanas dengan banyak dan waktu yang singkat (Harahap et al. 2020; Lin et al. 2022). Teknik kultur jaringan telah banyak digunakan dalam penyediaan bibit berkualitas seperti manggis (Purita et al. 2017), rumput laut (Daud et al. 2015), tanaman teh (Saefas et al. 2017), dan bawang putih (Dwi dan Ellok 2016).

Faktor yang merupakan prasyarat utama kultur jaringan dalam perbanyak tanaman adalah eksplan yang terbebas dari mikroorganisme, wadah yang digunakan harus transparan, lingkungan yang terkontrol dan zat pengatur tumbuh (ZPT) pada media (Yusnita 2015). ZPT memiliki peranan penting dalam mengatur perkembangan akar dan tunas selama pembentukan tanaman dan kalus (Lestari 2011). Dua jenis ZPT yang sangat penting dalam memacu pertumbuhan tanaman

\*Corresponding Author:  
E-mail: [niada@apps.ipb.ac.id](mailto:niada@apps.ipb.ac.id)

adalah sitokinin dan auksin (Dhurve et al. 2021; Roussos et al. 2021; Shekhawat et al. 2021). Golongan sitokinin yang sering digunakan untuk multiplikasi tunas secara *in vitro* adalah BAP (*Benzyl Amino Purine*) dan golongan auksin adalah NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) (Ming et al. 2019; Batti et al. 2020; Choudhary et al. 2020; Camalle et al. 2021; Insuan et al. 2021; Ramabulana et al. 2021; Bano et al. 2022).

Penelitian pengaruh ZPT sitokinin, auksin, atau kombinasi keduanya terhadap regenerasi nanas telah banyak diteliti (Feryati et al. 2018; Santoso dan Sobir 2013; Oktaviana et al. 2015). Hasil penelitian (Zuraida et al. 2011) melaporkan bahwa penambahan 1 mg.L<sup>-1</sup> BAP dapat menghasilkan tunas sebanyak 31 tunas dalam 4 minggu. Kombinasi BAP 4 mg.L<sup>-1</sup> dan IAA 0,5 mg.L<sup>-1</sup> menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu mencapai 11,2 tunas (Harahap dan Nusyirwan 2014). Sedangkan pemberian NAA 1 mg.L<sup>-1</sup> tanpa BAP meningkatkan pertumbuhan hingga rata-rata 1,78 tunas per eksplan (Zulkarnain dan Neliyati 2017).

Di Indonesia, pemanfaatan teknologi kultur *in vitro* nanas varietas Smooth Cayenne masih terbatas pada teknik seperti proliferasi tunas (Roostika et al. 2016), mutagenesis (Human et al. 2016), dan etiolasi. Studi komprehensif untuk media regenerasi yang optimal dalam perbanyak bibit untuk keperluan produksi sekaligus rekayasa genetika belum dilakukan. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah mendapatkan media dengan kombinasi BAP dan NAA yang optimal untuk perbanyak bibit secara massal dan kebutuhan penelitian rekayasa genetika.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomolekuler dan Seluler Tanaman, Pusat Bioteknologi Institut Pertanian Bogor pada bulan April sampai Agustus 2020. Penelitian *in vitro* dengan rancangan acak lengkap faktorial dua faktor yaitu BAP dan NAA. BAP terdiri dari 6 taraf konsentrasi yaitu 0, 1, 2, 3, 4, 5 mg.L<sup>-1</sup> dan NAA sebanyak 4 taraf yaitu 0, 1, 2, 3 mg.L<sup>-1</sup>. Perlakuan yang digunakan terdiri dari 24 kombinasi BAP NAA, setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali pengulangan sehingga diperoleh 72 unit percobaan. Planlet nanas Toboali *in vitro* berumur 4 MST (minggu setelah tanam) digunakan sebagai indukan. Tunas dari indukan dipotong dan ditanam pada media MS0 (Murashige dan Skoog tanpa ZPT) untuk perbanyak bahan tanaman. Eksplan ditumbuhkan selama 4 minggu di ruang kultur pada suhu 24-26 °C, dengan pencahayaan 1000-2000 lux. Planlet berumur 4 MST selanjutnya digunakan dalam seleksi media terbaik untuk regenerasi nanas.

