



Induksi Kalus Dari Beberapa Kultivar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Dataran Medium Secara *In Vitro* menggunakan Variasi Konsentrasi 2,4-D

Sepdian Luri Asmono¹, Vega Kartika Sari²

Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember
Jl. Mastrip Kotak Pos 164 Jember

¹sepdianluri@gmail.com

²vega_wes@yahoo.com

Abstract

This study aims to determine the concentration of 2,4-D to grow a callus on several potato medium cultivars such as DTO-28 and Desiree. This study uses a completely randomized design factorial. Factors to be tested is the concentration of 2,4-D: 4.53; 9.05; 13.58; 18.10 μM and Potato Cultivar: DTO-28 and Desiree. There are a total of 8 treatments with 5 replications. Parameters measured include the time appeared callus, callus fresh weight, percentage of callus formation, as well as the morphology of callus kualitatif parameters, such as texture, color, type of callus, the number of shoots and roots. Data observation of callus morphology presented descriptively, while other data were analyzed by analysis of variance (ANOVA). To know the difference between the treatment performed DMRT at 5% level. The results of the study, demonstrate that all explants of cultivar Desiree and DTO-28 capable to forming callus, with watery crumb texture and average white and yellowish green. DTO-28 cultivars are more responsive to 2,4-D because emerge faster callus which 5 DAP. Both cultivars tested were able to produce callus heaviest at 18.10 μM concentrations of 2,4-D. From these results it can be concluded that the concentration of 18.10 μM concentrations of 2,4-D is the best in spurring the growth of callus potatoes DTO-28 and Desiree.

Keywords— Potato, *In Vitro*, callus, 2,4-D

I. PENDAHULUAN

Kebutuhan kentang di dalam negeri semakin meningkat dan diperlukan upaya untuk memenuhinya. Budidaya tanaman kentang yang selama ini banyak dilakukan di dataran tinggi mengalami beberapa kendala diantaranya adalah sempitnya areal penanaman yang cenderung berbukit-bukit, rawan terhadap bencana longsor. Oleh sebab itu pemerintah saat ini telah mengembangkan kentang yang cocok dibudidayakan di dataran medium (300-700 mdpl) diantaranya adalah kultivar Desiree, Cipanas, Aquilla, DTO-28 dan DTO-33 [1].

Pengembangan kentang dataran medium juga sangat potensial meningkatkan pendapatan petani, karena memungkinkan untuk ditanam bergiliran dengan tanaman padi [2].

Ketersediaan bibit dari varietas unggul dataran medium juga merupakan aspek penting yang harus diperhatikan dalam mendukung pengembangan tersebut. Saat ini teknik kultur jaringan merupakan teknik yang direkomendasikan pemerintah untuk memproduksi benih unggul kentang. Melalui teknik ini benih dapat dihasilkan dalam jumlah

banyak dengan waktu relatif singkat, dan tidak tergantung pada iklim dan musim, serta bebas virus [3],[4].

Metode kultur jaringan tanaman yang dapat digunakan untuk produksi bibit kentang, salah satunya melalui induksi kalus. Kalus merupakan sel-sel psrenkim yang bersifat meritem yang dapat berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Kalus dapat diinduksi dengan menggunakan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) golongan Auksin yang salah satunya adalah 2,4-Dichlorofenoxyacetic acid (2,4-D). ZPT tersebut telah digunakan banyak peneliti untuk menginduksi kalus kentang [5],[6],[7].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang tepat untuk menumbuhkan kalus tanaman kentang dataran medium seperti Kultivar DTO-28 (*Solanum tuberosum* L. cv. DTO-28) dan Desiree (*Solanum tuberosum* L. cv. Desiree).

II. TINJAUAN PUSTAKA

Kentang umumnya ditanam di daerah dengan ketinggian lebih dari 1.000 m dpl. Tetapi ada pula yang ditanam di dataran medium, seperti kultivar yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu DTO-28. Kultivar ini merupakan

introduksi dari Peru hasil pengembangan International Potato Center (CIP). Sifat-sifat dari kultivar ini meliputi produksi tinggi, kandungan berat kering rendah, tahan terhadap penyakit layu bakteri, serta tahan terhadap suhu tinggi [8],[9],[10].

