

PENGARUH BA DAN NAA TERHADAP MULTIPLIKASI TUNAS UBI KAYU SECARA *IN VITRO*

EFFECT OF BA AND NAA ON CASSAVA SHOOT MULTIPLICATION IN *IN VITRO*

Fitri Yelli*, Ardian, Setyo Dwi Utomo

Jurusan Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Jl. Prof. Soemantri Brodjonegoro No.1, Bandar Lampung 35145

*Korespondensi: fitri.yelli@fp.unila.ac.id

Diterima : 20 Juli 2022 / Disetujui : 15 Desember 2022

ABSTRAK

Ubi kayu varietas UJ-3, klon BW-1 dan Unila UK-1 banyak ditanam khususnya di Lampung. Untuk itu diperlukan bibit dalam jumlah besar yang dapat dilakukan secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh BA dan NAA terhadap induksi dan multiplikasi tunas ubi kayu secara *in vitro*. Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor, yaitu : (1) Varietas/klon yang terdiri atas UJ-3 (K1), BW-1 (K2) dan Unila UK-1 (K3), dan (2) Media yang terdiri atas media Murashige and Skoog (MS) tanpa zat pengatur tumbuh (M1), MS + BA 0,1 mg L⁻¹ (M2), MS + BA 0,1 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M3), MS + BA 0,3 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M4), MS + BA 0,5 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M5). Setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali. Hasil menunjukkan bahwa tunas dari varietas/klon ubi kayu dapat terinduksi pada semua media perlakuan. Rata-rata jumlah tunas tertinggi (1,25 tunas) dihasilkan pada media M4 untuk klon Unila UK-1, jumlah buku paling tinggi (8 buku) dihasilkan klon BW-1 pada media M3 dan M4, jumlah daun hijau tertinggi (6 helai) pada media M3. Klon BW-1 juga menghasilkan jumlah daun gugur tertinggi (4,5 helai) pada media M4.

Kata kunci: Auksin, Singkong, Sitokinin, Varietas

ABSTRACT

Cassava UJ-3, BW-1, and Unila UK-1 are widely planted especially in Lampung. Therefore, it needs a high number of planting materials that can be done through tissue culture. This study aimed to determine the effect of BA and NAA on *in vitro* of cassava shoot induction and multiplication. The study used a completely randomized design with two factors, namely: (1) Variety/clone which consisted of UJ-3 (K1), BW-1 (K2), and Unila UK-1 (K3), and (2) Medium which consisted of MS without growth regulators (M1), MS + BA 0,1 mg L⁻¹ (M2), MS + BA 0,1 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M3), MS + BA 0,3 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M4) and MS + BA 0,5 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M5). Each treatment was repeated four times. Results showed that shoots from all genotypes could be induced in all treatment mediums. The highest shoot number (1.25 shoots) was produced by Unila UK-1 on M4 medium. The BW-1 clone showed the best result in the node number (8 nodes) on the M3 and M4 medium, the green leaves number (6 sheets) on the M3 medium, and produced a high deciduous leaves number (4.5 sheets) on the M4 medium.

Keywords: Auxin, Cassava, Cytokinin, Genotype

ISSN : 2407-7933

193

Cite this as: Yelli, F., Ardian & Utomo, S.D. (2022). Pengaruh BA dan NAA terhadap multiplikasi tunas ubi kayu secara *in vitro*. *Jurnal Agro*, 9(2), 193-207. <https://doi.org/10.15575/19263>

PENDAHULUAN

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu komoditas pangan potensial yang dapat tumbuh baik di daerah tropis dan subtropis. Tanaman ubi kayu di Indonesia sering dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk pembuatan tepung (Arief & Asnawi, 2012), pakan ternak (Hermanto & Fitriani, 2019) serta bahan untuk pembuatan pupuk organik padat atau cair (Chusunun *et al.*, 2015). Ubi kayu dilaporkan memiliki kandungan pati yang lebih murni dibandingkan dengan kentang, padi, dan jagung (Zamora *et al.*, 2010), sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku bioenergi/bioethanol.

Potensi hasil, kandungan pati yang tinggi serta umur panen yang lebih cepat merupakan faktor penting yang menjadi pertimbangan petani dalam menentukan varietas ubi kayu yang akan ditanam (Anggraini *et al.*, 2021). Dalam Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia No. 25 tahun 2021 yang dimaksud dengan varietas adalah sekelompok tanaman dalam satu spesies yang ditandai dengan adanya salah satu karakter yang sangat berbeda baik dari segi bentuk tanaman, pertumbuhan tanaman, bunga, daun, buah atau yang lainnya dan jika diperbanyak karakter tersebut tidak mengalami perubahan. Sedangkan klon didefinisikan pada Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia nomor 88/KPTS/KB.020/11/2017 yaitu varietas yang diperoleh dari pohon induk tunggal yang diperbanyak dengan cara vegetatif. Klon secara genetik memiliki kesamaan sifat dengan induknya.

UJ-3 merupakan varietas unggul ubi kayu yang resmi dilepas oleh Kementerian Pertanian pada tahun 2000. Varietas ubi

kayu ini sesuai untuk bahan baku industri dengan umur panen 8-10 bulan, hasil umbi 25-30 t ha⁻¹, dengan kadar pati 20-27% berat kering dan kadar HCN >100 mg kg⁻¹ (Sundari, 2010). Varietas ini dominan di tanam oleh petani di daerah Lampung dan banyak di peruntukkan bagi industri tapioka (Pranowo *et al.*, 2021).

BW-1 merupakan klon ubi kayu yang berasal dari Rayong (Thailand). Klon ini merupakan salah satu klon di samping klon-klon lainnya seperti Ubi kayu Mantri, Roti, Garuda dan yang lainnya yang telah diinventarisasi dan dikarakterisasi berdasarkan karakter kualitatifnya (Kotto *et al.*, 2020). Klon ini belum didaftarkan ke Kementan dan masih berupa tanaman yang umum ditanam oleh petani di Lampung karena telah beradaptasi baik dengan lahan pertanian di Lampung. Umur panen ubi kayu ini lebih cepat yaitu sekitar 6-7 bulan dengan kadar pati 26%. Tanaman ini juga difokuskan untuk industri tapioka (Setiawan *et al.*, 2021).

Unila UK-1, merupakan klon ubi kayu lokal yang berasal dari daerah Liwa (Provinsi Lampung). Keunggulannya adalah sesuai untuk bahan dasar pembuatan nori (makanan khas Jepang) dan telah mendapatkan paten atas nama ketua peneliti Setyo Dwi Utomo dengan nomor pendaftaran paten: SID 201807023 pada tanggal 10 September 2018.