Media MS0 yang ditambahkan kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan NAA digunakan sebagai media regenerasi nanas. Planlet nanas berumur 4 MST yang telah diperbanyak pada tahap sebelumnya dipotong dengan pisau steril sampai mendapatkan eksplan berupa basal tunas daun muda berukuran 0,5 - 1 cm. Satu potongan eksplan basal tunas daun diletakan pada setiap unit percobaan. Eksplan ditanam pada media perlakuan dan diinkubasi di ruang kultur pada suhu 24-26 °C, dengan fotoperiodisitas 16 jam terang dan intensitas cahaya 1000-2000 lux. Tahap selanjutnya yaitu pengamatan terhadap jumlah tunas dan jumlah

kalus yang terbentuk pada setiap unit percobaan. Pengamatan dilakukan sampai tanaman berumur 12 MST. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan *Microsoft Office Excel* 2013 dan dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) menggunakan program SAS (*Statistical Analysis System*) versi 9.0. Jika perlakuan berpengaruh terhadap hasil maka diuji lanjut dengan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada  $\alpha = 5\%$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Respons regenerasi nanas mulai terjadi pada umur 3-4 MST (Minggu Setelah Tanam). Respons tanaman pada media tanpa BAP atau hanya mengandung NAA menunjukkan pertumbuhan eksplan dengan 1 tunas (Tabel 1) dan memperlihatkan adanya pertumbuhan akar (Gambar 1 'B-D'). Eksplan pada media tanpa BAP dan NAA (Gambar 1 'A') juga menunjukkan pertumbuhan akar yang lebih panjang dibandingkan perlakuan lain, hal ini disebabkan karena media terdapat nutrisi yang cukup untuk membentuk perakaran (Ren et al. 2020).

BAP merupakan ZPT golongan sitokinin yang mendorong pertumbuhan tunas dan NAA termasuk ZPT golongan auksin yang mendorong pertumbuhan akar pada tanaman, sehingga pada media yang hanya menggunakan salah satu ZPT respons yang diberikan sesuai dengan fungsi ZPT tersebut. Kombinasi auksin dan sitokinin ke dalam media kultur diperlukan untuk menumbuhkan akar (Ibrahim et al. 2022). Perlakuan dengan BAP tanpa NAA menyebabkan terjadinya organogenesis langsung, yaitu tunas terbentuk secara langsung tanpa melalui kalus (Gambar 2 'E-I'). Pada media yang mengandung BAP dapat membentuk tunas dalam jumlah banyak, dan jumlahnya semakin meningkat seiring dengan tingginya konsentrasi BAP yang diberikan (Tabel 1).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan BAP dan NAA baik secara tunggal maupun interaksi keduanya secara nyata mempengaruhi pembentukan kalus dan tunas nanas (Tabel 2 dan Tabel 3). Perlakuan B3N2 (BAP 3 mg.L<sup>-1</sup> dan NAA 2 mg.L<sup>-1</sup>) menghasilkan tunas tertinggi yaitu 18,33 tunas per eksplan, meskipun lebih tinggi dari perlakuan B2N0 (BAP 2 mg.L<sup>-1</sup> dan NAA 0 mg.L<sup>-1</sup>) yang mencapai 13,33 tunas, B3N0 mencapai 17,33 tunas, B4N0 mencapai 16,67 tunas, dan B5N0 mencapai 17,67 tunas, namun hasil ini tidak berbeda nyata (Tabel 1). Jumlah tunas pada perlakuan B3N2 lebih tinggi daripada perlakuan BAP saja (B2N0, B3N0, B4N0, B5N0), hal ini menunjukkan adanya interaksi antara BAP dengan NAA dalam media dan NAA membantu meningkatkan jumlah tunas. Hal yang sama juga dihasilkan pada penelitian (Harahap dan Nusyirwan 2014), dimana interaksi sitokinin 4 mg.L<sup>-1</sup> dan auksin 0,5 mg.L<sup>-1</sup> dapat meningkatkan jumlah tunas hingga mencapai 11,2 tunas per eksplan, dan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan BAP saja. Fitohormon auksin dan sitokinin berinteraksi untuk mendorong dan mempertahankan proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman, termasuk mengatur meristem apikal dan pertumbuhan akar (Amiri et al. 2019). Sebaliknya, pada meristem pucuk, sitokinin merangsang proliferasi sel dan mencegah diferensiasi sel, sedangkan auksin memicu inisiasi organ (Sarkar dan Banerjee 2020).



