

Optimasi Produksi Bibit Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) Kultivar Granola dengan Teknik Fotoautotrofik

Optimization of Potato (Solanum tuberosum) Seedling Production Cultivar Granola Using Photoautotrophic System

Sonya Putri Rai, Ni Made Armini Wiendi*, dan Krisantini

Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jalan Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Telp. & Faks. 62-251-8629353 e-mail agronipb@indo.net.id

*Penulis korespondensi: nmarmini@gmail.com

Disetujui 7 Januari 2015/ *Publish online* 15 Januari 2015

ABSTRACT

In vitro plants rarely photosynthesize; their cuticle, vascular tissue between roots and shoots and stomata do not grow and functioning so that the *in vitro* derived plantlets had low survival in *ex vitro* conditions. Photoautotrophic micropropagation have potentials to overcome these limitations as it can improve plants' strength and survival when the plantlets were transferred into *ex vitro* conditions. This research aims to study the growth of potato 'Granola' cultured *in vitro* with photoautotrophic system to provide good quality potato explants. This research was conducted at the Laboratory of Tissue Culture 2, morphological analysis of stomata was conducted at the Laboratory of Micro Technique, Department of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University. The research was conducted from November 2014 until April 2015. This research is consisted of two separate experiments. The first experiment used a single node explant, a second trial using shoot explants. The experiment was arranged in a Randomized Blok Design with two factors concentration of sugar and ventilation. Increases in sucrose concentration correlated positively to the growth of *Solanum tuberosum* plantlets. Interaction of low sugar and additional ventilation increased the number of stomata and chloroplasts as well as narrowing the diameter of stomata. 45 % plantlets grown on media with the treatment of 25 gL⁻¹ sugar with 1 ventilation and 67 % on 25 gL⁻¹ sugar with 2 ventilation survived and could be used for seedling production. No plantlets from shoot explant (second experiment) survived in the acclimatization stage.

Keywords : *in vitro*, photoautotrophic, photosynthesis, potato

ABSTRAK

Tanaman yang ditumbuhkan dalam kondisi *in vitro* pada umumnya tidak melakukan fotosintesis, lapisan kutikula dan jaringan pembuluh antara akar dan pucuk tidak berkembang serta stomata belum berfungsi dengan baik sehingga sulit bertahan pada saat aklimatisasi. Teknik fotoautotrofik perlu dikembangkan untuk meningkatkan ketahanan planlet saat dipindahkan ke kondisi *ex vitro*. Penelitian ini bertujuan mempelajari respon pertumbuhan kentang kultivar Granola yang dikulturkan dengan sistem fotoautotrofik untuk menyediakan bibit kentang yang unggul dan bermutu. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 2, analisis morfologi stomata dilakukan di Laboratorium Mikro Teknik, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian dilakukan dari bulan November 2014 hingga April 2015. Penelitian ini terdiri dari dua percobaan terpisah. Percobaan pertama menggunakan bahan tanam buku tunggal, percobaan kedua menggunakan bahan tanam pucuk. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLK) dua faktor, yaitu konsentrasi gula dan ventilasi. Pada percobaan pertama diperoleh bahwa peningkatan konsentrasi gula nyata meningkatkan jumlah daun dan buku tunas kentang (*Solanum tuberosum*). Interaksi gula yang rendah dan penambahan ventilasi menyebabkan peningkatan jumlah stomata dan kloroplas serta mengecilnya diameter stomata daun. Sebanyak 45 % planlet yang ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi gula 25 gL⁻¹ dengan ventilasi 1 serta 67 % planlet dari media gula 25 gL⁻¹ dengan ventilasi 2 mampu bertahan selama aklimatisasi dan diduga dapat digunakan untuk produksi bibit. Pada percobaan 2 tidak terdapat planlet yang mampu bertahan pada tahap aklimatisasi.

Kata kunci : fotoautotrofik, fotosintesis, *in vitro*, kentang

PENDAHULUAN

Kentang merupakan salah satu jenis sayuran yang mendapat prioritas untuk dikembangkan di Indonesia. Berdasarkan angka konsumsinya, kentang merupakan bahan pangan keempat di dunia setelah padi, jagung dan gandum. Pada basis bobot segar, kentang memiliki kandungan protein tertinggi dibandingkan dengan umbi-umbian lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa kentang memiliki potensi yang baik untuk mendukung program diversifikasi pangan dalam rangka mewujudkan ketahanan pangan berkelanjutan. Produktivitas tanaman kentang di Indonesia relatif masih rendah dan tidak stabil, yaitu berkisar antara 15 sampai 16 ton ha⁻¹ (BPS, 2013). Produktivitas kentang maksimum di Australia dan California, Amerika Serikat lebih dari 50 ton ha⁻¹ dengan umur panen 120 hari dan kultivar yang ditanam adalah Delaware, Kennebec dan Atlantic (Rukmana, 2007). Indonesia masih mengimpor kentang untuk memenuhi kebutuhan akan bibit, benih dan bahan pangan terutama untuk industri pengolahan.

Rendahnya produksi Indonesia disebabkan belum banyaknya petani penghasil bibit kentang bermutu, sehingga permintaan bibit kentang tidak dapat dipenuhi. Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi kendala tersebut adalah dengan memanfaatkan bioteknologi yaitu melalui kultur jaringan atau pembiakan mikro kentang. Dengan teknik ini dapat dihasilkan benih berjumlah banyak dalam waktu relatif singkat dan bebas dari penyakit sistemik, terutama virus (Hidayat, 1991).

Masa aklimatisasi merupakan masa kritis bagi kelangsungan hidup tanaman hasil kultur jaringan. Aklimatisasi adalah satu tahapan dalam kultur jaringan yang merupakan proses adaptasi planlet hidup pada kondisi aseptik dan heterotrof lalu dipindah ke kondisi yang tidak aseptik dan harus hidup dalam kondisi autotrof. Tanaman kultur jaringan hampir tidak pernah berfotosintesis, lapisan kutikula tidak berkembang, jaringan pembuluh antara akar dan pucuk tidak berkembang serta stomata yang belum berfungsi dengan baik. Kondisi tersebut menyebabkan tanaman kurang mampu hidup setelah aklimatisasi akibat belum mampu berfotosintesis secara optimal dan beradaptasi pada lingkungan *ex vitro*.

