

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu tanaman yang menempati urutan keempat setelah gandum, beras dan jagung yang ditanam secara global (Zhang *et al.*, 2017). Kentang merupakan makanan pokok terpenting di dunia dan sebagai sumber kelangsungan hidup manusia. Oleh karena itu, kentang menjadi tanaman penting dalam hal ketahanan pangan untuk menghadapi pertumbuhan penduduk di situasi masyarakat kelaparan yang terus meningkat (International Potato Center, 2013).

Badan pusat statistik (BPS) mencatat, produksi kentang di Indonesia mencapai 1,36 juta ton pada tahun 2021. Jumlah tersebut naik 6% dibandingkan tahun 2020 sebesar 1,28 juta ton. Kentang mengalami penurunan produksi pada tahun 2020 akibat pandemic covid 19. Produksi kentang mengalami fluktuasi dalam satu dekade terakhir. Berdasarkan data tersebut, salah satu wilayah penghasil produksi kentang adalah pulau Jawa Barat, Sumatera Selatan dan Nusa Tenggara Barat merupakan daerah sentra penghasil kentang dengan produktivitas di atas 19 ton.ha⁻¹ sehingga tergolong sebagai importir terbesar di Indonesia, sedangkan Provinsi Lampung hanya menyumbang 561 ton.ha⁻¹ atau 0,05% dari produksi kentang Indonesia.

Konsumsi kentang di Indonesia mengalami fluktuasi pada periode tahun 2012 – 2016. Tahun 2012 konsumsi kentang sebesar 1,46 kg⁻¹ dan meningkat sebesar 1,56 kg⁻¹ pada tahun 2013. Namun, tahun 2014 mengalami penurunan sebesar 1,47 kg⁻¹ dibandingkan tahun sebelumnya. Nilai konsumsi kentang meningkat kembali menjadi 2,5 kg/kapita pada tahun 2015 dan 2016 (Herwulan. *et al.*, 2017).

Kultivar kentang yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah kultivar Granola. Kultivar Granola yang memiliki keunggulan dibandingkan dengan varietas lainnya, salah satunya keunggulannya yaitu potensi hasil produksi yang bisa mencapai 30 – 35 ton.ha⁻¹ dengan masa tanam 80 hari (Samadi, 2007). Nilai produksi yang tinggi dan tahan terhadap hama dan penyakit sehingga kultivar

tersebut dapat melakukan pertumbuhan dan perkembangan yang optimal dan nilai produktivitas tinggi. Granola menghasilkan potensi bobot satuan yang tinggi dengan harga jual yang tinggi juga (Zulkarnain *et al.*, 2017).

Sistem perbenihan kentang di Indonesia saat ini terdiri dari 5 kelas benih sumber, G0, G1, G2, G3 dan G4. Berdasarkan Kementerian Pertanian (2012) dalam Peraturan Perbenihan Hortikultura No 48/Permentan/ SR/120/8/2012 kelas benih sumber adalah bagian tanaman yang nantinya digunakan untuk proses perbanyak benih bermutu secara konvensional maupun kultur *in vitro*, G0 setara dengan benih penjenis (BS), kelas benih G1 setara dengan benih dasar 1 (BD1), kelas benih G2 setara dengan benih dasar 2 (BD 2), kelas benih G3 setara dengan benih pokok (BP) dan kelas benih G4 setara dengan benih sebar (BR). Multiplikasi kentang pada penelitian ini menggunakan eksplan kentang Granola turunan pertama G1 yang berasal dari perbanyak *in vitro* Laboratory Seameo Biotrop Bogor.