**Gambar 1.** Keragaan kultur nanas umur 12 MST: A) B0N0, B) B0N1, C) B0N2, D) B0N3, E) B1N0, (F) B2N0, G) B3N0, H) B4N0, dan I) B5N0. Bar: 1 cm

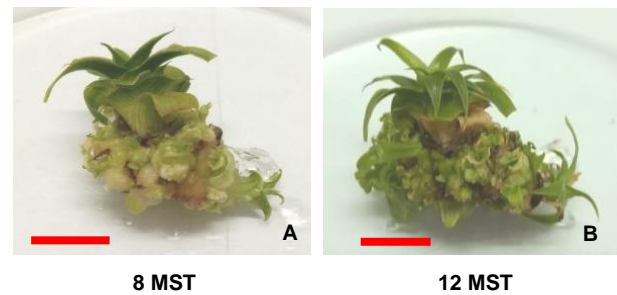
**Tabel 1.** Jumlah tunas dan kalus nanas pada media regenerasi BAP dan NAA umur 12 minggu setelah tanam

Kode media	Perlakuan		Jumlah tunas*	Jumah kalus*
	BAP (mg.L <sup>-1</sup> )	NAA (mg.L <sup>-1</sup> )		
B0N0	0	0	1,00 <sup>g</sup>	0,00 <sup>i</sup>
B0N1	0	1	1,00 <sup>g</sup>	0,00 <sup>i</sup>
B0N2	0	2	1,00 <sup>g</sup>	0,00 <sup>i</sup>
B0N3	0	3	1,00 <sup>g</sup>	0,00 <sup>i</sup>
B1N0	1	0	10,00 <sup>ef</sup>	2,67 <sup>hi</sup>
B1N1	1	1	11,67 <sup>cde</sup>	7,00 <sup>fg</sup>
B1N2	1	2	9,67 <sup>ef</sup>	6,00 <sup>gh</sup>
B1N3	1	3	11,33 <sup>de</sup>	3,33 <sup>hi</sup>
B2N0	2	0	13,33 <sup>abcde</sup>	1,67 <sup>i</sup>
B2N1	2	1	10,00 <sup>ef</sup>	3,33 <sup>hi</sup>
B2N2	2	2	10,33 <sup>ef</sup>	11,67 <sup>cde</sup>
B2N3	2	3	11,33 <sup>de</sup>	7,67 <sup>fg</sup>
B3N0	3	0	17,33 <sup>abc</sup>	0,00 <sup>i</sup>
B3N1	3	1	16,33 <sup>abcd</sup>	9,00 <sup>efg</sup>
B3N2	3	2	18,33 <sup>a</sup>	12,33 <sup>cde</sup>
B3N3	3	3	12,67 <sup>abcde</sup>	13,33 <sup>bcd</sup>
B4N0	4	0	16,67 <sup>abcd</sup>	15,00 <sup>abc</sup>
B4N1	4	1	16,33 <sup>abcd</sup>	16,67 <sup>ab</sup>
B4N2	4	2	9,33 <sup>ef</sup>	11,67 <sup>cde</sup>
B4N3	4	3	7,67 <sup>ef</sup>	10,33 <sup>def</sup>
B5N0	5	0	17,67 <sup>ab</sup>	7,67 <sup>fg</sup>
B5N1	5	1	12,00 <sup>bcde</sup>	17,00 <sup>a</sup>
B5N2	5	2	10,33 <sup>ef</sup>	6,00 <sup>gh</sup>
B5N3	5	3	5,33 <sup>fg</sup>	10,00 <sup>def</sup>
Sig. (p)			0,0134	0,0001