Selain itu, dalam penelitian ini juga telah menguji ketang Kultivar Desiree, yang merupakan hasil persilangan dari kentang Depesche dan Urgenta yang diintroduksi dari Belanda. Kentang ini toleran pada dataran medium dan mampu menghasilkan umbi yang banyak pada dataran medium tersebut. Pada ketinggian 300 m dpl pada suhu rata-rata 30°C, kentang Desiree menghasilkan umbi cukup tinggi yaitu 20 ton/ha atau lebih [11]. Umbi kentang berwarna kemerah-merahan dan mengandung antioksidan yang tinggi.

Salah satu metode dalam teknik kultur jaringan tanaman adalah induksi kalus. Kalus adalah kumpulan sel yang tidak terorganisasi dan aktif membelah diri yang sering terjadi karena pelukaan jaringan tanaman atau pengkulturan berbagai jaringan tanaman [3]. Kultur kalus ini penting dilakukan untuk melihat kemampuan eksplan dalam membentuk kalus yang selanjutnya dapat ditumbuhkan pada media regenerasi secara terus-menerus sehingga dapat dimanfaatkan dalam mempelajari metabolisme dan diferensiasi sel, morfogenesis sel, variasi somaklonal, transformasi genetik serta produksi metabolit sekunder [12].

Jenis ZPT yang sering digunakan dalam menginduksi kalus yaitu golongan auksin, salah satunya adalah Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat yang lebih dikenal dengan singkatan 2,4-D. Beberapa penelitian menunjukkan pengaruh antara konsentrasi 2,4-D dengan pertumbuhan kalus. Shahab-ud-din *et al.*, [19] telah menguji beberapa zpt untuk induksi kalus kentang, dan menyimpulkan bahwa 2,4-D merupakan zpt terbaik dalam pembentukan kalus kentang. Hasil penelitian Solim dan Harahap [6] yang menginduksi kalus dari beberapa eksplan dari Kultivar Granola dengan menggunakan 2,4-D menunjukkan bahwa terdapat pengaruh sangat signifikan 2,4-D, jenis eksplan, dan interaksi 2,4-D dan jenis eksplan terhadap biomassa dan luas permukaan kalus. Selain itu, hasil dari penelitian Sherkar and Chavan [7], menyatakan bahwa 2,4-D pada kisaran 2-4 ppm merupakan kisaran yang baik untuk memacu pembentukan kalus kentang. Lebih lanjut lagi, Al-Hussaini *et al.*, [5] menunjukkan bahwa proliferasi kalus tercepat dihasilkan dari media MS hanya dengan penambahan 2 ppm 2,4-D tanpa penambahan ZPT lain.

III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang tepat dalam menginduksi dan menumbuhkan kalus tanaman kentang Kultivar DTO-28 dan Desiree.

Dengan pengembangan kentang dataran medium, tentunya akan mendukung program diversifikasi pangan. Penelitian ini masih berskala laboratorium, dan hasil dari penelitian ini adalah berupa kalus. Sel-sel parenkim yang bersifat meristematis ini diharapkan dapat menjadi bahan

penelitian selanjutnya untuk mendapatkan keragaman somaklonal sehingga mendapatkan suatu klon baru yang mampu beradaptasi dan berproduksi di dataran rendah, seperti di daerah Jember, Jawa Timur ini.

IV. METODE PELAKSANAAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan tanaman Politeknik Negeri Jember dari Bulan September-November 2016.

B. Bahan dan Alat

Peralatan yang akan digunakan antara lain dissecting set, cawan petri, Laminar Air Flow Cabinet (L AFC), autoklaf, pH meter, petridish, erlenmeyer, gelas ukur, lampu bunsen, timbangan digital, timbangan analitik, hot plate & magnetic stirrer, pipet mikro, gelas ukur, mikroskop dan kamera.