Menurut Kozai *et al.* (2005) kultur fotoautotrofik merupakan sistem kultur jaringan tanaman dengan sumber karbon tergantung sepenuhnya pada tanaman *in vitro*. Dengan sistem ini tanaman ditumbuhkan dalam media kultur tanpa gula agar tanaman terlatih melakukan fotosintesis sedini mungkin. Lingkungan

Optimasi Produksi Bibit.....

fotoautotrofik harus didukung oleh lingkungan yang menguntungkan untuk eksplan atau planlet, dengan memperhatikan konsentrasi CO₂, intensitas cahaya dan kelembaban udara di dalam botol kultur. Perbanyak tanaman dalam lingkungan fotoautotrofik secara *in vitro* mempunyai berbagai keuntungan, antara lain kemudahan dalam pengawasan lingkungan fisik, meningkatkan multiplikasi, meningkatkan persentase planlet yang hidup, menekan kontaminasi, dapat diterapkan pada wadah kultur yang besar dan dapat mengurangi biaya produksi (bahan-bahan kimia). Pada masa aklimatisasi, planlet hasil perbanyak dalam keadaan fotoautotrofik lebih mampu bertahan hidup, karena sejak dalam botol kultur tanaman sudah mulai berfotosintesis dan respirasi, sehingga lebih mudah beradaptasi dengan lingkungan *ex vitro* (Pertamawati, 2010).

Hasil penelitian pada plantlet *Limonium latifolium* menunjukkan bahwa perbanyak tanpa menggunakan gula menghasilkan berat kering yang sama, konsentrasi klorofil yang lebih tinggi, laju fotosintesis yang lebih tinggi, sistem perakaran berkembang lebih baik, tunas yang lebih baik dan kontaminasi yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan perbanyak pada media mengandung gula (Xiao dan Kozai, 2006). Varietas Granola banyak dipilih oleh petani karena keunggulannya antara lain berumur pendek, adaptasinya luas, hasil cukup tinggi, bentuk umbi yang bagus dan agak tahan penyakit layu bakteri, meskipun kelemahannya mempunyai kadar air tinggi dan tidak cocok untuk kentang olahan (Purwito dan Wattimena, 2008). Penelitian ini bertujuan mempelajari pertumbuhan tanaman kentang varietas Granola *in vitro* pada konsentrasi gula rendah dan ventilasi (teknik fotoautotrofik) untuk menghasilkan bibit kentang bermutu.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 2, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Analisis morfologi stomata dilakukan di Laboratorium Mikro Teknik, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian dilakukan dari bulan November 2014 hingga April 2015. Eksplan yang digunakan adalah stek buku tunggal dan pucuk dari planlet kentang varietas Granola berumur 4 minggu yang dikulturkan di dalam medium MS dengan konsentrasi hara makro dua kali lebih banyak dari konsentrasi yang seharusnya. Bahan yang digunakan adalah *paper filter* dan *micropore* 3M sebagai ventilator,

kalsium pantotenat (CaP) sebagai hara tambahan serta HCl dan KOH untuk pengatur pH. Media yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige & Skoog). Pada tahap *ex vitro*, bahan yang digunakan adalah media tanam yang mengandung campuran sekam dan tanah dengan perbandingan 1:1 (v/v) serta agrept (bahan aktif 20% streptomisin sulfat) dan dithane (bahan aktif mancozep 80%). Alat yang digunakan terdiri dari *laminar air flow cabinet*, autoklaf, pH meter, mikroskop, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, botol kultur, cawan petri, bunsen, pinset, gunting, pipet, *hand sprayer*, rak kultur yang dilengkapi dengan lampu 69 watt m⁻¹. Alat yang digunakan pada tahap *ex vitro*, terdiri dari *tray* sebagai wadah tanam dan autoklaf untuk sterilisasi media tanam.

Percobaan dalam penelitian ini terdiri dari 2 percobaan terpisah, yaitu percobaan dengan menggunakan bahan tanam buku tunggal dan percobaan menggunakan bahan tanam pucuk. Percobaan ini disusun dengan menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLK) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi gula terdiri dari 5 taraf yaitu 5 g L⁻¹, 10 g L⁻¹, 15 g L⁻¹, 20 g L⁻¹ dan 25 g L⁻¹. Faktor kedua adalah ventilasi dengan 2 taraf yaitu 1 lubang dan 2 lubang ventilasi. Perlakuan 30 g L⁻¹ gula tanpa ventilasi merupakan kontrol. Penanaman eksplan terdiri dari 10 kombinasi perlakuan. Percobaan menggunakan bahan tanam buku tunggal dengan sepuluh ulangan, sedangkan percobaan menggunakan bahan tanam pucuk dengan tiga ulangan. Jumlah satuan percobaan dengan bahan tanam buku tunggal adalah 100 satuan percobaan dan jumlah satuan percobaan dengan bahan tanam pucuk adalah 30 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 eksplan sebagai satuan amatan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan sidik ragam atau *analysis of variance* (ANOVA). Perlakuan yang berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda dari Duncan (DMRT) pada taraf α 5%. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLK) dua faktor yang dikelompokkan berdasarkan waktu penanaman. Perangkat lunak yang digunakan untuk analisis data adalah Microsoft Excel 2010 untuk rekapitulasi data dan seleksi indeks; SAS 9.1.3 untuk uji F dan uji lanjut.

Pelaksanaan percobaan dimulai dengan memperbanyak bahan tanam kentang varietas Granola berupa buku tunggal dan pucuk yang selanjutnya akan digunakan untuk 2 percobaan terpisah. Media tanam dibuat dengan menggunakan larutan stok A, B, C, D, E, F, Vitamin dan Myo-inositol yang sesuai dengan

komposisi media MS. Jumlah hara makro atau stok A, B, C dan D dua kali lebih banyak dari komposisi yang sebenarnya. Media MS ditambahkan gula dengan konsentrasi berbeda sesuai dengan perlakuan serta ditambahkan Kalsium pantotenat (CaP) sebanyak 4 mg L⁻¹. Larutan ditambahkan akuades dan ditera menggunakan pH meter hingga pH mencapai 6.0 dengan menggunakan HCl atau KOH. Media yang telah ditera ditambahkan agar dan dipanaskan hingga mendidih. Media dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 25 ml per botol.