\*Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%

Sitokinin memacu pembelahan sel pada jaringan tanaman dan membentuk tunas yang dicirikan dengan perkembangan sel yang bersifat unipolar (satu kutub), atau dikenal dengan istilah organogenesis (Kumar dan Reddy 2011; Ajadi et al. 2018). Perlakuan B2N0 dan B3N0 meningkatkan jumlah tunas melalui

organogenesis langsung, sehingga pemberian BAP dalam konsentrasi tinggi dan penggunaan subkultur dalam jumlah tinggi dapat menjadi media alternatif untuk perbanyakan massal nanas secara kultur jaringan (Zhao LX et al. 2021).



**Gambar 2.** Pembentukan tunas didahului dengan terbentuknya kalus embriogenik. A) fase torpedo, B) planlet. Bar: 1 cm

Berdasarkan (Lestari 2011), dua golongan ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan yaitu auksin dan sitokinin, dimana auksin berfungsi merangsang pembentukan kalus dan akar, sedangkan sitokinin berperan penting dalam pembentukan tunas. Secara umum media percobaan dengan perlakuan kombinasi BAP dan NAA menyebabkan organogenesis tidak langsung yaitu terbentuknya tunas yang didahului dengan pembentukan kalus (Zhao X et al. 2021). Sebagian kalus yang terbentuk bersifat embriogenesis somatik yang dicirikan dengan adanya struktur bipolar, yaitu mempunyai calon meristem akar dan tunas (Dar et al. 2021). Secara spesifik tahap perkembangan kalus embriogenik dimulai dari fase globular, fase hati, fase torpedo dan planlet. Tahapan ini teramati pada kultur dengan perlakuan BAP 3 mg.L<sup>-1</sup> dengan NAA 2 mg.L<sup>-1</sup> umur 8 MST dimana terbentuk fase torpedo (Gambar 2 'A') dan umur 12 MST terbentuk fase planlet (Gambar 2 'B').

Embriogenesis somatik memiliki kelebihan dalam menghasilkan jumlah propagula, yaitu tidak terbatas dan dapat diperoleh dalam waktu singkat (Chinnadurai et al. 2019; Roussos et al. 2021). Selain itu, embrio somatik nanas berasal dari sel tunggal (*unicellular origin*) melalui pembelahan periklinal (Roostika et al. 2016). Sehingga kalus yang bersifat embrio somatik berpotensi meningkatkan rekayasa secara molekuler melalui rekayasa genetika (Tikendra et al. 2019; Asmono et al. 2020). Berdasarkan literatur tersebut, hasil penelitian ini diharapkan kalus embriogenik akan menghasilkan tunas yang stabil, dan persentase transformasi terhadap kalus tersebut dapat meningkat (Deswiniyanti et al. 2020; Pramono et al. 2021; Ebrahimzadegan dan Maroufi 2022). Sehingga hal tersebut dapat meningkatkan jumlah tunas transgenik yang stabil dalam pewarisan gen pada generasi selanjutnya. Berdasarkan penjelasan tersebut maka media kombinasi BAP 3 mg.L<sup>-1</sup> dan NAA 2 mg.L<sup>-1</sup> yang menghasilkan 18,33 tunas per eksplan (Tabel 1), dapat digunakan sebagai media alternatif dalam memproduksi tunas embriogenik guna memenuhi kebutuhan transformasi tanaman nanas melalui perantara *Agrobacterium tumefaciens*.