Berdasarkan keunggulan yang dimiliki oleh ubi kayu tersebut menyebabkan minat petani untuk menanam jenis ini semakin meningkat sehingga luas area penanaman juga meningkat. Dengan demikian, dibutuhkan bahan tanam dalam jumlah yang banyak dan kondisi *fresh*.

Penyediaan bahan tanam ubi kayu selama ini dilakukan dengan cara setek

batang (Hartati *et al.*, 2021). Untuk penanaman ubi kayu secara monokultur diperlukan sekitar 10.000 – 14.000 setek per hektar. Perbanyak dengan cara setek batang mempunyai beberapa kelemahan di antaranya yaitu, mudah terjadi penularan penyakit dari tanaman induk, setek tidak dapat disimpan lama, jumlah setek yang dihasilkan terbatas, karena dari satu tanaman ubi kayu hanya diperoleh sekitar 5-10 setek saja setelah tanaman berumur 8-10 bulan (Ardian *et al.*, 2011). Oleh karena itu perlu adanya suatu upaya atau teknologi yang mampu memperbanyak tanaman secara cepat dan dalam jumlah yang banyak.

Teknologi kultur jaringan tanaman merupakan teknologi memperbanyak bibit secara *in vitro* yang dapat menyediakan bibit dalam jumlah yang banyak, dalam waktu yang lebih cepat serta bibit yang dihasilkan seragam (Ogero *et al.*, 2012). Melalui perbanyak dengan teknologi kultur jaringan diharapkan ketersediaan bibit unggul bagi petani tidak lagi menjadi kendala.

Kemampuan memperbanyak bibit melalui kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh genotip tanaman, komposisi media, dan jenis serta konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan (Mathew *et al.*, 2014). Media Murashige and Skoog (1962) merupakan media dasar yang banyak digunakan untuk regenerasi serta multiplikasi berbagai macam jenis tanaman secara *in vitro* termasuk ubi kayu (Khumaida *et al.*, 2013; Sá *et al.*, 2018). Penambahan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang tepat pada media sangat menentukan keberhasilan regenerasi tanaman. Auksin dan sitokinin merupakan jenis ZPT yang sering ditambahkan pada media. Pada perbanyak tanaman secara *in vitro*, jenis auksin *naphtalene acetic acid*

(NAA) dan *benzylaminopurin* (BAP) dilaporkan sering menunjukkan keberhasilan. Penambahan BAP 0,1 mg L⁻¹ dan NAA 0,5 mg L⁻¹ memberikan pertumbuhan jumlah buku terbanyak pada genotip ubi kuning (Supatmi *et al.*, 2019). Jumlah tunas paling banyak dihasilkan oleh ubi kayu genotip Adira 2 adalah pada media MS yang ditambahkan 1,5 ppm BAP (Khumaida *et al.*, 2013).

Genotip tanaman merupakan faktor penting lainnya yang menentukan keberhasilan perbanyak tanaman secara *in vitro*. Genotip yang berbeda menunjukkan respons yang berbeda pada kemampuan multiplikasi tunas tanaman. Pada tanaman tebu genotip HSF-240 mampu menghasilkan jumlah tunas maksimum hingga 17,4 tunas pada media MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh BAP 1 mg L⁻¹ dikombinasikan dengan NAA 0,25 mg L⁻¹ sedangkan pada konsentrasi ZPT tersebut, genotip YT-53 hanya mampu menghasilkan 4,6 tunas (Khan *et al.*, 2012). Genotip ubi kayu Adira-4 menunjukkan respons yang paling bagus dibandingkan dengan Darul Hidayah dan Malang-6 dalam pembentukan tunas pada media *in vitro* dengan media dasar MS dan diperkaya dengan ZPT BAP 1 mg L⁻¹ + thidiazuron 0,1 mg L⁻¹ (Sukmadjaja & Widhiastuti, 2011). Selanjutnya perbedaan genotip juga memberikan respons yang berbeda pada beberapa tanaman lainnya seperti yang dilaporkan pada Anggrek (Humaira *et al.*, 2020), Stevia (Naranjo *et al.*, 2016), dan *Vaccinium* Spp (Scalzo *et al.*, 2016). Berdasarkan beberapa laporan tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh beberapa konsentrasi *benzyladenin* (BA) secara tunggal maupun dikombinasikan dengan *naphtalene acetic acid* (NAA) pada

konsentrasi 0,05 mg L⁻¹ terhadap induksi dan multiplikasi tunas ubi kayu secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman dan Persiapan Eksplan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung dari bulan September 2021 sampai Agustus 2022. Bahan tanam berupa setek batang ubi kayu, yang terdiri atas satu varietas yaitu UJ-3, dan dua klon ubi kayu yaitu klon BW-1 dan Unila UK-1 yang diperoleh dari petani di Tanjung Bintang, Lampung Selatan. Setek diambil dari tanaman berumur sekitar 10 bulan dipotong berukuran lebih kurang 30 cm dan ditanam dalam *polybag* berukuran 20 cm x 25 cm serta dipelihara di dalam rumah kaca. Perawatan yang dilakukan pada tanaman di rumah kaca meliputi, penyiraman, penyiangan gulma dan penyemprotan dengan pestisida.

Tunas samping yang tumbuh pada setek berumur lebih kurang 2 minggu di rumah kaca, diambil untuk disterilisasi. Tunas tersebut lalu dibuang semua daunnya dan selanjutnya dicuci di bawah air mengalir selama ± 1 jam. Tunas yang telah bersih dipotong-potong dengan ukuran ± 5 cm yang terdiri atas setidaknya satu buku. Tunas-tunas tersebut dicuci dengan detergen selama 5 menit dan dibilas dengan air hingga benar-benar bersih, selanjutnya dimasukkan ke dalam botol steril. Proses sterilisasi berikutnya dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Tunas yang telah bersih kemudian direndam di dalam larutan Clorox 20% selama 15 menit, lalu dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali. Setelah proses sterilisasi selesai, tunas dipotong dengan ukuran 1,5 – 2 cm dan setiap

potongan mengandung satu buku. Selanjutnya, tunas tersebut ditanam pada media ½ MS (media pre-kondisi) dan diinkubasi selama dua bulan pada suhu 25 ± 2 °C dengan pencahayaan penuh selama 24 jam.