Bahan dan alat disterilisasi dengan menggunakan autoklaf. Ruang tanam yang digunakan adalah *laminar air flow cabinet* (LAFK) yang disterilisasi dengan disinari lampu ultraviolet selama 1 jam sebelum digunakan dan kemudian dibersihkan dengan cara menyemprotkan alkohol 70% sebelum digunakan. Setelah penanaman, botol kultur ditutup menggunakan *paper filter* kemudian dilapisi plastik yang telah diberi ventilasi sesuai perlakuan. Lubang ventilasi berdiameter 7 mm dan ditutup dengan menggunakan *micropore* 0.2 μ m.

Tahap *ex vitro* atau aklimatisasi dilakukan pada 6 minggu setelah kultur *in vitro*. Media aklimatisasi menggunakan campuran sekam dan kompos dengan perbandingan 1:1 (v/v) untuk semua jenis perlakuan serta menggunakan wadah *tray*. Campuran media disterilisasi dengan cara dipanaskan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 25 menit. Media yang sudah disterilisasi dimasukkan ke dalam *tray*. Bibit dikeluarkan dari botol menggunakan pinset satu persatu lalu dicuci hingga bersih dari media agar dengan air steril. Akar-akar yang terlalu panjang dipotong dengan gunting kemudian direndam dengan larutan streptomisin sulfat 20% dan mancozep 80%. Bibit ditanam pada *tray* yang sudah diberikan media dan diletakkan pada rak kultur yang dilengkapi dengan lampu 69 watt m⁻¹. Penyiraman dilakukan 2-3 kali sehari dengan menggunakan air steril. Terdapat tiga ulangan yang diaklimatisasi untuk setiap perlakuan pada percobaan 1 dan dua ulangan pada percobaan 2

Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan kuantitatif pada tahap *in vitro* dan *ex vitro* serta uji morfologi stomata pada tahap *ex vitro*. Peubah yang diamati pada tahap *in vitro* adalah jumlah daun, jumlah buku serta waktu munculnya akar yang dihitung saat eksplan berumur 1-6 MST (minggu setelah tanam). Persentase kontaminasi dan persentase eksplan hidup diamati setiap hari selama 6 minggu. Pengamatan pada tahap *ex vitro* meliputi jumlah daun, jumlah buku dan persentase planlet hidup

yang diamati pada 0, 5 dan 7 HSA (hari setelah aklimatisasi). Uji morfologi stomata dilakukan pada daun dari buku pertama untuk setiap pengujian. Analisis morfologi stomata dan kloroplas dimulai dengan mengambil daun bagian epidermis bawah tanaman dan meletakkannya pada selotip. Tahap selanjutnya dilakukan pengerokan pada bagian atas daun menggunakan silet sampai hanya tersisa lapisan tipis di bawah daun, lalu diamati di bawah mikroskop. Foto dibuat di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x40. Stomata diamati sebanyak tiga ulangan. Jumlah stomata diamati melalui tiga bidang pandang. Diameter stomata diukur dari sisi terlebar dengan jumlah sebanyak tiga stomata untuk tiga ulangan pada setiap perlakuan. Jumlah kloroplas dihitung dari tiga stomata untuk tiga ulangan pada setiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Kultur In Vitro

Secara umum pertumbuhan tanaman berlangsung baik walaupun terjadi kontaminasi pada media dengan perlakuan konsentrasi gula 20 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 serta 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 masing-masing pada 2 MST dan 3 MST (Percobaan 1). Umur 4 MST terjadi penyusutan media yang menyebabkan

kekeringan pada beberapa tanaman di dalam botol kultur. Hal ini menyebabkan dilakukan pemindahan media pada perlakuan-perlakuan yang mengalami susut media. Kondisi ini diperkirakan karena air pada media menguap akibat adanya ventilasi yang disinari langsung oleh cahaya lampu yang terjadi setelah 4 MST.

Percobaan 1. Perbanyak Bibit Kentang (Solanum Tuberosum) Kultivar Granola Melalui Teknik Fotoautotrofik In Vitro dengan Bahan Tanam Buku Tunggal

Pertumbuhan Eksplan In Vitro

Pemberian ventilasi meningkatkan jumlah daun dan jumlah buku tetapi tidak mempengaruhi persentase kontaminasi dan persentase eksplan hidup (Tabel 1). Perlakuan ventilasi menyebabkan persentase kontaminasi yang tinggi pada media karena terdapat pertukaran udara saat inkubasi kultur, namun rendahnya konsentrasi gula juga dapat menurunkan pertumbuhan organisme kontaminan dalam wadah sehingga kematian eksplan akibat serangan organisme kontaminan juga dapat ditekan (Xiao dan Kozai, 2006).

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi gula dan ventilasi terhadap pertumbuhan kentang varietas Granola secara fotoautotrofik

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Jumlah daun	Jumlah buku	Persentase eksplan hidup
5	3.44 d	1.38 d	97.50
10	6.35 c	3.10 c	96.33
15	7.95 b	4.12 b	97.22
20	8.77 b	4.67 a	97.78
25	9.89 a	5.20 a	97.46
Kontrol	8.80 b	4.70 a	99.67
Uji F	**	**	tn
Ventilasi	Jumlah daun	Jumlah buku	Persentase eksplan hidup
1	6.93 b	3.50 b	95.10
2	7.59 b	3.86 b	95.60
Kontrol	8.80 a	4.70 a	99.67
Uji F	*	*	tn
KK(%)	17.89	19.72	810.01

Keterangan: tn : tidak berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, * : berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, ** : berbeda sangat nyata pada uji F taraf α 1%Angka-angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf α 5%

Peningkatan konsentrasi gula meningkatkan jumlah daun dan jumlah buku namun tidak mempengaruhi persentase kontaminasi dan persentasi eksplan hidup. Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan 25 g L⁻¹ menyebabkan respon tertinggi pada peubah jumlah daun. Eksplan yang dikulturkan pada

media dengan konsentrasi gula 20 g L⁻¹ memberikan respon yang tidak berbeda dengan 15 g L⁻¹ dan kontrol. Media dengan perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ dan 10 g L⁻¹ menyebabkan respon jumlah daun paling sedikit. Menurut Kubota (2002) pada mikropropagasi fotoautotrofik akan terjadi peningkatan pertumbuhan pada tanaman bila dibandingkan

dengan mikropropagasi konvensional. Pada percobaan ini, jumlah daun dan buku pada mikropropagasi fotoautotrofik lebih baik dibandingkan dengan mikropropagasi konvensional hanya pada perlakuan gula 20 g L⁻¹ dan 25 g L⁻¹.