Bahan yang dibutuhkan adalah planlet kentang Kultivar DTO-28 dan Desiree, media MS, ZPT 2,4-D, alkohol 70% dan 96%, kertas tisu steril, tissue gulung, akuadest steril, air bersih, spiritus, plastik wrapping, kertas label.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial, terdiri dari 4 taraf konsentrasi 2,4-D (4,53; 9,05; 13,58; 18,10 μ M), 2 taraf kultivar (DTO-28 dan Desiree). Kombinasi perlakuan berjumlah 8 dengan 5 kali ulangan.

Parameter pengamatan meliputi saat muncul kalus, berat basah kalus, persentase eksplan membentuk kalus, serta parameter kualitatif terhadap morfologi kalus, seperti tekstur, warna, jenis kalus. Data hasil pengamatan terhadap morfologi kalus disajikan secara deskriptif, sedangkan data saat muncul kalus dan berat basah kalus dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA). Untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan dilakukan uji DMRT pada taraf 5%.

D. Penanaman Eksplan

Bahan tanam yang digunakan merupakan ruas planlet kentang. Di dalam L AFC, planlet dibuang daunnya kemudian dipotong setiap ruas dengan panjang 1 cm, dan ditanamkan pada media perlakuan.

Setiap perlakuan terdiri dari lima ulangan, dan setiap ulangan ada 2 botol. Masing-masing botol terdapat 2 eksplan. Sehingga total eksplan yang digunakan berjumlah 80 eksplan.

Eksplan yang sudah ditanamkan kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap untuk memacu pertumbuhan kalus.

V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

A. Persentase Eksplan Membentuk Kalus

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa keseluruhan eksplan yang ditanam pada 8 kombinasi media perlakuan mampu membentuk kalus dengan persentase 100% (TABEL I). Kalus yang terbentuk mengindikasikan bahwa eksplan

yang berasal dari kedua kultivar kentang mampu merespon dengan baik ZPT 2,4-D yang ditambahkan pada media.

Eksplan yang digunakan berupa ruas dari planlet steril yang masih muda. Jaringan dalam ruas tersebut masih

TABEL I
 PERSENTASE PERMBENTUKAN, TEKSTUR, WARNA DAN JENIS KALUS DARI 2 KULTIVAR KENTANG YANG BERBEDA MENGGUNAKAN EKSPAN RUAS BATANG DAN DITANAM PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN BEBERAPA KONSENTRASI 2,4-D (33HST).

No	Kultivar	Konsetrasi 2,4-D	Persentase Pertumbuhan Kalus	Tekstur Kalus	Warna Kalus	Jenis Kalus
1	DTO-28	4,53 μ M	100%	Remah Berair	Hijau Kekuningan	Non Embrionik
2		9,05 μ M	100%	Remah Berair	Putih Kekuningan	Non Embrionik
3		13,58 μ M	100%	Remah Berair	Hijau Kekuningan	Non Embrionik
4		18,10 μ M	100%	Remah Berair	Hijau Kekuningan	Non Embrionik
5	Desiree	4,53 μ M	100%	Remah Berair	Hijau Kekuningan	Non Embrionik
6		9,05 μ M	100%	Remah Berair	Putih Kekuningan	Non Embrionik
7		13,58 μ M	100%	Remah Berair	Hijau Kekuningan	Non Embrionik
8		18,10 μ M	100%	Remah Berair	Hijau Kekuningan	Non Embrionik

bersifat meristematik sehingga proses pembelahan dan pembesaran sel dapat terpacu dengan adanya 2,4-D yang merupakan ZPT golongan auksin. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian terdahulu bahwa media MS dengan penambahan 2,4-D secara tunggal mampu memacu proliferasi kalus tanaman kentang [14],[15],[7],[5],[16].