Induksi dan Multiplikasi Tunas

Eksplan yang digunakan untuk induksi dan multiplikasi tunas berasal dari tunas steril yang telah berumur dua bulan pada media pre-kondisi. Percobaan disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yaitu varietas/klon ubi kayu sebagai faktor pertama terdiri atas varietas UJ-3 (K1), klon BW-1 (K2) dan Unila UK-1 (K3). Faktor kedua adalah media yang terdiri atas media Murashige and Skoog (MS) tanpa zat pengatur tumbuh (M1) sebagai kontrol, MS + BA 0,1 mg L⁻¹ (M2), MS + BA 0,1 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M3), MS + BA 0,3 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M4), MS + BA 0,5 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M5). Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali dan masing-masing ulangan terdiri atas satu eksplan. Selanjutnya tanaman diinkubasi di dalam ruang kultur pada suhu 25 ± 2 °C dengan pencahayaan penuh selama 24 jam yang berasal dari lampu *fluorencent* dengan intensitas cahaya 800-1000 lux. Inkubasi dilakukan selama 8 minggu dan dilakukan subkultur per empat minggu ke media yang sama.

Data dan Analisis

Pengamatan dilakukan setiap satu minggu sekali. Variabel yang diamati adalah (1) persentase eksplan yang membentuk tunas yang ditentukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang bertunas dibagi dengan total eksplan yang dikultur dikali 100, (2) jumlah tunas, ditentukan dengan cara menghitung jumlah tunas yaitu

yang telah memiliki setidaknya satu buku dan satu daun, (3) jumlah buku, (4) jumlah daun hijau, dan (5) jumlah daun gugur, ditentukan dengan cara menghitung semua daun yang telah berubah warna menjadi coklat/putih dan sudah gugur dari tanaman. Data hasil pengamatan kemudian diolah dan dianalisis dengan uji anova pada taraf 5% dan dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas berhasil terbentuk pada semua jenis ubi kayu yang diuji yaitu UJ-3, BW-1 dan Unila UK-1 pada semua media perlakuan. Pembentukan tunas pada umumnya diawali dengan pembentukan kalus pada sisi bekas potongan eksplan dan selanjutnya diikuti oleh munculnya tunas yang berasal dari mata tunas atau dari kalus yang terbentuk. Hasil pengamatan terhadap persentase eksplan yang berhasil membentuk tunas pada varietas UJ-3 dan klon BW-1 yaitu antara 75 - 100%. Sedangkan pada klon Unila UK-1, persentase eksplan bertunas sangat bervariasi tergantung pada media yang digunakan. Pada media M2 (MS + BA 0,1 mg L⁻¹), tunas berhasil terbentuk hingga 100%, sebaliknya pada media M5 (MS + BA 0,5 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹) menurunkan persentase eksplan bertunas hingga 25% (Tabel 1). Penurunan persentase eksplan bertunas pada genotip Unila UK-1 dengan peningkatan konsentrasi BA menjadi 0,5 mg L⁻¹ dan penambahan NAA 0,05 mg L⁻¹ pada media menyebabkan peningkatan massa kalus sehingga menghambat tumbuhnya tunas. Dalam hal ini diduga kandungan hormon endogen yang terdapat pada setiap genotip tanaman tersebut menyebabkan perbedaan respons dari masing-masing genotip dalam menghasilkan tunas.

Pembentukan tunas, akar atau kalus sangat dipengaruhi oleh keberadaan zat pengatur tumbuh dan adanya hormon endogen dalam eksplan. Hormon endogen memacu pembelahan sel serta mengontrol pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Rahman *et al.*, 2021a)

Selain genotip tanaman, jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh juga merupakan faktor penentu keberhasilan pembentukan tunas pada eksplan tanaman yang ditumbuhkan pada media *in vitro*. Genotip ubi kayu Adira 2 mampu menghasilkan tunas ubi kayu terbaik pada media MS dengan penambahan BAP 1,5 ppm (Khumaida *et al.*, 2013). Sedangkan, pada genotip Ubi kuning perkembangan dari kalus menjadi tunas tertinggi yaitu pada media 2,4-D dan Kinetin pada konsentrasi yang sama yaitu 8 mg L⁻¹ (Rahman *et al.*, 2021b). Perbedaan respons genotip tanaman terhadap induksi dan multiplikasi tunas juga dilaporkan pada 2 genotip tanaman tebu (B86-12 dan C86-56) di mana media MS dengan penambahan BAP konsentrasi 1,5 mg L⁻¹ dan 0,5 mg L⁻¹ Kinetin merupakan media yang optimal untuk genotip B86-12 sedangkan untuk genotip C86-56 media optimalnya adalah BAP 1,5 mg L⁻¹ dan Kinetin 1 mg L⁻¹ untuk pembentukan tunas (Shimelis *et al.*, 2014).

Pembentukan dan pertumbuhan tunas varietas/klon ubi kayu yang diuji pada semua media perlakuan pada 4 minggu setelah tanam (MST) dapat dilihat pada Gambar 1. Secara umum tunas yang dihasilkan oleh klon BW-1 terlihat tumbuh lebih baik, dengan ciri-ciri mempunyai batang yang lebih besar dan daun hijau yang lebih banyak serta tinggi tanaman yang juga lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan pada varietas UJ-3 dan klon Unila UK-1 pembentukan

tunas lebih didominasi oleh terbentuknya kalus.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi BA dan NAA terhadap persentase pembentukan tunas ubi kayu varietas UJ-3, klon BW-1 dan klon Unila UK-1.

Varietas/Klon	Media Perlakuan (mg L ⁻¹)	Persentase eksplan bertunas (%)
UJ-3	M1: (MS0)	100
	M2: (MS + BA 0.1)	100
	M3: (MS + BA 0,1 + NAA 0,05)	100
	M4: (MS + BA 0,3 + NAA 0,05)	100
	M5: (MS + BA 0,5 + NAA 0,05)	75
BW-1	M1: (MS0)	100
	M2: (MS + BA 0.1)	75
	M3: (MS + BA 0,1 + NAA 0,05)	100
	M4: (MS + BA 0,3 + NAA 0,05)	100
	M5: (MS + BA 0,5 + NAA 0,05)	100
UNILA UK-1	M1: (MS0)	50
	M2: (MS + BA 0.1)	100
	M3: (MS + BA 0,1 + NAA 0,05)	75
	M4: (MS + BA 0,3 + NAA 0,05)	75
	M5: (MS + BA 0,5 + NAA 0,05)	25