**Tabel 2.** Hasil sisik ragam tunas nanas umur 12 minggu setelah tanam

Sumber keragaman (SK)	Derajat bebas (DB)	Jumlah kuadrat (JK)	Kuadrat tengah (KT)	F	Pr > F
Perlakuan	23	2044,652778	88,897947	9,80	<,0001
BAP	5	1531,736111	306,347222	33,78	<,0001
NAA	3	195,263889	65,087963	7,18	0,0004
BAP*NAA	15	317,652778	21,176852	2,33	0,0134
Galat	48	435,333333	9,069444		
total	71	2479,986111			
Koefisien Keragaman (%)	17,26				

**Tabel 3.** Hasil sidik ragam kalus nanas umur 12 minggu setelah tanam

Sumber keragaman (SK)	Derajat bebas (DB)	Jumlah kuadrat (JK)	Kuadrat tengah (KT)	F	Pr > F
Perlakuan	23	2144,652778	93,245773	23,81	<,0001
BAP	5	1304,236111	260,847222	66,60	<,0001
NAA	3	190,263889	63,421296	16,19	<,0001
BAP*NAA	15	650,152778	43,343519	11,07	<,0001
Galat	48	188,000000	3,916667		
total	71	2332,652778			

## KESIMPULAN

Media dengan BAP 3 mg.L<sup>-1</sup> yang menghasilkan 17,33 tunas per eksplan melalui organogenesis langsung. Media regenerasi nanas terbaik untuk penelitian rekayasa genetika adalah kombinasi BAP 3 mg.L<sup>-1</sup> dan NAA 2 mg.L<sup>-1</sup> yang menghasilkan 18,33 tunas dari kalus yang bersifat embriogenik.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Direktur Sumberdaya Manusia Institut Pertanian Bogor (IPB) atas pemberian dana Hibah Penelitian tahun 2020 dan Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler Tanaman (BMST) Pusat Bioteknologi LPPM IPB sebagai tempat berlangsungnya penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajadi A, Ehirim BO, Ishaq MN, Isah A, Isong A, Ghali A, Kester O, Ejizu AN. 2018. Regeneration of industrial sugarcane using in-vitro plant apical meristem. *Electron J Plant Breed.* 9(4):1342–1347. <https://doi.org/10.5958/0975-928X.2018.00167.9>.
- Amiri S, Mohammadi R, Akbari R. 2019. The effects of cytokinin and auxin interactions on proliferation and rooting of seedless grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Sultanine.' *Erwerbs-Obstbau.* 61:85–92. <https://doi.org/10.1007/s10341-019-00456-y>.
- Asmono SL, Djenal D, Rahmawati R. 2020. In vitro regeneration of *Stevia rebaudiana* Bertoni from internode and leaf explants using different concentrations of BAP (6-Benzyl Amino Purine). *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 411(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/411/1/012004>.
- Bano AS, Khatkhat AM, Basit A, Alam M, Shah ST, Ahmad N, Gilani SAQ, Ullah I, Anwar S, Mohamed HI. 2022. Callus induction, proliferation, enhanced secondary metabolites production and antioxidants activity of *Salvia moorcroftiana* L. as influenced by combinations of auxin, cytokinin and melatonin. *Brazilian Arch Biol Technol.* 65:1–16. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210200>.
- Batti JR, Larekeng SH, Arsyad MA, Gusmiaty, Restu M. 2020. In vitro growth response on three provenances of Jabon Merah based on auxin and cytokinin combinations. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 486(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/486/1/012088>.
- Camalle MD, Sikron N, Zurgil U, Khadka J, Pivonia S, Pěnčík A, Novák O, Fait A, Tel-Zur N. 2021. Does scion–rootstock compatibility modulate photoassimilate and hormone trafficking through the graft junction in melon–pumpkin graft combinations? *Plant Sci.* 306(February). <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.110852>.
- Chinnadurai V, Viswanathan P, Kalimuthu K, Vanitha A, Ranjitha V, Pugazhendhi A. 2019. Comparative studies of phytochemical analysis and pharmacological activities of wild and micropropagated plant ethanol extracts of *Manihot esculenta*. *Biocatal Agric Biotechnol.* 19(April):101166. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101166>.
- Choudhary D, Rai MK, Shekhawat NS, Kataria V. 2020. In vitro propagation of *Farsetia macrantha* Blatt. & Hallb.: an endemic and threatened plant of Indian Thar Desert. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 142(3):519–526. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01876-5>.
- Danova K, Motyka V, Todorova M, Trendafilova A, Krumova S, Dobrev P, Andreeva T, Oreshkova T, Taneva S, Evstatieva L. 2018. Effect of cytokinin and auxin treatments on morphogenesis, terpenoid