B. Tekstur Kalus

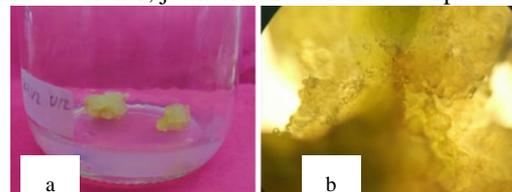
Data hasil pengamatan terhadap tekstur kalus (TABEL I.) menunjukkan bahwa semua eksplan ruas batang dari Kultivar DTO-28 dan Desiree bertekstur remah dan berair. Eksplan tersebut ditanamkan dalam media MS yang mengandung beberapa konsentrasi 2,4-D, sehingga proses pembelahan sel dapat terpacu dan membentuk tekstur yang remah. Terbentuknya kalus yang remah disebabkan oleh meningkatnya proses pembelahan sel. ZPT 2,4-D termasuk dalam golongan auksin yang berperan dalam merangsang dan memacu pembelahan dan pembesaran sel, sehingga sel semakin mengalami pertumbuhan tanpa diikuti oleh perkembangan dinding sel kearah penebalan, sehingga tekstur kalus tetap remah.

Secara visual, kalus yang terbentuk juga berair. Abd Elaleem [14] juga telah melakukan induksi kalus kentang menggunakan beberapa konsentrasi 2,4-D secara tunggal dan kalus yang terbentuk bertekstur remah dan berair. Kalus remah berair dapat disebabkan Karena sifat auksin yang dapat meningkatkan elastisitas dinding sel, yang menyebabkan air dapat masuk melalui tekanan osmotik sel. Menurut Campbell dan Reece [17]; Gunawan [4] menyatakan bahwa auksin mampu merubah susunan matrix dinding sel sehingga menyebabkan perenggangan dan akibatnya air masuk ke dalam sel, sehingga sel membesar.

C. Warna Kalus

Hasil pengamatan terhadap warna kalus pada akhir pengamatan (33 HST) menunjukkan bahwa rata-rata kalus dari kedua kultivar yang dikulturkan berwarna putih transparan dan hijau kekuningan (Gambar 1).

Warna putih transparan dan hijau kekuningan menunjukkan bahwa kalus masih dalam kondisi yang cukup baik. Warna hijau yang terbentuk pada kalus juga merupakan klorofil yang sudah mulai terbentuk [18], [19], [20]. Warna kalus mengindikasikan fase pertumbuhan kalus. Menurut Philip *et al.* [21], ada lima fase, yaitu a) fase lag, sel mulai membelah; b) fase eksponensial, peningkatan laju pembelahan sel pada titik. c) fase Linear, laju pembelahan sel mulai menurun diikuti proses ekspansi sel; d) Fase deselerasi, laju pembelahan dan pembesaran sel meurun; e) Fase stationer, jumlah dan ukuran sel tetap.



Gambar 1. a) Struktur kalus yang remah dan berair; b) Warna kalus hijau kekuningan transparan dan tidak menunjukkan bentuk nodular embrio.

D. Jenis Kalus

Pengamatan secara visual (Gambar 1b) pada beberapa sampel perlakuan, menunjukkan bahwa jenis kalus yang terbentuk bukan kalus embrionik, karena tidak ditemukan kalus yang berbentuk nodular sebagai penanda perkembangan sel menjadi embrio. Nodul kalus biasanya berwarna putih yang merupakan masa proembrionik, struktur awal terbentuknya embrio Menurut McCown *et al.* [22] nodular kalus merupakan perkembangan sel membentuk jaringan-jaringan khusus penyusun embrio, berbentuk bulat dan terpisah-pisah, memiliki struktur yang kompak.

Dari pengamatan yang dilakukan, warna dan tekstur menunjukkan kompetensi untuk berkembang menjadi embrio karena bertekstur remah. Shimizu *et al.* [23] menyatakan bahwa kalus yang memiliki struktur remah, berwarna putih dan kekuningan berpotensi menjadi kalus yang embrionik, membentuk embrio somatik.