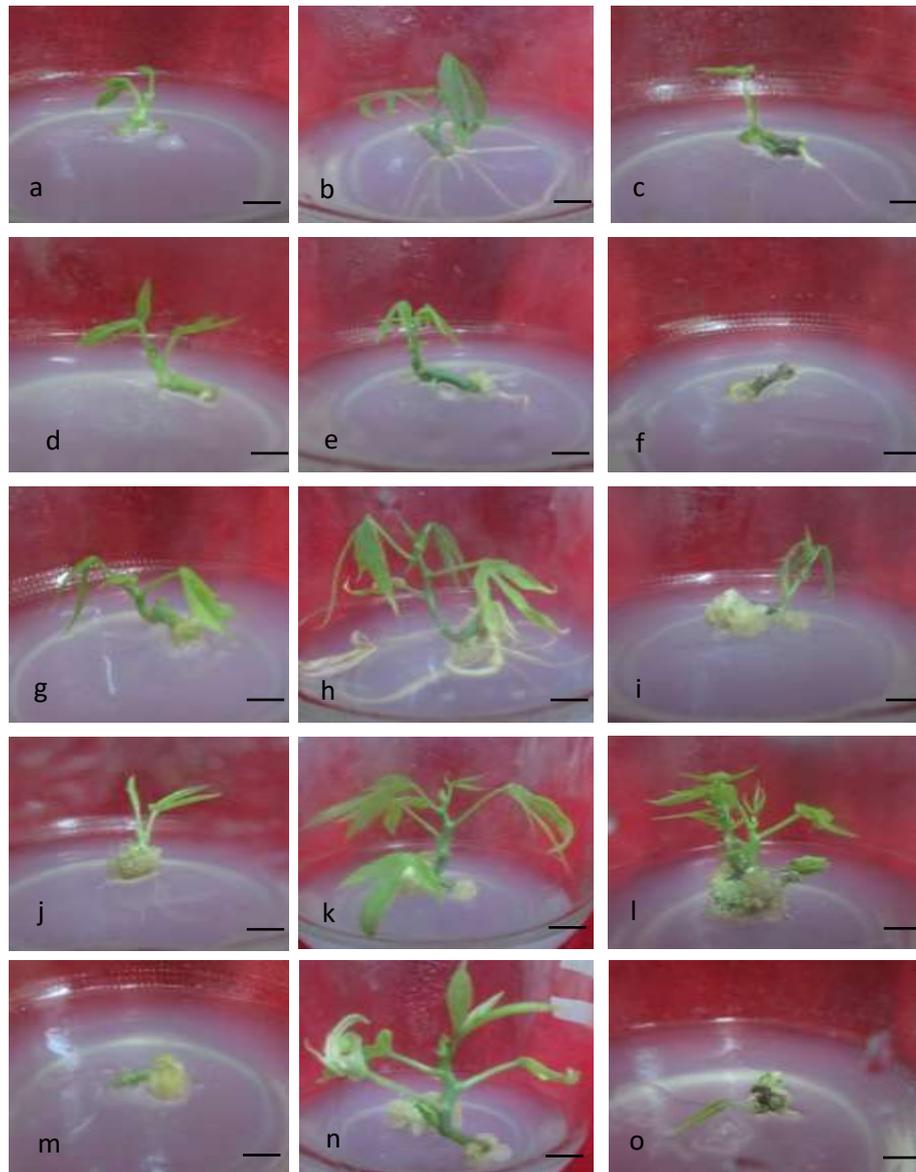
Pertumbuhan dan perkembangan tanaman dapat disebabkan oleh pengaruh fitohormon yang mempengaruhi inisiasi pembelahan sel (Sesay *et al.*, 2018). NAA (*Naphthalene Acetic Acid*) merupakan fitohormon dari kelompok auksin yang mempunyai peran mengatur sejumlah proses perkembangan seperti pembengkakan jaringan, pembelahan sel dan pembentukan akar adventif jika diberikan pada konsentrasi rendah. Meskipun NAA banyak dilaporkan berperan dalam menginduksi akar (Sesay *et al.*, 2018; Sukmadjaja & Widhiastuti, 2011; Yirssaw *et al.*, 2014), namun dalam penelitian ini kombinasi NAA dengan konsentrasi yang rendah yaitu 0,05 mg L⁻¹ dan BA 0,4 mg L⁻¹ dapat meningkatkan jumlah tunas pada klon Unila UK-1 (Tabel 2) dan jumlah buku pada BW-1 (Tabel 3). Hal serupa terjadi pada tanaman nenas tangkit yang dikulturkan pada media MS dengan NAA 1 mg L⁻¹ yang ditambahkan dengan BAP 2 atau 3 mg L⁻¹ dapat menambah jumlah

tunas, tetapi pemberian NAA di atas 3 mg L⁻¹ menghambat pertambahan jumlah tunas meskipun dikombinasikan dengan BAP (Zulkarnain and Neliyati, 2017). Nazir *et al.*, (2022) juga melaporkan pada tanaman obat *Valeriana jatamansi* bahwa rata-rata panjang tunas tertinggi diperoleh pada media MS dengan NAA 1 mg L⁻¹ dan BAP 2 mg L⁻¹.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah tunas (Tabel 2), terdapat interaksi antara genotip dan konsentrasi media yang digunakan terhadap rata-rata jumlah tunas ubi kayu. Rata-rata jumlah tunas tertinggi dihasilkan oleh klon Unila UK-1 pada media M4 (BA 0,4 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹) yaitu 1,25 tunas. Namun, penambahan konsentrasi BA hingga 0,5 mg L⁻¹ pada media menyebabkan terjadinya peningkatan pertumbuhan kalus, dan kalus yang terbentuk sebagian tidak berhasil membentuk tunas hingga akhir pengamatan dilakukan. Sebaliknya, kalus yang awalnya berwarna putih kehijauan berubah warna

menjadi coklat atau hitam. Pencoklatan pada kalus terjadi akibat adanya aktivitas enzim polifenol oksidase yang terinduksi akibat adanya pelukaan pada jaringan tanaman (Khumaida *et al.*, 2013). Pada tunas ubi kayu dilaporkan oleh Sukmadjaja

& Widhiastuti, (2011), pencoklatan tersebut dapat diturunkan dengan pemberian *polyvinyl pirolidone* (PVP) selama lebih kurang 1-2 minggu pada media induksi sebelum dipindahkan pada media perlakuan multiplikasi tunas.



Gambar 1. Pembentukan dan multiplikasi tunas pada varietas UJ-3 (kiri), klon BW-1 (tengah), dan Unila-UK-1 (kanan) umur 4 MST pada media M1 (a, b, c), M2 (d,e,f), M3 (g, h, i), M4 (j, k, l) dan M5 (m, n, o). Skala bar = 0,5 cm.

Proses pembentukan tunas yang dihasilkan pada penelitian ini terjadi melalui dua cara yaitu secara langsung dan secara tidak langsung (*direct and indirect*

organogenesis). Pembentukan tunas secara langsung terutama terjadi pada media MS0 (kontrol), tunas langsung terbentuk dari buku (*node*) yang disebut juga dengan tunas

aksilar. Sedangkan dengan penambahan hormon sitokinin atau sitokinin yang dikombinasikan dengan auksin, maka menginduksi terbentuknya kalus yang sebagian diikuti dengan pembentukan tunas (*indirect organogenesis*).