Kendala dalam meningkatkan produksi kentang secara nasional adalah ketersediaan benih kentang yang bermutu dan bersertifikat. Rosalina (2011) Menurut Balai Penelitian Tanaman Sayuran (BALITSA) kebutuhan benih kentang yang bersertifikat dapat terpenuhi sekitar 15%, sedangkan Rukmana *et al.*, (2012), menyatakan kebutuhan benih kentang yang bersertifikat per tahunnya diperkirakan akan mencapai 128,613 ton atau setara dengan Rp 1,29 triliun, dan baru bisa terpenuhi sekitar 5%. Hal ini menunjukkan bahwa perbenihan kentang nasional dalam menyediakan benih kentang dengan jumlah dan kualitas yang diharapkan belum bisa terpenuhi karena adanya keterbatasan kapasitas produksi di Balai Benih Induk (Ridwan *et al.*, 2010).

Salah satu upaya yang digunakan untuk menghasilkan pengadaan benih kentang dapat dilakukan secara *inkonvensional*. Teknik kultur jaringan yang mampu menghasilkan kentang dengan kualitas yang konsisten, serta mampu memproduksi benih secara massal, seragam dan bebas penyakit (Sulistiani & Yani, 2012). Teknik kultur jaringan dapat menjadi metode alternatif sebagai perbanyak vegetatif tanaman dengan kelebihan memiliki potensi multiplikasi yang cepat dan waktu yang relatif singkat (Mohapatra dan Batra, 2017).

Multiplikasi adalah salah satu metode dalam kultur jaringan yang dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak cepat sehingga menghasilkan planlet dengan konsistensi genetik yang sama dengan tanaman induk yang dijadikan sumber eksplan. Metode multiplikasi telah dilakukan oleh beberapa peneliti dengan variasi medium dasar dan ZPT yang berbeda (Sinta dan Sumaryono, 2011; Nower, 2014; Youseef *et al.* (2010) telah meneliti multiplikasi tunas menggunakan eksplan dengan latar belakang genetik berbeda pada media dasar yang digunakan pada tanaman *stevia*.

Pengembangan teknik kultur jaringan sudah menjadi dasar dalam menghasilkan tanaman berkualitas tinggi terutama pada memperbanyak vegetatif, bebas serangan penyakit dan diproduksi secara massal (Kaur *et al.*, 2015). Pada proses pemindahan hasil dari sistem *in vitro* perlu dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu sebagai penyesuaian benih kentang hasil memperbanyak, dan proses diaklimatisasi ketika tanaman berusia 4 minggu dari hasil memperbanyak *in vitro*. Aklimatisasi ini akan dilakukan untuk meletakkan planlet pada kondisi normal atau *ex vitro* secara bertahap untuk mendorong proses adaptasi morfologi dan fisiologi planlet (Zulkarnain, 2009). Planlet yang akan diaklimatisasi berbentuk planlet yang sudah berakar atau dalam bentuk potongan pucuk atau batang sebagai stek mikro seperti pada aklimatisasi kentang.

Hasil penelitian Karjadi (1996), teknik memperbanyak cepat ini menguntungkan bila ditinjau dari program perbenihan. Menggunakan modifikasi sukrosa dalam pembentukan tunas kentang perlu dipelajari, untuk memperoleh multiplikasi tunas kentang yang memiliki segi kualitas dan kuantitas baik. Faktor utama yang paling menentukan pembentukan kultur tunas kentang adalah jenis media, konsentrasi sukrosa serta suhu dan fotoperiodisitas. Induksi tunas kentang dapat dilakukan pada media MS (Garnier and Blake, 1989).

Penambahan sukrosa sebagai nutrisi organik kedalam media akan mendukung aktivitas metabolisme eksplan yang sebagian besar tidak mampu dalam melakukan fotosintesis, karena tidak adanya klorofil. Peningkatan produksi kentang sebagian besar dilakukan para petani secara konvensional. Menurut Suwarno (2008) ada beberapa masalah yang saat ini menjadi perhatian dalam membangun ketahanan pangan berkelanjutan dalam peningkatan produksi

kentang di Indonesia, yaitu terbatasnya kuantitas bibit kentang bermutu dan berkualitas baik, Sehingga menghasilkan produksi yang rendah. Penanaman benih kentang secara konvensional yakni yang dibudidayakan dengan media tanah yang memiliki kelemahan yaitu membutuhkan area yang luas sekitar 1/3 wilayah tanam untuk produksi benih, memiliki resiko yang tinggi terhadap penyakit, hama, serta membutuhkan kontrol yang intensif. Struik dan Wiersema (1991).