Semakin banyak karbon dioksida (CO₂) di udara, semakin banyak jumlah bahan yang dapat digunakan tumbuhan untuk melangsungkan fotosintesis. Jika kadar CO₂ dalam sel rendah maka fotosintesis akan menurun. Kondisi di dalam wadah kultur pada perbanyak konvensional memiliki konsentrasi CO₂ yang rendah selama fotoperiodisitas sehingga proses fotosintesis hampir tidak terjadi (Kubota 2002). Pemberian ventilasi memungkinkan terjadinya pertukaran udara pada botol kultur. Pertumbuhan daun dan buku pada perlakuan dua lubang ventilasi lebih baik dibandingkan satu lubang ventilasi, namun hasil keduanya tidak berbeda nyata. Hal ini mengindikasikan bahwa jumlah ventilasi berkorelasi positif terhadap pertumbuhan tanaman kentang pada mikropropagasi fotoautotrofik.

Tabel 2. Waktu munculnya akar pada tanaman kentang varietas Granola

Perlakuan		Waktu munculnya akar (MST)
Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Jumlah ventilasi	
5	1	3
	2	3
10	1	2
	2	3
15	1	3
	2	3
20	1	3
	2	3
25	1	2
	2	3
30	0	3

Tunas pada kontrol menghasilkan jumlah daun tertinggi saat 1 MST dibandingkan dengan perlakuan lain, namun pada 2 MST tunas pada perlakuan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 mempunyai jumlah daun yang sama dengan kontrol. Pada 2, 3 dan 4 MST jumlah daun tertinggi dihasilkan oleh tunas pada perlakuan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 1, sedangkan pada 5 dan 6 MST terlihat pada perlakuan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 2. Hal ini menunjukkan bahwa hanya perlakuan dengan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 serta konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 yang dapat menyebabkan respon pertumbuhan lebih baik dibandingkan dengan kontrol (data tidak disajikan).

Percobaan ini seluruh tunas menghasilkan akar antara 2-3 MST (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi gula dan ventilasi tidak mempengaruhi munculnya akar.

Morfologi Stomata

Kombinasi perlakuan konsentrasi gula dan jumlah ventilasi nyata meningkatkan jumlah stomata dan kerapatan stomata serta mengakibatkan menyempitnya diameter stomata, namun tidak meningkatkan jumlah kloroplas (Tabel 3). Mikropropagasi fotoautotrofik memiliki kelebihan dibanding kultur jaringan konvensional, yaitu peningkatan fotosintesis yang dilakukan oleh tanaman dan dilihat melalui kerapatan stomata yang tinggi, diameter stomata mengecil dan memiliki kemampuan menyimpan air saat dipindahkan ke kondisi *ex vitro* (Kubota 2002).

Tabel 3. Rekapitulasi hasil uji F pengaruh kombinasi konsentrasi gula dengan jumlah ventilasi terhadap morfologi stomata tanaman kentang varietas Granola

Peubah	Gula	Ventilasi	Ulangan	Interaksi	KK(%)
Jumlah stomata	**	**	tn	**	2.43
Kerapatan stomata	**	**	tn	**	4.25
Diameter stomata	**	*	tn	*	6.47
Jumlah kloroplas	**	**	tn	tn	3.62

Keterangan: tn : tidak berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, * : berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, ** : berbeda sangat nyata pada uji F taraf α 1%

Jumlah stomata yang lebih sedikit per satuan luas daun menunjukkan bahwa tunas kentang pada perlakuan pengurangan konsentrasi gula dan pemberian ventilasi memiliki stomata yang lebih besar. Ukuran stomata yang besar menyebabkan jumlah stomata lebih sedikit tiap luas bidang pandang. Adanya stomata pada daun memungkinkan terjadinya pertukaran gas. Jumlah stomata yang sedikit pada tanaman dapat menjadi indikator bahwa tanaman mengalami laju fotosintesis yang rendah. Pada mikropropagasi *in vitro* tanaman hampir tidak melakukan proses fotosintesis karena gula sebagai sumber energi utama bagi eksplan telah disediakan (Kubota, 2002). Pengurangan konsentrasi gula dapat memicu terjadinya fotosintesis yang ditandai dengan banyaknya jumlah stomata (Tabel 4).

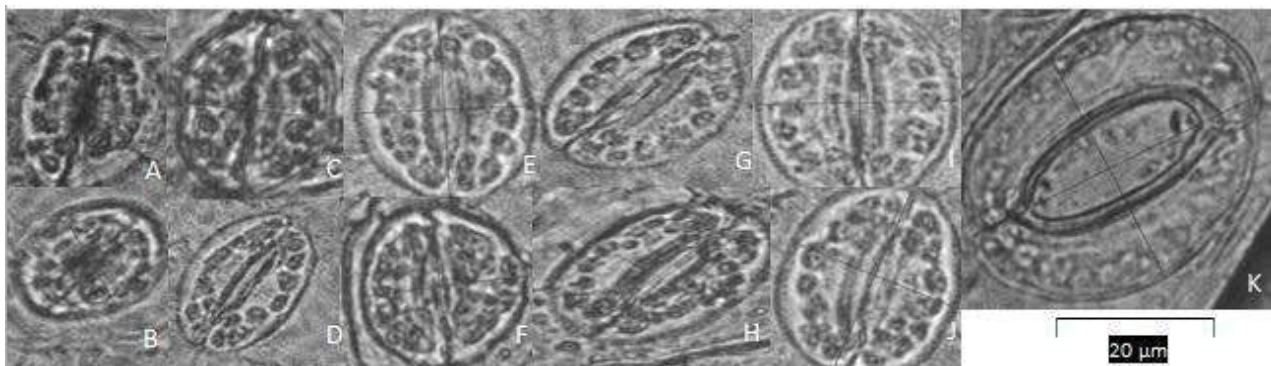
Tabel 4. Pengaruh interaksi gula dan ventilasi terhadap morfologi stomata tanaman kentang varietas Granola