Hal ini dilaporkan oleh Sharma *et al.*, (2021) bahwa regenerasi tunas dapat terjadi dari kalus pada tanaman *Citrus* yang ditumbuhkan pada media MS dengan penambahan BA dan NAA. Di samping itu masih pada tanaman yang sama MS dengan 0,5 mg L⁻¹ BAP dan 500 mg L⁻¹ malt extract juga mampu meregenerasikan tunas dari kalus (Hussain *et al.*, 2018).

Rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata jumlah tunas hasil penelitian yang dilakukan oleh Sukmadjaja & Widhiastuti, (2011) yang menghasilkan tunas genotip ubi kayu Adira 4 hingga 4,20 tunas pada media dengan penambahan BAP 0,1 mg L⁻¹. Sedangkan jika dibandingkan dengan hasil percobaan Khumaida *et al.*, (2013) jumlah tunas yang dihasilkan tidak jauh berbeda, rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan masih di bawah 2 tunas.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi BA dan NAA terhadap rata-rata jumlah tunas ubi kayu varietas UJ-3, klon BW-1 dan klon Unila UK-1 pada 7 MST.

Media Perlakuan (mg L ⁻¹)	Varietas/Klon		
	UJ-3	BW-1	UNILA UK-1
M1: (MS0)	1,00±0,00 a (a)	1,00±0,00 a (a)	0,50±0,50 a (bc)
M2: (MS + BA 0.1)	1,00±0,00 a (a)	1,00±0,00 a (a)	1,00±0,00 a (ab)
M3: (MS + BA 0,1 + NAA 0,05)	1,00±0,00 a (a)	1,00±0,00 a (a)	0,75±0,43 a (abc)
M4: (MS + BA 0,3 + NAA 0,05)	1,00±0,00 a (a)	1,00±0,00 a (a)	1,25±1,09 a (a)
M5: (MS + BA 0,5 + NAA 0,05)	1,00±0,00 a (a)	1,00±0,00 a (a)	0,25±0,43 b (c)

Keterangan: Nilai tengah yang diikuti huruf sama tanpa tanda kurung dibaca secara horizontal dan dalam tanda kurung dibaca secara vertikal, menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Selain jumlah tunas, jumlah buku merupakan bagian yang penting dalam perbanyakan tanaman ubi kayu, karena pada umumnya ubi kayu diperbanyak dengan cara setek beberapa buku atau dengan satu buku pada media *in vitro*. Pengamatan terhadap jumlah buku yang terbentuk pada masing-masing tunas dilakukan pada saat tanaman berumur 7 minggu setelah tanam. Hasil analisis uji

lanjut BNT pada taraf 5% (Tabel 3) menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara varietas/klon dan media tumbuh yang digunakan terhadap jumlah buku yang dihasilkan. Jumlah buku tertinggi sebanyak 8 buku dihasilkan oleh klon BW-1 pada media M3 (MS + BA 0,1 mg L⁻¹ dan NAA 0,05 mg L⁻¹) serta media M4 (MS + BA 0,3 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹).

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi BA dan NAA terhadap rata-rata jumlah buku ubi kayu varietas UJ-3, klon BW-1 dan Unila UK-1 pada 7 MST.

Media Perlakuan (mg L ⁻¹)	Varietas/Klon		
	UJ-3	BW-1	UNILA UK-1
M1: (MS0)	3,75±2,22 a (a)	5,75±0,96 a (bc)	1,50±1,29 b (b)
M2: (MS + BA 0.1	3,25±1,70 a (a)	3,25±2,75 a (c)	0,75±0,95 b (b)
M3: (MS + BA 0,1 + NAA 0,05)	3,75±1,26 b (a)	8,00±0,82 a (a)	2,00±2,44 b (b)
M4: (MS + BA 0,3 + NAA 0,05)	3,75±1,26 b (a)	8,00±1,83 a (a)	5,50±1,73 b (a)
M5: (MS + BA 0,5 + NAA 0,05)	1,25±0,96 b (b)	7,25±1,70 a (ab)	0,00±0,00 b (b)

Keterangan: Nilai tengah yang diikuti huruf sama tanpa tanda kurung dibaca secara horizontal dan dalam tanda kurung dibaca secara vertikal, menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

BA termasuk ke dalam kelompok hormon sitokinin yang berperan dalam memacu pertumbuhan tunas tanaman yang ditumbuhkan pada media *in vitro*. Pertumbuhan tunas yang baik ditandai dengan pertambahan tinggi tanaman yang diikuti dengan pertambahan jumlah buku. Namun, dalam menjalankan perannya sebagai penginduksi tunas, hormon yang diberikan secara eksogen akan dipengaruhi oleh hormon endogen yang diproduksi oleh tanaman sehingga terjadi kombinasi yang sesuai untuk memberikan arah perkembangan tanaman tersebut yaitu akan membentuk tunas jika konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin atau akan menginduksi akar jika konsentrasi auksin lebih tinggi dari pada sitokinin. Sedangkan konsentrasi auksin dan sitokinin yang seimbang akan menginduksi terbentuknya kalus pada eksplan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa genotip Unila UK-1 yang ditumbuhkan pada media MS dengan BA 0,5 mg L⁻¹ dan NAA 0,05 mg L⁻¹ jumlah buku yang dihasilkan adalah nol

atau tidak terbentuk buku karena eksplan terinduksi untuk menghasilkan kalus yang tidak berkembang menjadi tunas. Hal ini diduga disebabkan karena adanya pengaruh dari hormon endogen pada genotip tersebut yang menyebabkan terjadinya keseimbangan antara auksin dan sitokinin yang diberikan sehingga pertumbuhan eksplan lebih banyak ke pembentukan kalus.

Jumlah buku pada klon BW-1 lebih tinggi dibandingkan dengan varietas UJ-3 dan Unila UK-1. Semakin banyak jumlah buku yang terbentuk pada tunas menjadi semakin bagus karena setiap buku yang terbentuk dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan pada periode kultur selanjutnya.