E. Saat Muncul Kalus

Hasil pengamatan terhadap waktu kemunculan kalus (TABEL II), menunjukkan bahwa kultivar DTO-28

memberikan respon tercepat dalam memunculkan kalus yaitu rata-rata pada 5,00 HST. Sedangkan Kultivar Desiree rata-rata memunculkan kalus pada 8,55 HST. Perbedaan tersebut dapat terjadi karena faktor genotip yang mempengaruhi respon dalam proses pembentukan kalus. Perbedaan respon pembentukan kalus tanaman kentang karena faktor genotip sebelumnya telah dilaporkan Hossein and Nikolaevich [24]. Vinterhalter *et al.* [25] menyatakan bahwa kemampuan pembentukan kalus dan morfogenesis tanaman kentang *in vitro* dipengaruhi faktor genotip.

TABEL II
RERATA WAKTU MUNCUL KALUS DARI KULTIVAR DTO-28 DAN DESIREE PADA MEDIA MS DENGAN VARIASI KONSENTRASI 2,4-D.

Kultivar	Konsentrasi 2,4-D								Rerata	
	4,53 μ M		9,05 μ M		13,58 μ M		18,10 μ M			
DTO-28	5,00 \pm 0,00	a	5,00 \pm 0,00	a	5,00 \pm 0,00	a	5,00 \pm 0,00	a	5,00 \pm 0,00	A
Desiree	7,20 \pm 1,64	b	7,60 \pm 1,52	b	8,00 \pm 1,00	b	11,40 \pm 2,51	c	8,55 \pm 2,35	B
Rerata	6,10 \pm 1,59	A	6,30 \pm 1,71	A	6,50 \pm 1,72	A	8,20 \pm 3,76	B		

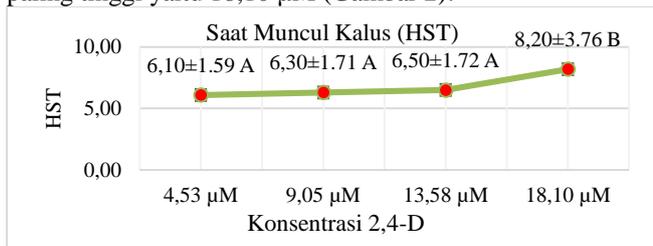
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 0,05.

TABEL III
RERATA BERAT SEGAR KALUS (GR) DARI KULTIVAR DTO-28 DAN DESIREE PADA MEDIA MS DENGAN VARIASI KONSENTRASI 2,4-D.

Kultivar	Konsentrasi 2,4-D								Rerata	
	4,53 μ M		9,05 μ M		13,58 μ M		18,10 μ M			
DTO-28	0,33 \pm 0,14	ab	0,51 \pm 0,18	bc	0,96 \pm 0,24	d	1,56 \pm 0,07	e	0,84 \pm 0,51	A
Desiree	0,30 \pm 0,11	a	0,31 \pm 0,09	a	0,59 \pm 0,13	c	0,79 \pm 0,08	d	0,50 \pm 0,23	B
Rerata	0,31 \pm 0,12	A	0,41 \pm 0,17	A	0,77 \pm 0,27	B	1,17 \pm 0,41	C		

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berarti tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 0,05.

Ditinjau dari variasi konsentrasi 2,4-D yang digunakan, rata-rata kalus pertama kali muncul pada konsentrasi 4,53 μ M 2,4-D. Hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 9,05 μ M dan 13,58 μ M. Tetapi hasil yang berbeda nyata ditunjukkan pada konsentrasi 2,4-D yang paling tinggi yaitu 18,10 μ M (Gambar 2).



Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 0,05.

Gambar 2. Grafik Rerata Waktu Muncul Kalus pada Variasi Konsentrasi 2,4-D.