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Perlakuan		Rataan jumlah stomata	Kerapatan stomata/mm ²	Rataan diameter stomata (mm)	Rataan jumlah kloroplas
	Jumlah ventilasi					
5	1		37.0 a	188.5 a	21555.4 d	23.3
	2		38.0 a	193.6 a	19469.1 d	25.0
10	1		35.7 a	181.7 a	21551.7 d	22.0
	2		37.0 ab	188.5 ab	19592.5 d	24.0
15	1		34.0 b	173.3 b	23271.0 c	21.3
	2		37.3 ab	190.2 ab	22707.5 c	23.3
20	1		33.3 b	169.9 b	22595.5 cd	20.7
	2		37.3 ab	190.2 ab	23599.2 bc	22.0
25	1		28.3 c	144.4 c	25214.9 b	19.3
	2		36.0 b	183.4 b	24735.6 b	21.3
30	0		23.7d	120.6 d	33801.3 a	14.0

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf α 5%

Ventilasi 2 menyebabkan daun pada tunas menghasilkan jumlah stomata yang lebih banyak dibandingkan dengan ventilasi 1 pada semua perlakuan. Daun dari tunas yang ditumbuhkan pada media dengan perlakuan 5 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 menghasilkan kerapatan stomata tertinggi dan tidak berbeda dengan perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ dengan ventilasi 2, 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 1, 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 2, 15 g L⁻¹ dengan ventilasi 2

serta 20 g L⁻¹ dengan ventilasi 2. Media dengan perlakuan ventilasi 1 menyebabkan daun menghasilkan jumlah stomata yang tinggi jika dikombinasikan dengan gula yang rendah (5 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 serta gula 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 1). Hal ini menunjukkan bahwa banyaknya pertukaran udara melalui ventilasi 2 dan rendahnya konsentrasi gula meningkatkan pembentukan stomata.



Gambar 1. Keragaan stomata tanaman kentang varietas Granola dengan teknik fotoautotrofik pada perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ (A,B); 10 g L⁻¹ (C,D); 15 g L⁻¹ (E,F); 20 g L⁻¹ (G,H); 25 g L⁻¹ (I,J) dengan ventilasi 1(A,C,E,G,I); ventilasi 2 (B,D,F,H,J); kontrol (K)

Tanaman kentang merupakan tanaman C3 yang akan melakukan penutupan stomata ketika berada dalam kondisi pencahayaan untuk mengurangi proses transpirasi (Campbell, 2004). Pengambilan sampel untuk pengamatan morfologi stomata dilakukan pada kondisi pencahayaan. Pada Tabel 5 perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 (Gambar 1A) menyebabkan daun pada tunas menghasilkan diameter terkecil dan tidak berbeda pada perlakuan gula 5 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 (B), gula 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 (C) serta gula 10 g L⁻¹ dengan ventilasi

2 (D). Diameter terbesar dihasilkan oleh daun dari tunas pada perlakuan gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 (J) yang tidak berbeda dengan perlakuan gula 20 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 (H) serta gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 (I). Diameter stomata pada daun dengan perlakuan pengurangan konsentrasi gula dan pemberian ventilasi memiliki diameter stomata lebih kecil dibandingkan dengan kontrol (K). Hal ini mengindikasikan bahwa semakin kecil konsentrasi gula dengan pemberian ventilasi akan menyebabkan sel penjaga pada stomata menjadi lebih baik dibandingkan dengan sistem

konvensional.

Stomata diapit oleh sepasang sel penjaga. Sel penjaga mengontrol diameter stomata dengan cara menyempitkan atau melebarkan celah diantara kedua sel tersebut. Ketika sel penjaga mengambil air melalui osmosis, sel penjaga akan membengkak. Ketika sel kehilangan air, sel penjaga menjadi lembek serta mengerut, sel-sel tersebut akan mengecil secara bersamaan kemudian menutup ruangan diantaranya (Campbell, 2004). Menurut Kozai *et al.* (2005) sel penjaga pada tanaman *in vitro* tidak dapat berfungsi secara normal sehingga stomata akan membuka secara terus menerus dan memicu terjadinya transpirasi yang berlebihan saat dikeluarkan dari botol kultur dan menyebabkan tanaman mati. Pengurangan konsentrasi gula dan pemberian ventilasi pada tanaman *in vitro* memicu terjadinya proses fotosintesis sehingga diameter stomata mengerut saat kehilangan air.

Organ utama tumbuhan tempat berlangsungnya fotosintesis adalah daun. Tumbuhan menangkap cahaya menggunakan pigmen yang disebut klorofil yang memberi warna hijau pada tumbuhan. Klorofil terdapat

dalam organel yang disebut kloroplas, dimana fotosintesis berlangsung tepatnya pada bagian stroma (Campbell 2004). Tabel 4 menunjukkan bahwa setiap perlakuan menyebabkan jumlah kloroplas pada stomata hampir sama dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa pengurangan konsentrasi gula dan penambahan ventilasi dapat mendorong tanaman *in vitro* untuk melakukan penangkapan cahaya yang lebih baik, hal ini diduga melalui banyaknya kloroplas.

Percobaan II. Perbanyak Bibit Kentang (Solanum Tuberosum) Kultivar Granola Melalui Teknik Fotoautotrofik In Vitro dengan Bahan Tanam Pucuk

Pertumbuhan Eksplan In Vitro

Pengurangan konsentrasi gula dan ventilasi meningkatkan jumlah daun dan jumlah buku namun tidak mempengaruhi persentase kontaminasi dan persentase eksplan hidup.