Interaksi antara berbagai konsentrasi media dengan varietas/klon ubi kayu yang digunakan dalam penelitian ini berpengaruh nyata terhadap rata-rata jumlah daun hijau yang dihasilkan. Banyaknya jumlah daun hijau merupakan salah satu indikator pertumbuhan tanaman yang lebih baik. Rata-rata jumlah daun hijau tertinggi (6

helai daun) terdapat pada klon BW-1 dengan perlakuan media M3 (MS + BA 0,1 mg L⁻¹ dan NAA 0,05 mg L⁻¹), namun hasil ini tidak berbeda nyata dengan media M4 (MS + BA 0,3 mg L⁻¹ dan NAA 0,05 mg L⁻¹) (5 helai daun) serta media kontrol MS0 (6 helai daun). Pada varietas UJ-3, daun hijau tertinggi dihasilkan pada media M4 (MS + BA 0,3 mg L⁻¹ dan NAA 0,05 mg L⁻¹). Klon Unila UK-1 menghasilkan jumlah daun hijau tertinggi pada media M3 (MS + BA 0,1 mg L⁻¹ dan NAA 0,05 mg L⁻¹) (Tabel 4). Pada penelitian Sesay *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa jumlah daun hijau ubi kayu tertinggi didapatkan pada media BAP 0,1 mg L⁻¹ pada genotip *Slicass 6* (6,17 daun), *Slicass 11*

(6,37 daun) dan *Mean* (6,08 daun) pada umur 4 minggu setelah inkubasi, sedangkan NAA menunjukkan respons yang kurang bagus terhadap pembentukan daun hijau. Hal tersebut juga dikemukakan oleh Waro *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa Auksin NAA yang ditambahkan pada media MS akan mempengaruhi inisiasi tunas menjadi lebih lambat dan memacu pembentukan kalus pada eksplan meristem ubi kayu. Pada penelitian ini penambahan NAA konsentrasi rendah (0,05 mg L⁻¹) pada media MS dengan BA mampu meningkatkan jumlah daun hijau dibandingkan dengan tanpa pemberian NAA.

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi BA dan NAA terhadap rata-rata jumlah daun hijau ubi kayu varietas UJ-3, klon BW-1 dan klon Unila UK-1 pada 7 MST

Media Perlakuan (mg L ⁻¹)	Varietas/Klon		
	UJ-3	BW-1	UNILA UK-1
M1: (MS0)	3,00±0,71 b (b)	6,00±0,71 a (a)	2,00±2,12 b (a)
M2: (MS + BA 0.1)	4,00±0,71 a (ab)	3,00±2,24 a (c)	1.25±0,43 b (a)
M3: (MS + BA 0,1 + NAA 0,05)	4,00±0,71 b (ab)	6,00±1,58 a (a)	2,00±1,22 c (a)
M4: (MS + BA 0,3 + NAA 0,05)	5,00±1,22 a (a)	5,00±1,58 a (ab)	1.58±0,92 b (a)
M5: (MS + BA 0,5 + NAA 0,05)	1,00±1,00 b (c)	4.16±0,76 a (bc)	0.25±0,43 b (b)

Keterangan: Nilai tengah yang diikuti huruf sama tanpa tanda kurung dibaca secara horizontal dan dalam tanda kurung dibaca secara vertikal, menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

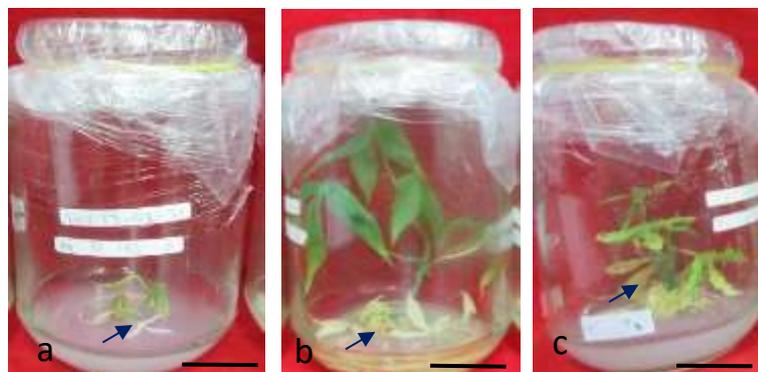
Kegiatan kultur jaringan dapat menginduksi biosintetik etilen di dalam botol kultur sehingga menjadi penyebab terhambatnya pertumbuhan tanaman (Cheng *et al.*, 2018). Etilen merupakan hormon berupa gas yang dihasilkan oleh jaringan tanaman yang mempengaruhi proses fisiologi tanaman termasuk pemasakan buah dan gugurnya daun (Kim *et al.*, 2019). Pada penelitian ini, selain

pengamatan terhadap jumlah daun hijau, juga ditemukan pada beberapa media perlakuan terdapat daun-daun yang berubah warna menjadi coklat/putih dan gugur setelah beberapa minggu berada di media perlakuan. Hal ini diduga sebagai akibat tanaman di dalam botol kultur mulai memproduksi etilen sehingga menyebabkan beberapa daun menjadi gugur (Gambar 2). Pada minggu ke-8, jumlah daun gugur

tertinggi ditemukan pada media BA 0,3 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ (M4) untuk semua varietas/klon yang digunakan yaitu varietas UJ-3 (3,0 helai daun), klon BW-1 (4,5 helai daun), dan klon Unila UK-1 (2,75 helai daun) (Tabel 5). Lamanya inkubasi planlet dalam media kultur dapat menginduksi produksi etilen dalam botol kultur sehingga menyebabkan terjadinya nekrosis hingga pada kondisi tertentu dapat menyebabkan kematian tanaman. Nekrosis pada planlet ini dilaporkan terjadi karena beberapa faktor seperti, kekurangan atau

ketidakseimbangan nutrisi, ada atau tidaknya zat pengatur tumbuh (auksin atau sitokinin) pada fase perkembangan spesifik tertentu, ketidakseimbangan antara auksin dan sitokinin akibat penambahan auksin dan sitokinin eksogen, serta kelembaban yang terlalu tinggi di dalam botol kultur yang dapat menginduksi produksi etilen (Teixeira *et al.*, 2020).

Pertumbuhan planlet dalam botol kultur akan terganggu karena terjadinya akumulasi dan peningkatan gas etilen (Supatmi *et al.*, 2019).