Data hasil rerata saat muncul kalus menunjukkan bahwa konsentrasi 2,4-D memberikan pengaruh terhadap waktu kemunculan tunas. Pada konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah justru rata-rata waktu kemunculan tunas lebih cepat dibanding konsentrasi yang lebih tinggi. Kemunculan kalus yang lambat disebabkan oleh konsentrasi 2,4-D yang tinggi

melebihi konsentrasi optimum, sehingga proses kemunculan eksplan menjadi terhambat. Dalam penelitian ini rata-rata kalus muncul pada 5-12 HST. Rata-rata hasil yang sama juga telah dilaporkan Khalafalla *et al.* [15] bahwa kemunculan kalus kentang yang diinduksi pada konsentrasi 2,0 ppm (9,05 μ M) -5,0 ppm (22,63 μ M) 2,4-D terlihat mulai dari 7-12 HST.

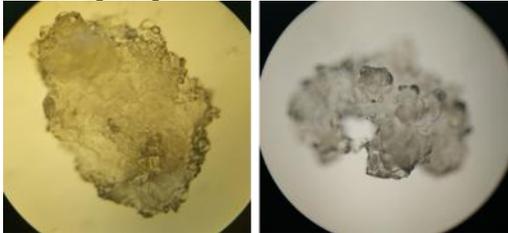
F. Berat Segar Kalus

Berat segar kalus merupakan salah satu parameter untuk mengetahui adanya pertumbuhan masa sel melalui proses pembelahan dan pembesaran sel. Hasil analisis statistik berat segar kalus menunjukkan bahwa adanya pengaruh sangat nyata dari perlakuan variasi kultivar dan konsentrasi 2,4-D (TABEL III).

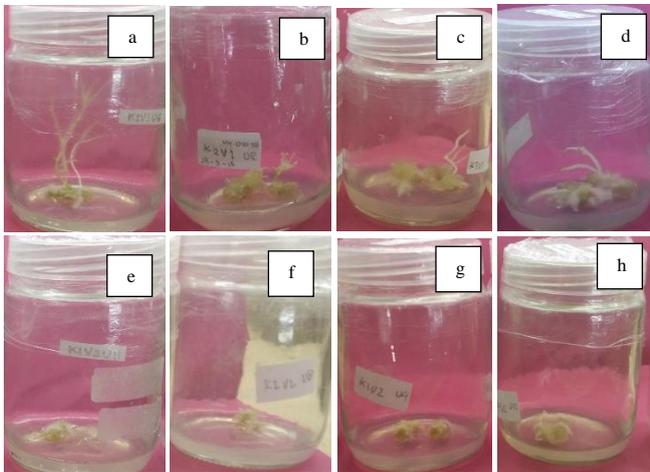
Kultivar DTO-28 menghasilkan kalus yang lebih berat yaitu rata-rata 0,84 gr, dibanding dengan Kultivar Desiree dengan rata-rata 0,50 gr. Perbedaan genotip merupakan penyebab utama perbedaan berat segar kalus yang dihasilkan. Penelitian sebelumnya yang dilakukan AL-Hussaini *et al.* [5] juga mendapati perbedaan berat segar kalus yang dihasilkan dari beberapa varietas kentang yaitu Provento, Burren and Riviera.

Konsentrasi 2,4-D berpengaruh nyata terhadap berat segar kalus (TABEL III). Kalus yang tumbuh pada konsentrasi 4,53 μM 2,4-D memiliki berat rata-rata terendah, yaitu 0.31 gr. Hasil tersebut tidak berbeda nyata pada perlakuan 9,05 μM 2,4-D dengan berat rata-rata 0,41 gr. Perbedaan yang nyata terlihat pada konsentrasi 13,58 μM 2,4-D dengan berat rata-rata 0,77 gr. Terjadi peningkatan berat kalus yang tumbuh pada konsentrasi 18,10 μM 2,4-D yaitu 1.17 gr. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka terjadi peningkatan pembelahan dan pembesaran sel. Ikeuchi *et al.* [26] menyatakan bahwa peningkatan berat segar kalus dapat terjadi karena proses proliferasi sel tanpa disertai diferensiasi.