Teknik kultur jaringan merupakan salah satu metode mengisolasi bagian dari tanaman tersebut, seperti protoplasma, sekelompok sel, sel, jaringan, dan organ yang menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian tanaman dapat diperbanyak atau memperbanyak diri beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Gunawan, 1987).

1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab permasalahan yang dapat dirumuskan dalam pertanyaan berikut:

1. Bagaimana pengaruh peningkatan konsentrasi sukrosa pada pertumbuhan kultur kentang varietas Granola secara *in vitro* ?
2. Berapa konsentrasi sukrosa yang terbaik untuk pertumbuhan kultur kentang varietas Granola secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah, penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi sukrosa pada kultur tanaman kentang varietas Granola secara *in vitro*.
2. Mendapatkan konsentrasi sukrosa yang terbaik untuk pertumbuhan kultur kentang varietas Granola secara *in vitro*.

1.4 Kerangka Pemikiran

Varietas tanaman kentang yang dibudidayakan di Indonesia sangatlah beragam, mulai dari tahun 2000 sampai tahun 2014 Badan Penelitian Tanaman Sayuran (BALITSA) telah melepaskan Varietas Kentang Unggul Baru (VUB) yaitu varietas Medians, Andina, Amabile, Granola, dan Maglia (Sofiari *et al.*, 2015). Perakitan varietas kentang unggul akan terus terjadi karena sebagai upaya

penambahan jumlah VUB dan meningkatkan produktivitas kentang (Zulkarnain *et al.*,2017).

Kultivar kentang Granola merupakan hasil introduksi dari Jerman Barat yang memiliki karakteristik tanaman kentang kultivar Granola yaitu memiliki tinggi tanaman sekitar 65 cm, batang berwarna hijau dengan urat daun utama berwarna hijau muda, umbi berbentuk oval dengan warna kulit kuning, daging umbi berwarna kuning (Pitojo, 2004). Kultivar Granola memiliki keunggulan dibandingkan dengan varietas lainnya, yaitu memiliki masa tanam 80 hari dengan potensi hasil produksi yang bisa mencapai 30 – 35 ton.ha⁻¹. Selain itu kultivar ini memiliki nilai produksi yang tinggi dan tahan terhadap penyakit virus (*Potato Leaf roll virus*) PLRV dan (*Potato virus Y*) PVY. Granola menghasilkan potensi bobot satuan yang tinggi dengan harga jual yang tinggi (Zulkarnain *et al.*,2017).