Gambar 2. Visualisasi tunas tanaman dengan daun gugur pada media MS + BA 0,3 mg L⁻¹ + NAA 0,05 mg L⁻¹ varietas UJ-3 (a), klon BW-1 (b), dan klon Unila UK-1 (c) umur 8 MST. Skala bar = 1 cm

Secara keseluruhan berdasarkan hasil percobaan yang dilakukan menunjukkan bahwa rata-rata jumlah tunas yang menjadi variabel inti pada percobaan ini tidak berpengaruh nyata pada perlakuan kombinasi beberapa konsentrasi BA dan NAA pada varietas UJ-3 dan klon BW-1. Yirssaw *et al.*, (2014) melaporkan adanya efek sinergistik atau efek yang saling mendukung dan efek antagonistik (saling berlawanan) antara hormon-hormon yang diujikan secara bersamaan. Sehingga hormon-hormon yang mempunyai efek sinergistik akan menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi lebih baik, sebaliknya terdapat hormon tanaman yang

apabila dikombinasikan akan menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi terhambat. Berdasarkan hasil percobaan dari peneliti tersebut pada tanaman ubi kayu kombinasi antara BA dan Kinetin pada konsentrasi rendah yaitu tidak lebih dari 0,75 mg L⁻¹ mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman berdasarkan variabel pertumbuhan jumlah tunas (7,3 tunas), jumlah daun (5,67 tunas) dan jumlah buku (5,05 buku) setelah enam minggu berada di media kultur. Sehingga dapat dikatakan bahwa kombinasi BA dan Kinetin mempunyai efek sinergistik terhadap pertumbuhan tanaman secara *in vitro*. Dengan demikian perlu dilakukan

percobaan lebih lanjut untuk mengetahui kombinasi hormon yang sesuai untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman terutama multiplikasi tunas pada varietas UJ-3 dan klon BW-1. Hasil tersebut diharapkan nantinya akan bermanfaat untuk menambah ketersediaan bibit dari

dua jenis ubi kayu tersebut dalam waktu yang lebih cepat dengan jumlah yang lebih banyak. Ketersediaan bibit dengan kualitas dan kuantitas yang bagus sangat diharapkan oleh petani dan juga industri, terutama industri tepung tapioka.

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi BA dan NAA terhadap rata-rata jumlah daun gugur ubi kayu varietas UJ-3, klon BW-1 dan Unila UK-1 pada 8 MST.

Media Perlakuan (mg L ⁻¹)	Varietas/Klon		
	UJ-3	BW-1	UNILA UK-1
M1: (MS0)	0,00±0,00 a (c)	0,25±0,43 a (bc)	0,25±0,43 a (c)
M2: (MS + BA 0.1)	2,00±0,71 a (ab)	0,00±0,00 b (c)	0,50±0,87 b (bc)
M3: (MS + BA 0,1 + NAA 0,05)	1,00±0,00 a (bc)	2,00±2,00 a (b)	1,75±1,30 a (ab)
M4: (MS + BA 0,3 + NAA 0,05)	3,00±0,71 b (a)	4,50±1,12 a (a)	2,75±1,79 b (a)
M5: (MS + BA 0,5 + NAA 0,05)	1,00±0,71 b (bc)	4,25±1,79 a (a)	0,25±0,43 b (c)

Keterangan: Nilai tengah yang diikuti huruf sama tanpa tanda kurung dibaca secara horizontal dan dalam tanda kurung dibaca secara vertikal, menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT %

SIMPULAN

Semua media perlakuan dapat menginduksi varietas/klon ubi kayu. Persentase eksplan yang menghasilkan tunas pada ubi kayu varietas UJ-3 mencapai 100% kecuali pada media M5 (75%). Pada klon BW-1 terbentuk hingga 100% kecuali pada media M2 (75%). Sedangkan pada klon Unila UK-1 eksplan berhasil membentuk tunas hingga 100% hanya pada media M2. Rata-rata jumlah tunas tertinggi (1,25 tunas) dihasilkan oleh klon Unila UK-1 pada media M4. Klon BW-1 mampu menghasilkan jumlah buku tertinggi (8 buku) pada media M3 dan M4 serta jumlah daun hijau tertinggi (6 helai) pada media M3. Jumlah daun gugur tertinggi dihasilkan oleh klon

BW-1 (4,50 helai) pada media M4 setelah 8 minggu inkubasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Fakultas Pertanian Universitas Lampung atas pendanaan penelitian melalui DIPA Fakultas Pertanian dan Program Matching Fund Kedaireka DIKTI 2022.

DAFTAR PUSTAKA

Ardian, Kresna dan Agustiansyah. (2011). The Effect of Some Concentrations of Benzyl Adenine and Naphthalene Acetic Acid In Vitro Culture of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 12(1),

- 43–49.
- Anggraini, N. R., Yuliadi, E., Setiawan, K., Syamsoel, H. (2021). Karakterisasi pertumbuhan, Kandungan pati, dan kadar HCN berbagai klon ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal Tropical Upland Resources*, 03(01), 45–53.
<https://doi.org/10.23960/jtur.vol3no1.2021.117>
- Arief, R. W., & Asnawi, R. (2012). Pengembangan pemanfaatan ubikayu di provinsi Lampung melalui pengolahan tepung ubikayu dan tepung ubikayu modifikasi. *Buletin Palawija*, 91(24), 82–91.
- Chusun, A., Caroline, J., & P, M. I. Y. (2015). *Pemanfaatan limbah cair singkong dengan urine sapi dan air cucian kikir sapi sebagai pupuk organik caik*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan III. Institut Teknologi Adhitama Surabaya. 679–686.
- Hartati, T. M., Roini, C., & Rodianawati, I. (2021). Growth Response of Local Cassava to Cutting Models and the Number of Buds. *Caraka Tani Journal of Sustainable Agriculture*, 36(2), 379–391.
<https://doi.org/10.20961/carakatani.v36i2.37746>
- Hermanto & Fitriani. (2019). Pemanfaatan kulit dan daun singkong sebagai campuran bahan pakan ternak unggas. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 13(2). 284-295.
<http://dx.doi.org/10.26578/jrti.v13i2.5610>
- Humaira, M., Purwito, A., Sudarsono, Sukma D. (2020). Multiplikasi tunas in vitro *Anggrek Phalaenopsis* dan analisis keragaman genetik dengan marka SNAP. *Jurnal Agron Indonesia*, 48(3), 59–67.
<https://doi.org/10.24831/jai.v48i1.29149>
- Hussain, M., Raja, N. I., Rashid, H., & Mashwani, Z. (2018). Establishment of an efficient protocol for plantlets regeneration via direct and indirect organogenesis in citrus reticulate blanco (Kinnow mandarin). *Pakistan Journal of Botany*, 50(3). 1203-1210
- Khan, M. R., Muhammad, A., & Hussain, I. (2012). Rapid in vitro multiplication of sugarcane elite genotypes and detection of sugarcane mosaic virus through two Steps RT-PCR. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14(6). 870-878
- Khumaida, N., dan Fauzi, A. R. (2013). Induksi tunas ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) var. Adira 2 secara in vitro. *J. Agron. Indonesia*. 41(2), 133–139. doi: [10.24831/jai.v41i2.7518](https://doi.org/10.24831/jai.v41i2.7518)
- Kim, K., Seo, J., Moon, J., Ogaddee, P., & Girdthai, T. (2019). Physiological and ethylene accumulation responses of cassava under drought stress. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 346(1), 012092.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/346/1/012092>
- Kotto, F., Yuliadi, E., Setiawan, K., & Hadi, M. S. (2020). Inventarisasi Klon Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Di Empat Wilayah Provinsi Lampung. *J. Trop. Upland. Res.* 02(02), 162–172.
<https://doi.org/10.23960/jtur.vol2no2.2020.100>
- Mathew, D., Nehru, J., & Botanical, T. (2014). Factors Affecting the in vitro Multiplication of the Endemic Zingiber *Curcuma haritha* Mangaly and Sabu. *Asian Journal of Plant Sciences*. 5(5): 847-853.