Peningkatan berat segar kalus juga dipengaruhi oleh pembesaran sel. Hal tersebut terlihat dari pengamatan terhadap tekstur kalus yang remah dan mengandung air. Gunawan [4], Campbell dan Reece [17] menyatakan bahwa auksin menyebabkan pengenduran dinding sel yang mengakibatkan air dapat masuk secara osmosis. Secara mikroskopis sel-sel kalus terlihat transparan dan bentuknya tidak teratur, seperti pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Penampakan visual kalus menggunakan mikroskop



Gambar 4. Pertumbuhan kalus pada 33 HST

a) DTO-28 MS+ MS+4,53 μM 2,4-D; b) DTO-28 MS+ MS+9,05 μM 2,4-D; c) DTO-28 MS+ MS+13,58 μM 2,4-D; d) DTO-28 MS+ MS+18,10 μM 2,4-D; e) Desiree MS+ MS+4,53 μM 2,4-D; f) Desiree MS+ MS+9,05 μM 2,4-D; g) Desiree MS+ MS+13,58 μM 2,4-D; h) Desiree MS+ MS+18,10 μM 2,4-D.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian induksi kalus dari Kultivar DTO-28 dan Desiree pada beberapa konsentrasi 2,4-D, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kultivar DTO-28 lebih responsif terhadap 2,4-D sehingga mampu memunculkan kalus lebih cepat yaitu pada 5 HST dan menghasilkan masa kalus yang lebih berat dibanding Kultivar Desiree.
2. Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D maka semakin besar rata-rata berat segar kalus yang dihasilkan. Konsentrasi 18,10 μM 2,4-D merupakan konsentrasi yang paling baik dalam meningkatkan berat segar kalus dari Kultivar DTO-28 dan Desiree.

Penelitian ini membutuhkan tahap lanjutan terkait variasi somaklonal dengan menguji kalus pada mutagen kimia dan kemudian meregenerasi kalus untuk pembentukan tunas kearah mutipikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Prabaningrum. L., T.K. Moekasan, I. Sulastri, T. Handayani, J.P. Sahat, E. Sofari. dan N. Gunadi, "Teknologi Budidaya Kentang di Dataran Medium". *Monografi Balai Penelitian Tanaman Sayuran Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura*. 2014. 34.
- [2] Basuki. R.S., Kusmana, dan E. Sofari. "Identifikasi permasalahan dan peluang perluasan area penanaman kentang di dataran medium". *Prosiding Seminar Pekan Kentang Nasional Tahun 2008*. Vol. 1. 376-388.
- [3] Yusnita. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 2003.
- [4] Gunawan. L.W, *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi IPB. Bogor. 1992.
- [5] AL-Hussaini. Z.A., S.H.A. Yousif. and S.A. AL-Ajeely. Effect of Different Medium on Callus Induction and Regeneration in Potato Cultivars. *International journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(5): 856-865. 2015.
- [6] Solim. M.H, dan F. Harahap, "Induksi Kalus Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Varietas Granola dari Jenis Eksplan yang Berbeda dengan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D secara Invitro". *Prosiding Semnas Biologi*, 2014. 190-195.
- [7] Sherkar H.D, and Chavan A.M, "Effect of 2,4-D; BAP and TDZ on Callus Induction and Shoot regeneration in Potato". *Science Research Reporter*. 4(1): 101-105. 2014.
- [8] Rustianingsih. R. "Pengujian Klon-Klon kentang (*Solanum tuberosum* L.) Hasil Silangan Astarte x DTO-28 dan Selfing Astarte". Skripsi. Jurusan Budidaya Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 2000.
- [9] Delfiani. D. "Evaluasi Ketahanan 28 Klon Kentang (*Solanum tuberosum*) Terhadap Penyakit Busuk Lunak (*Erwinia carotovora* L.R Jones) secara In Vitro". Skripsi. Jurusan Budidaya Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 2003.
- [10] Sari. D.C. "Ketahanan Beberapa Klon Kentang (*Solanum tuberosum* L.) terhadap Fusarium spp". Tesis.Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. 2015.
- [11] Aulia. A.N, M. Nawawi, T. Wardiyati. "Uji Daya Hasil Tujuh Klon Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.)". *Jurnal Produksi Tanaman*1 (6). 2014.
- [12] Ariati. S.N., Waeniati, Muslimin, I.N. Suwastika. "Induksi Kalus Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D, BAP dan Air Kelapa". *J. Natural Science*. 1(1): 74-84. 2012.
- [13] Shahab-ud-din, I.N. Sultan, M.A. Kakar, A. Yousafzai, F.A. Sattar, F. Ahmmad, S.M. Ibrahim, M. Hassanullah. and B. Arif. "The Effects of Different Concentrations and Combinations of Growth Regulators on the Callus Formation of Potato (*Solanum tuberosum*)"