- biosynthesis, photosystem structural organization, and endogenous isoprenoid cytokinin profile in *Artemisia alba* turra in vitro. *J Plant Growth Regul.* 37(2):403–418. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9738-y>.
- Dar SA, Nawchoo IA, Tyub S, Kamili AN. 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. *Biotechnol Reports.* 32(August):e00688. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00688>.
- Daud R, Redjeki S, Mulyaningrum H, Suryati E. 2015. Perbanyak rumput laut *Gracilaria* sp. hasil kultur jaringan di Tambak. *Pros Forum Inov Teknol Akuakultur.*:765–768.
- Deswiniyanti NW, Lestari NKD, Astarini IA, Hardini Y. 2020. In vitro propagation of lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) with Growth Regulators BAP and NAA. *J Hortik Indones.* 11(2):131–139. <https://doi.org/10.29244/jhi.11.2.131-139>.
- Dhurve L, Ajith Kumar K, Bhaskar J, Sobhana A, Francies RM, Mathew D. 2021. Wide variability among the 'Mauritius' somaclones demonstrates somaclonal variation as a promising improvement strategy in pineapple (*Ananas comosus* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 145(3):701–705. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02022-5>.
- Dwi S, Ellok. 2016. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Regenerasi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Secara Kultur Jaringan. *Agrifor.* XV(Vol 15, No 1 (2016): Maret):29–36.
- Ebrahimzadegan R, Maroufi A. 2022. In vitro regeneration and Agrobacterium-mediated genetic transformation of Dragon's Head plant (*Lallemantia iberica*). *Sci Rep.* 12(1):1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05776-w>.
- Fernando Y, Harahap F, Diningrat DS, Rosmayati. 2020. In vitro propagation of pineapple (*Ananas comosus* L.) shoots from sipahutar north sumatera indonesia. *J Phys Conf Ser.* 1485(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1485/1/012042>.
- Feryati, Mukarlina, Linda R. 2018. Respon pertumbuhan tunas mahkota nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr ) dengan Penambahan Benzyl Amino Purine (BAP) dan Naphthalene Acetic Acid (NAA). *J Protobiont.* 7:69–74.
- Harahap F, Harahap NK, Djulia E, Purnama D, Sipahutar H, Rosmayati, Rahayu S, Zega PF, Munifah Hasibuan RF. 2020. The ability of pineapple callus regeneration (*Ananas comosus* L.) from sipahutar north sumatra indonesia with in vitro culture. *J Phys Conf Ser.* 1485(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1485/1/012038>.
- Harahap F, Nusyirwan. 2014. Induksi Tunas Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) in vitro dengan pemberian dosis auksin dan sitokin yang berbeda. *J Saintika.* 15(2):124–131.