- <https://doi.org/10.3923/ajps.2006.847.853>
- Mongomake, K., Doungous, O., Khatibi, B., & Fondong, V. N. (2015). Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *Springer Plus*, 4:477. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1272-4>
- Naranjo, E. J., Betin, O. F., Inés, A., Trujillo, U., Posada, R. C., & Atehortúa, L. (2016). Effect of genotype on the in vitro regeneration of stevia rebaudiana via somatic embryogenesis. *Acta Biologica Colombiana*, 21(1), 87-98. DOI:10.15446/abc.v21n1.47382
- Natalia T. W, Astutik dan Astri S. (2020). Multiplikasi meristem ubikayu (*Manihot esculenta*) dalam media Murashige and Skoog (MS) modifikasi NAA (Naphthalene Acetic Acid) dan BA (Benzyl Adenin). *Buana Sains*, 20(2), 121–130.
- Nazir, U., Gul, Z., Shah, G. M., & Khan, N. I. (2022). Interaction Effect of Auxin and Cytokinin on in Vitro Shoot Regeneration and Rooting of Endangered Medicinal Plant Valeriana jatamansi Jones through Tissue Culture. *American Journal of Plant Sciences*, 13(02), 223–240. <https://doi.org/10.4236/ajps.2022.132014>
- Ogero, K. O., Mburugu, G. N., Mwangi, M., & Ombori, O. (2012). In vitro Micropropagation of Cassava Through Low Cost Tissue Culture. *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 205-209.
- Pranowo, D., Setiawan, K., Hadi, S., & Yuliadi, E. (2021). Deskripsi klon tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* crantz) yang ditanam petani di enam kabupaten di provinsi lampung. *Jurnal Kelitbangan*, 9(3), 271–280. <https://doi.org/10.35450/jip.v9i03.249>
- Rahman, N., Fitriani, H., Rahman, N., & Hartati, N. S. (2021). The influence of various growth regulators on induction organogenic callus from Gajah and Kuning cassava genotype (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Ilmu Dasar*, 22(2), 119-126. <https://doi.org/10.19184/jid.v22i2.9305>
- Sá, J. F. De, Sampaio, S., Inês, M., & Mendes, D. S. (2018). *Culture media for the multiplication of wild Manihot species. Ciência e Agrotecnologia*, 42(6), 598–607.
- Scalzo, J., Donno, D., Miller, S., Ghezzi, M., Mellano, M. G., Cerutti, A. K., & Beccaro, G. L. (2016). Effect of genotype, medium, and light on in vitro plant proliferation of *Vaccinium spp.* *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 44(4), 231-246. <https://doi.org/10.1080/01140671.2016.1206946>
- Sesay, J. V., Yamba, N. G. G., Sherman-kamara, J., & Quee, D. D. (2018). Development of in vitro propagation protocol for some recalcitrant cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes in Sierra Leone. *African Journal of Biotechnology*, 17(18), 606–613. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16330>
- Setiawan, K., Paringin, A E D., Yuliadi, E., Hadi, M S., and Ardian. (2021). The effect of micro fertilizer on growth and yield of two cassava clones (*Manihot esculenta* Crantz) planting in early dry-season, South Lampung, Indonesia. *Earth and Environmental Science*, 824 012002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/824/1/012002>
- Sharma, P., Roy, B., & Roy, M. (2021).

- Reports On Direct And Indirect Organogenesis Through Tissue Culture In Citrus. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sci.* Vol. 23(3), 339-346.
- Shimelis, D., Bantte, K., & Feyissa, T. (2014). Advances in Crop Science and Technology Interaction Effects of 6-Benzylaminopurine and Kinetin on In vitro Shoot Multiplication of Two Sugarcane (*Saccharum officinarum L.*) Genotypes, 2(4), 2–6. <https://doi.org/10.4172/2329-8863.1000143>
- Sukmadjaja, D., & Widhiastuti, H. (2011). Effects of plant growth regulators on shoot multiplication and root induction of cassava varieties. *Biotropia*, 18(1), 50–60. <https://doi.org/10.11598/btb.2011.18.1.138>
- Sundari, T. (2010). Pengenalan Varietas Unggul dan Teknik Budidaya Ubi kayu (Materi Pelatihan Agribisnis bagi KMPH). The Merang REDD Pilot Project (MRPP) is a technical co-operation project (GTZ Project No.2008.9233.1) jointly funded by the German Federal Ministry of Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety (BMU) through GTZ and by the Government of the Republic of Indonesia through the Ministry of Forestry (MoF).
- Supatmi, S., Rahman, N., & Hartati, N. S. (2019). Induksi, multiplikasi dan pertumbuhan tunas ubi ayu (*Manihot esculenta* Crantz) genotipe Ubi Kuning secara in vitro. *Jurnal biologi indonesia*, 14(2), 191-200. <https://doi.org/10.14203/JBI.V14I2.3738>
- Teixeira, J. A., Alanagh, E. N., Barreal, M. E., & Kher, M. M. (2020). Shoot tip necrosis of in vitro plant cultures: a reappraisal of possible causes and solutions. *Planta*, 252(47), 1-35, . Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03449-4>
- Waro, N. T., Astutik dan Sumiati, A. (2020). Multiplikasi meristem ubikayu (*Manihot esculenta*) dalam media Murashige and Skoog (MS) modifikasi NAA (Naphtalene Acetic Acid) dan BA (Benzyl Adenine). *Buana Sains*. 20 (2), 121-130. <https://doi.org/10.33366/bs.v20i2.2256>
- Yirssaw, D., Wondyifraw, T., Nigussie, D., & Bekele, A. (2014). Effects of plant growth regulators on in vitro cultured nodal explants of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) clones. *African Journal of Biotechnology*, 13(28), 2830–2839. <https://doi.org/10.5897/ajb2013.13287>
- Zamora, L. L., Amir, J., Calderón, G., Vázquez, E. T., & Bolaños, E. (2010). Optimization of Ethanol Production Process from Cassava Starch by Surface Response. *J. Mex. Chem. Soc.*, 54(4). <https://doi.org/10.29356/jmcs.v54i4.906>
- Zulkarnain & Neliyati. (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>