- Explants". *Current Research Journal of Biological Sciences*. 3(5): 499-503. 2011.
- [14] Abd Elaleem, K, R.S. Modawi and M.M. Khalafalla, "Effect of Plant Growth Regulators on Callus Induction and Plant Regeneration in Tuber Segment Culture of Potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Diamant". *African Journal of Biotechnology*. 8(11). 2529-2534. 2009.
- [15] Khalafalla, M.M, KG. Abd Elaleem and R.S. Modawi, "Callus Formation and Organogenesis of Potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Almera". *Journal of Phytology* 2(5): 40-46. 2010.
- [16] Dhaka, M and T.K.Nailwal, "High efficiency micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Jyoti in Kumaun Hills". *Journal of Plant Breeding and Crop Science*. 7(7): 203-210. 2015.
- [17] Campbell, N.A, and J.B. Reece, *Biology. Sixth Edition*, Pearson Education, Inc. San Francisco. 802-831. 2002.
- [18] Andaryani, S. "Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BAP dan 2,4-D terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *In Vitro*", Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 2010.
- [19] Widyastuti, N, "Pelestarian Tanaman Pangan melalui Teknik Kultur *In Vitro*" *J. Teknologi Lingkungan*. 1(3): 206-211. 2000.
- [20] Rosyidah, M., R. Evi. dan S.R. Yuni, "Induksi Kalus Daun Melati (*Jasminum sambac*) dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan 6-Benzyl Amino Purin (BAP) pada Media MS secara *In Vitro*". *Jurnal Biologi*. 3(3): 147-153. 2014.
- [21] Philip, J.D, and K.K. Hampson, "An Assesmant of Morphogenic and Transformation Efficiency in a Range of Varieties of Potato (*Solanum tuberosum* L.)". *Euphytica*. 85: 101-108. 1995.
- [22] McCown, B., E. Zeldin, H. Pinkalla, and R. Dedolph. Eds, "*Nodule Culture: a Developmental Pathway with High Potencial for Regeneration, Automated Micropropagation, and Plant Metabolite Production from Woody Plants, in Genetic Manipulation of Woody Plants*", J. Hanover and D. Keathley, Plenum, New York, NY, USA.149-166.1988.
- [23] Shimizu K, N.Nagaike., T. Yobuya. and T. Edachi, "Plant regeneration from suspension culture of *Iris germica*". *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 50: 27-31. 1997.
- [24] Hossein, P, and E.A Nikolaevich, "Statistical Analysis of Growth Factors in Potato During Regeneration with Different Hormonal Treatments". *Austrian Journal of Technical and Natural Sciences*. 2015.
- [25] Vinterhalter D, S. Zdravkovi-Kora, N. Miti, I. Dragicevi, A. Cingel, M. Raspor, and S. Ninkovi. Ed., *Protocols for Agrobacterium-mediated Transformation of Potato*. In: Texeira de Silva J. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology, Global Science Books.1-15. 2008.
- [26] Ikeuchi M, K.Sugimoto, A. Iwase, "Plant callus: Mechanisms of Induction and Repression". *Plant Cell*. 25(9):3159-73.2013.