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi gula dan ventilasi terhadap pertumbuhan kentang varietas Granola secara fotoautotrofik

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Jumlah daun	Jumlah buku	Persentase eksplan hidup
5	3.38 de	1.43 d	95.50
10	3.80 cd	1.71 cd	97.22
15	4.73 c	2.26 c	82.77
20	4.31 cd	2.11 cd	78.35
25	6.72 b	3.28 b	94.45
Kontrol	9.47 a	4.90 a	94.43
Uji F	**	**	tn
Ventilasi	Jumlah daun	Jumlah buku	Persentase eksplan hidup
1	5.00 b	2.40 b	92.23
2	4.18 c	1.93 b	86.89
Kontrol	9.46 a	4.90 a	94.43
Uji F	*	*	tn
KK(%)	12.5	20.8	19.4

Keterangan: tn : tidak berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, * : berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, **: berbeda sangat nyata pada uji F taraf α 1%Angka-angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf α 5%

Tabel 5 menunjukkan bahwa jumlah daun dan buku pada tunas yang ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ memberikan respon yang lebih tinggi dibandingkan pada perlakuan gula 5 g L⁻¹, 10 g L⁻¹, 15 g L⁻¹ dan 20 g L⁻¹. Jumlah daun dan buku yang dibentuk eksplan pada kontrol (gula 30 g L⁻¹) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain, sementara itu konsentrasi gula 5 g L⁻¹ menghasilkan jumlah daun dan buku paling sedikit dan tidak berbeda nyata dengan pemberian

gula 10 g L⁻¹ dan 20 g L⁻¹. Hal ini mengindikasikan bahwa tingginya konsentrasi gula berkorelasi positif terhadap pertumbuhan tanaman kentang.

Tabel 5 menunjukkan bahwa pemberian ventilasi pada botol kultur nyata meningkatkan jumlah daun dan buku. Tunas pada kontrol membentuk daun dan buku lebih banyak dibandingkan botol kultur dengan ventilasi. Satu ventilasi membentuk jumlah daun dan buku lebih tinggi dibandingkan dengan dua ventilasi. Pada percobaan ini tidak terdapat kultur yang

terkontaminasi. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengurangan konsentrasi gula yang dapat menekan tumbuhnya organisme kontaminan (Xiao dan Kozai 2006).

Percobaan ini menunjukkan jumlah daun dan buku tertinggi sampai dengan 6 MST dihasilkan oleh tunas kentang pada kontrol. Perlakuan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 menyebabkan pembentukan daun dan buku pada tunas lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya (data tidak disajikan). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi gula, semakin tinggi peningkatan pertumbuhannya. Hasil ini tidak sesuai dengan Kozai *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa mikropropagasi fotoautotrofik akan menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan sistem konvensional. Hal ini mungkin disebabkan oleh kurangnya jumlah ventilasi yang terdapat pada botol kultur sehingga mengurangi pertukaran gas-gas penting dalam proses fotosintesis untuk menghasilkan pertumbuhan yang baik.

Tidak semua tunas mampu membentuk akar (Tabel 6). Pengurangan konsentrasi gula menyebabkan tunas tidak mampu membentuk akar. Pada kontrol, akar pada tunas muncul saat 2-3 MST sedangkan pada perlakuan konsentrasi gula 15 g L⁻¹ dengan ventilasi 1, gula 15 g L⁻¹

dengan ventilasi 2, gula 20 g L⁻¹ dengan ventilasi 1, gula 20 g L⁻¹ dengan ventilasi 2, gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 serta gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 akar pada tunas muncul saat 4 MST.

Tabel 6. Waktu munculnya akar pada tanaman kentang varietas Granola

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Perlakuan		Waktu munculnya akar (MST)
	Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Jumlah ventilasi	
5	1		-
	2		-
10	1		-
	2		-
15	1		-
	2		4
20	1		4
	2		4
25	1		4
	2		4
30	0		2.93

Morfologi Stomata

Interaksi perlakuan konsentrasi gula dan jumlah ventilasi nyata meningkatkan jumlah stomata, kerapatan stomata dan jumlah kloroplas pada daun serta berpengaruh nyata terhadap menyempitnya diameter stomata (Tabel 7).

Tabel 7. Rekapitulasi hasil uji F pengaruh kombinasi konsentrasi gula dengan jumlah ventilasi terhadap morfologi stomata tanaman kentang varietas Granola

Peubah	Gula	Ventilasi	Ulangan	Interaksi	KK(%)
Jumlah stomata	**	tn	tn	**	2.54
Kerapatan stomata	**	tn	tn	**	2.54
Diameter stomata	**	**	tn	*	3.48
Jumlah kloroplas	**	**	tn	**	2.50

Keterangan: tn : tidak berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, * : berbeda nyata pada uji F taraf α 5%, ** : berbeda sangat nyata pada uji F taraf α 1%

Perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 dan 2 menyebabkan kerapatan stomata tertinggi pada daun dalam percobaan ini. Perlakuan konsentrasi gula 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 1, gula 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 2, gula 15 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 serta gula 15 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 tidak menyebabkan perbedaan kerapatan stomata pada daun (Tabel 8). Perlakuan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 menyebabkan kerapatan terkecil pada daun dalam percobaan ini. Hal ini mengindikasikan bahwa kecilnya konsentrasi gula dan banyaknya jumlah

ventilasi meningkatkan jumlah dan kerapatan stomata daun.

Stomata akan menutup jika selisih kandungan uap air di udara dan dalam ruang antar sel melebihi kritis (Campbell 2004). Karena seluruh kebutuhan nutrisinya disediakan, tanaman *in vitro* hampir tidak melakukan fotosintesis dan sel yang mengatur mekanisme membuka serta menutupnya stomata pada tanaman *in vitro* tidak terbiasa untuk bekerja sesuai dengan fungsinya sehingga stomata akan membuka meskipun berada pada kondisi kritis air (Kozai, 1992).