- Hossain AS. 2018. Comparative studies of callus cell and shoot proliferation from pineapple and banana culture in vitro: antioxidant, carbohydrate, pigment and mineal properties. *Int J Biotech Trends Technol.* 8(2):1–6. <https://doi.org/10.14445/22490183/ijbtt-v8i2p601>.
- Human S, Loekito S, Trilaksono M, Syaifudin A. 2016. Pemuliaan mutasi tanaman nanas (*Ananas comosus* ( L .) Merr .) menggunakan iradiasi gamma untuk perbaikan varietas nanas smooth cayenne plant mutation breeding of pineapple (*Ananas comosus* ( L .) Merr .) Using Gamma Irradiation for Improvement of Smooth. *J Ilm Apl Isot dan Radiasi.* 12(1):13–22.
- Ibrahim MSD, Sulistiyorini I, Tresniawati C. 2022. Effect of 6-benzyl amino purine on the multiplication ability of shoots of various sizes of porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) bulbils. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 974(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/974/1/012091>.
- Insuan O, Janchai P, Thongchuai B, Chaiwongsa R, Khamchun S, Saoin S, Insuan W, Pothacharoen P, Apiwatanapiwat W, Boondaeng A, et al. 2021. Anti-inflammatory effect of pineapple rhizome bromelain through downregulation of the NF-κB-and MAPKs-signaling pathways in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 cells. *Curr Issues Mol Biol.* 43(1):93–106. <https://doi.org/10.3390/cimb43010008>.
- Jana S, Sivanesan I, Jeong BR. 2013. Effect of cytokinins on in vitro multiplication of *Sophora tonkinensis*. *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(7):549–553. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60111-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60111-2).
- Kumar N dan Reddy MP. 2011. In vitro plant propagation: A Review. *J For Environ Sci.* 27(2):61–72.
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *J AgroBiogen.* 7(1):63. <https://doi.org/10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>.
- Li D, Jing M, Dai X, Chen Z, Ma C, Chen J. 2022. Current status of pineapple breeding, industrial development, and genetics in China. *Euphytica.* 218(6):1–17. <https://doi.org/10.1007/s10681-022-03030-y>.
- Lin W, Xiao X, Sun W, Liu S, Wu Q, Yao Y, Zhang H, Zhang X. 2022. Genome-wide identification and expression analysis of cytosine DNA methyltransferase genes related to somaclonal variation in pineapple (*Ananas comosus* L.). *Agronomy.* 12(5). <https://doi.org/10.3390/agronomy12051039>.
- Mayerni R, Satria B, Wardhani DK, Chan S. 2020. Effect of auxin (2,4-D) and cytokinin (BAP) in callus induction of local patchouli plants (*Pogostemon cablin* Benth.). *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 583(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/583/1/012003>.
- Ming NJ, Mostafiz SB, Johon NS, Zulkifli NSA, Wagiran A. 2019. Combination of plant growth regulators, maltose, and partial desiccation treatment enhance somatic embryogenesis in selected malaysian rice