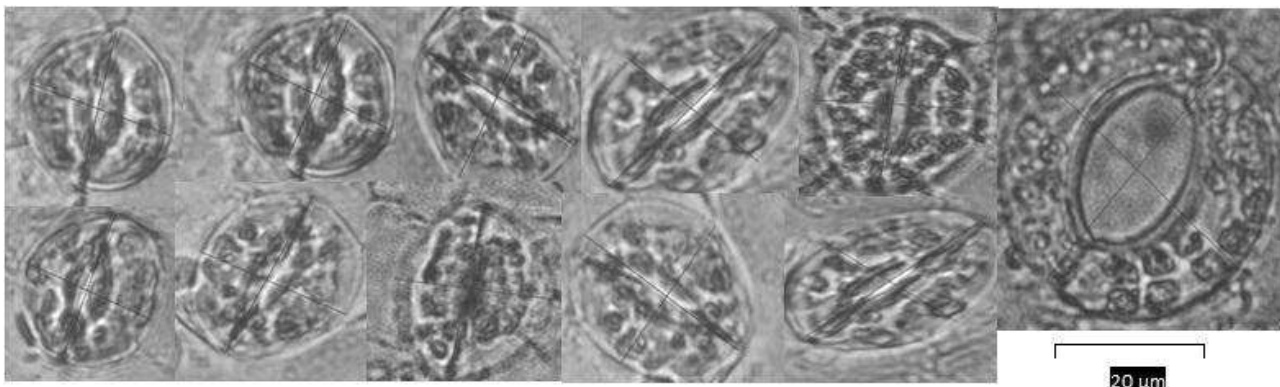
Tabel 8. Pengaruh interaksi gula dan ventilasi terhadap morfologi stomata tanaman kentang varietas Granola

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Perlakuan		Rataan jumlah stomata	Kerapatan stomata/mm ²	Rataan diameter stomata (nm)	Rataan jumlah kloroplas
	Jumlah ventilasi					
5	1		44.0 a	224.2 a	20036.7 c	25.3 a
	2		38.0 a	193.6 a	19821.8 d	29.0 a
10	1		32.0 b	163.1 b	22568.7 c	23.0 b
	2		34.7 b	176.6 b	20159.2 c	28.3 a
15	1		32.0 b	163.1 b	23486.8 b	21.0 d
	2		34.3 b	174.9 b	21982.3 b	25.0 b
20	1		30.0 c	152.8 c	23572.8 b	22.0 c
	2		32.0 c	163.1 c	22367.0 b	23.0 c
25	1		29.0 c	147.8 c	22605.5 b	20.7 d
	2		30.3 d	154.6 d	21717.8 b	23.0 c
30	0		27.7 e	140.9 e	42440.3 a	17.0 e

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf α 5%

Pengurangan konsentrasi gula dan pemberian ventilasi pada tanaman *in vitro* memicu terjadinya proses fotosintesis sehingga sel akan berfungsi normal dan stomata akan menutup saat kekurangan air. Daun dari tunas pada perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 (Gambar 2B) mempunyai diameter terkecil pada percobaan ini. Perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ dengan ventilasi 1(A),

gula 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 (C) serta gula 10 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 (D) tidak menyebabkan perbedaan pada diameter stomata. Kontrol (K) menyebabkan diameter terbesar. Hal ini mengindikasikan bahwa sel penjaga pada stomata dengan pengurangan konsentrasi gula dan pemberian ventilasi nyata menghasilkan sel penjaga yang lebih baik dibandingkan kontrol.



Gambar 2. Keragaan stomata tanaman kentang varietas Granola dengan teknik fotoautotrofik pada perlakuan konsentrasi gula 5 g L⁻¹ (A,B); 10 g L⁻¹ (C,D); 15 g L⁻¹ (E,F); 20 g L⁻¹ (G,H); 25 g L⁻¹ (I,J) dengan ventilasi 1(A,C,E,G,I); ventilasi 2 (B,D,F,H,J); kontrol (K)

Proses fotosintesis dapat berlangsung karena adanya kloroplas di dalam klorofil pada daun hijau. Klorofil sangat berperan bagi kelangsungan proses fotosintesis karena klorofil mampu menangkap cahaya matahari yang merupakan radiasi elektromagnetik pada spektrum kasat mata (Handoko dan Fajariyanti 2008). Tabel 8 menunjukkan bahwa pengurangan konsentrasi gula dan pemberian ventilasi menyebabkan daun

menghasilkan jumlah kloroplas berbeda dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol. Semakin rendah konsentrasi gula, kloroplas yang terlihat semakin banyak. Pada semua perlakuan konsentrasi gula, pemberian ventilasi 2 menghasilkan tunas dengan kandungan kloroplas daun lebih tinggi dibandingkan dengan ventilasi 1.

Tabel 9. Pengaruh konsentrasi gula dan ventilasi terhadap pertumbuhan planlet kentang varietas Granola percobaan 1 pada tahap aklimatisasi

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Perlakuan Jumlah ventilasi	Jumlah daun (helai)			Jumlah buku (buah)			Planlet hidup (%)		
		0HSA	5 HSA	7 HSA	0 HSA	5 HSA	7 HSA	0HSA	5 HSA	7HSA
5	1	6.2	-	-	3.0	-	-	100	0	0
	2	5.2	-	-	2.3	-	-	100	0	0
10	1	10.6	-	-	5.3	-	-	100	0	0
	2	10.4	-	-	5.4	-	-	100	0	0
15	1	13.1	-	-	6.9	-	-	100	0	0
	2	12.0	5.0	-	6.3	2.5	-	100	13	0
20	1	13.0	-	-	6.8	-	-	100	0	0
	2	13.2	10.0	-	7.0	5.0	-	80	13	0
25	1	14.4	10.7	10.8	7.5	5.3	5.5	76	50	35
	2	15.0	11.2	11.8	7.2	5.6	5.9	100	67	67
30	0	12.8	14.0	-	14.7	7.0	-	100	27	0

Tabel 10. Pengaruh konsentrasi gula dan ventilasi terhadap pertumbuhan planlet kentang varietas Granola percobaan 2 pada tahap aklimatisasi

Konsentrasi gula (g L ⁻¹)	Perlakuan Jumlah ventilasi	Jumlah daun (helai)			Jumlah buku (buah)			Planlet hidup (%)		
		0 HSA	5 HSA	7 HSA	0 HSA	5 HSA	7 HSA	0 HSA	5 HSA	7 HSA
5	1	4.1	-	-	2.1	-	-	100	0	0
	2	4.0	-	-	2.1	-	-	100	0	0
10	1	5.1	-	-	2.8	-	-	80	0	0
	2	4.1	-	-	2.1	-	-	100	0	0
15	1	7.1	-	-	3.9	-	-	100	0	0
	2	4.4	-	-	2.1	-	-	80	0	0
20	1	5.3	-	-	2.9	-	-	90	0	0
	2	5.0	-	-	2.7	-	-	60	0	0
25	1	10.0	-	-	5.2	-	-	80	0	0
	2	9.8	-	-	5.2	-	-	100	0	0
30	0	14.7	14.7	-	7.7	7.3	-	100	46.7	0

Menurut Kozai *et al.* (2005) pada mikropropagasi konvensional 100 % bibit mati saat aklimatisasi, sehingga kultur *in vitro* dianggap tidak efisien pada produksi bibit skala besar karena biayanya mahal. Pada percobaan 1 (Tabel 9), planlet yang mampu bertahan hingga 7 HSA adalah planlet yang ditumbuhkan pada media dengan perlakuan konsentrasi gula 25 gL⁻¹ dengan ventilasi 1 serta gula 25 gL⁻¹ dengan ventilasi 2. Persentase planlet hidup perlakuan konsentrasi gula 25 gL⁻¹ dengan ventilasi 2 lebih tinggi bila dibandingkan dengan gula 25 gL⁻¹ dengan ventilasi 1. Pada percobaan 2 tidak terdapat percobaan yang dapat bertahan saat aklimatisasi (Tabel 10).

KESIMPULAN

Buku tunas dari kentang varietas Granola yang digunakan sebagai eksplan pada percobaan 1 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi gula nyata meningkatkan jumlah daun dan jumlah buku. Pengurangan konsentrasi gula menyebabkan peningkatan kerapatan stomata dan jumlah kloroplas serta menyebabkan

menyempitnya diameter stomata pada daun. Pemberian ventilasi pada botol kultur nyata menyebabkan peningkatan jumlah daun, jumlah buku, kerapatan stomata dan jumlah kloroplas serta menyempitnya diameter stomata. Interaksi konsentrasi gula dengan ventilasi hanya nyata meningkatkan kerapatan stomata, jumlah kloroplas dan menyebabkan penyempitan diameter stomata pada daun. Pengurangan konsentrasi gula dan pemberian ventilasi tidak mempengaruhi persentase eksplan hidup dan persentase kontaminasi pada semua perlakuan. Akar muncul pada tunas saat 2-3 MST. Planlet yang ditumbuhkan pada media dengan perlakuan konsentrasi gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 1 serta gula 25 g L⁻¹ dengan ventilasi 2 mampu bertahan pada tahap aklimatisasi dan diduga dapat digunakan untuk produksi bibit

Pengurangan konsentrasi gula pada percobaan dengan eksplan pucuk nyata menyebabkan menurunnya jumlah daun dan buku yang terbentuk pada tunas, meningkatkan kerapatan stomata dan jumlah kloroplas serta menyebabkan penyempitan pada kloroplas daun. Penambahan ventilasi pada botol kultur nyata meningkatkan jumlah kloroplas dan menyebabkan

penyempitan diameter pada stomata. Interaksi pengurangan konsentrasi gula dengan penambahan ventilasi pada semua perlakuan nyata meningkatkan kerapatan stomata dan jumlah kloroplas serta menyebabkan penyempitan pada diameter stomata. Konsentrasi gula dan pemberian ventilasi tidak mempengaruhi persentase eksplan hidup dan persentase kontaminasi pada semua perlakuan. Pada percobaan 2 tidak terdapat planlet yang mampu bertahan pada tahap aklimatisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2013. *Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Kentang*. Jakarta (ID): BPS.
- Campbell. 2004. *Biologi Edisi Kelima Jilid III*. Jakarta (ID): Erlangga.
- Handoko P dan Fajariyanti Y. 2008. Pengaruh spektrum cahaya tampak terhadap laju fotosintesis tanaman air *Hydrilla verticillata*. *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Nusantara PGRI Kediri* ; 2006 Jul 21-22; Kediri, Indonesia. Kediri (ID): UNS Press. hlm 123.
- Hidayat IM. 1991. Kemungkinan aplikasi teknik kultur jaringan dalam produksi bibit tanaman hortikultura. Dukungan sektor perbenihan dalam menunjang agroindustri hortikultura. *Prosiding seminar sehari, Festival tanaman*. [Waktu dan tempat pertemuan tidak diketahui]. Bogor(ID): IPB Press. hlm 31-44.
- Kozai T. 1992. Effect of the difference between photoperiod and darkperiod temperatures, and photosynthetic photon flux density on the shot length and growth of potato plantlets in vitro. *J Japan Soc Hort Sci*. 6 (1): 93-98.
- Kozai T, Xiao Y, Nguyen QT, Afreen F, Zobayed SMA. 2005. Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation systems for large scale commercialization. *Propagation of Ornamental Plants*. 5(1): 23-24.
- Kubota C. 2002. Photoautotrophic Micropropagation: Importance of Controlled Environment in Plant Tissue Culture. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society*. 52. 609-613.
- Pertamawati. 2010. Pengaruh fotosintesis terhadap pertumbuhan tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) dalam lingkungan fotoautotrof secara *in vitro*. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 12(1): 31-37.
- Purwito A, Wattimena GA. 2008. Kombinasi persilangan dan seleksi *in vitro* untuk mendapatkan kultivar unggul kentang. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 13 (3):140-149.
- Rukmana R. 2007. *Budidaya dan Pasca Panen Tanaman Kentang*. Yogyakarta(ID): Kanisius.
- Xiao Y, Kozai T. 2006. In vitro multiplication of statice plantlets using sugar-free media. *Scientia Horticulturae*. 109 (1): 71-77.