- cultivar. *Plants*. 8(6). <https://doi.org/10.3390/plants8060144>.
- Oktaviana MA, Linda R, Mukarlina. 2015. Pertumbuhan tunas mahkota nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) secara in vitro dengan penambahan ekstrak tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dan benzyl amino purin (BAP). *J Protobiont*. 4(3):109–112.
- Pramono PA, Harijati N, Widoretno W. 2021. Effect of the combination of NAA and BA on callus induction from hypocotyl explants in black cumin (*Nigella sativa* L.). *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 743(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/743/1/012013>.
- Purita SY, Rahmi N, Basuki N. 2017. Pengaruh Zat pengatur Tumbuh Jenis BAP terhadap Pertumbuhan Planlet Sub Kultur Jaringan Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L. Merr). *J Produksi Tanam*. 5(7):1207–1212.
- Ramabulana AT, Steenkamp PA, Madala NE, Dubery IA. 2021. Application of plant growth regulators modulates the profile of chlorogenic acids in cultured *bidens pilosa* cells. *Plants*. 10(3):1–13. <https://doi.org/10.3390/plants10030437>.
- Ren X, Liu Y, Jeong BR. 2020. Enhanced somatic embryo induction of a tree peony, *Paeonia ostii* 'Fengdan', by a Combination of 6-benzylaminopurine (BA) and 1-naphthylacetic Acid (NAA) Xiuxia. *Plants*. 9(1):1–12. <https://doi.org/10.3390/plants9010003>.
- Roostika I, Mariska I, Khumaida N, Wattimena GA. 2016. Indirect organogenesis and somatic embryogenesis of pineapple induced by dichlorophenoxy acetic acid. *J AgroBiogen*. 8(1):8. <https://doi.org/10.21082/jbio.v8n1.2012.p8-18>.
- Roussos PA, Ntanos E, Denaxa NK, Tsafouros A, Bouali I, Nikolakakos V, Assimakopoulou A. 2021. Auxin (triclopyr) and cytokinin (forchlorfenuron) differentially affect fruit physiological, organoleptic and phytochemical properties of two apricot cultivars. *Acta Physiol Plant*. 43(2):1–12. <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03203-7>.
- Saefas SA, Rosniawaty S, Maxiselly Y. 2017. Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh alami dan sintetik terhadap pertumbuhan tanaman teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) klon GMB 7 setelah centering. *Kultivasi*. 16(2):368–372. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v16i2.12591>.
- Santoso RD, Sobir. 2013. Pertumbuhan Planlet Nenas (*Ananas comosus* L. Merr.) Varietas smooth cayenne hasil kultur in vitro pada beberapa konsentrasi bap dan umur plantlet growth of smooth cayenne pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) Plantlets from In Vitro Cultured in some B. *Bul Agrohorti*. 1(1):54–61.
- Sarkar J, Banerjee N. 2020. Influence of different cytokinins on micropropagation of an important medicinal plant, *Solanum erianthum* D. Don, and assessment of the genetic fidelity of the regenerants. *Vitr Cell Dev Biol - Plant*. 56(4):480–490. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10054-3>.
- Shekhawat JK, Rai MK, Shekhawat NS, Kataria V. 2021. Synergism of m-topolin with auxin and cytokinin enhanced micropropagation of *Maytenus emarginata*. *Vitr Cell Dev Biol - Plant*. 57(3):418–426. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10132-6>.
- Sultana KW, Das S, Chandra I, Roy A. 2022. Efficient micropropagation of *Thunbergia coccinea* Wall. and genetic homogeneity assessment through RAPD and ISSR markers. *Sci Rep*. 12(1):1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05787-7>.
- Tikendra L, Amom T, Nongdam P. 2019. Molecular genetic homogeneity assessment of micropropagated *Dendrobium moschatum* Sw. - A rare medicinal orchid, using RAPD and ISSR markers. *Plant Gene*. 19(June):100196. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100196>.
- Yusnita. 2015. Kultur jaringan tanaman sebagai teknik penting bioteknologi untuk menunjang pembangunan pertanian. Bandar Lampung (ID): Penerbit Aura Publishing. pp. 1–86.
- Zhao LX, Xiao H, Li MH, Xie M, Li N, Zhao RS. 2021. Effectively removing indole-3-butyric acid from aqueous solution with magnetic layered double hydroxide-based adsorbents. *J Hazard Mater*. 408(October 2020). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124446>.
- Zhao X, Song J, Zeng Q, Ma Y, Fang H, Yang L, Deng B, Liu J, Fang J, Zuo L, et al. 2021. Auxin and cytokinin mediated regulation involved in vitro organogenesis of papaya. *J Plant Physiol*. 260(February):153405. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153405>.
- Zulkarnain Z, Neliyati N. 2017. Pengaruh NAA dan BAP terhadap Kultur Jaringan Nenas Tangkit (*Ananas comosus* (L.) Merr. cv. Tangkit). *Biospecies*. 10(1):1–10. <https://doi.org/10.22437/biospecies.v10i1.3480>.
- Zuraida AR, Nurl Shahnadz AH, Harteeni A, Roowi S, Che Radziah CMZ, Sreeramanan S. 2011. A novel approach for rapid micropropagation of maspine pineapple (*Ananas comosus* L.) shoots using liquid shake culture system. *African J Biotechnol*. 10(19):3859–3866. <https://doi.org/10.4314/ajb.v10i19>.