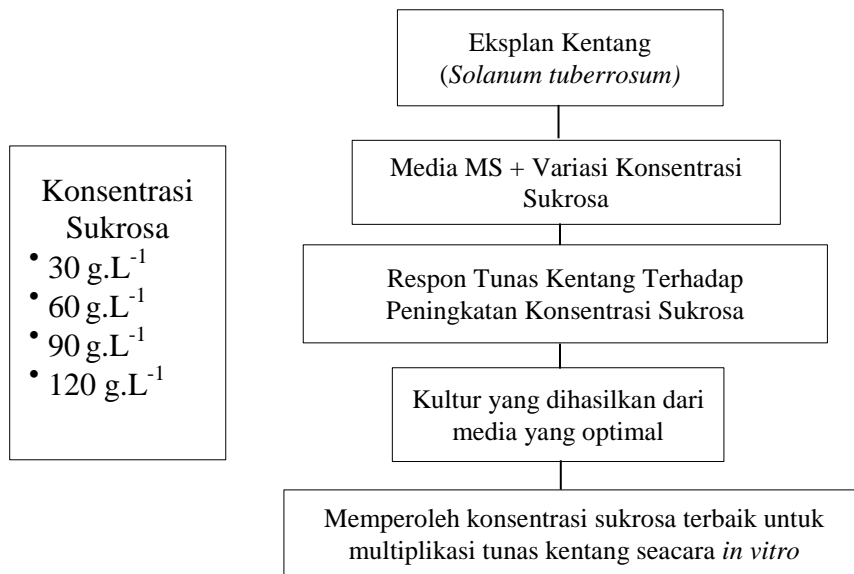
Salah satu upaya dalam peningkatan produksi kentang varietas Granola adalah dengan melakukan teknik perbanyakan, salah satunya dengan multiplikasi tunas pada tanaman kentang varietas Granola, yang dapat dilakukan melalui teknik kultur *in vitro* dengan penanaman eksplan bagian batang dalam media MS dengan variasi konsentrasi sukrosa yang telah ditentukan. Media MS saat ini sudah mengalami proses modifikasi tertentu untuk mengoptimalkan hasil kultur, terutama dalam hal komposisi karbon. Sebagian besar tanaman pada proses multiplikasi *in vitro* umumnya memerlukan sukrosa sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangannya sel - selnya dalam berfotosintesis. Hampir keseluruhan kultur memperlihatkan respons pertumbuhan yang optimum dengan pemberian disakarida dalam bentuk sukrosa (Zulkarnain, 2009). Sukrosa yang ditambahkan dalam media *in vitro* akan diubah menjadi bentuk pati oleh planlet, pati dalam kultur *in vitro* yang berperan sebagai penyedia kerangka karbon, agen osmotik dan sebagai substrat respirasi (Lakitan, 2011). Pati yang terbentuk akan diakumulasi dan disimpan di kloroplas dalam bentuk butiran yang tidak larut dalam air. Sukrosa pada media MS merupakan sumber karbon sebagai pengganti karbon yang biasanya didapat tanaman dari atmosfer dalam bentuk CO₂ yang diperlukan untuk proses fotosintesis (Gunawan, 1987).

Sukrosa digunakan pada penelitian ini karena banyak menyimpan molekul-molekul yang menyebabkan arah gerakan difusi itu akan bergerak dari

arah konsentrasi molekul terlarut tinggi ke konsentrasi molekul terlarut rendah (Husni *et al.*, 2014). Keadaan demikian menyebabkan pertumbuhan tunas lebih cepat karena menerima unsur-unsur hara yang diperlukan bagi pertumbuhan tunas tanaman. Tinggi tunas sangat dipengaruhi oleh adanya unsur hara yang diperoleh dari media. Berdasarkan hasil pengamatan di atas maka dilakukan penelitian tentang pengaruh peningkatan konsentrasi sukrosa terhadap multiplikasi tunas kentang Granola (G1) secara *in vitro* dengan beberapa konsentrasi sukrosa yang digunakan yaitu sukrosa 30 g.L⁻¹, 60 g.L⁻¹, 90 g.L⁻¹ dan 120 g.L⁻¹.

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perbanyakan *in vitro* adalah sukrosa yang berperan untuk memenuhi kebutuhan energy dan nitrogen yang digunakan untuk nutrisi unsur hara pada media kultur. Sukrosa biasanya di hidrolisis sebagian atau seluruhnya menjadi komponen monosakarida glukosa dan fruktosa yang kemudian diserap oleh jaringan tanaman sebagian melalui transpor aktif dan sebagian lagi melalui penyerapan pasif (George, 2008).

Penggunaan konsentrasi sukrosa sebesar 30 g.L⁻¹ sesuai dengan rekomendasi Murashige and Skoog (MS) mampu meningkatkan hasil kultur tunas *Tacca leontopetaloides* (Haspari *et al.*, 2015), pemberian konsentrasi sukrosa sebesar 90 g.L⁻¹ dapat meningkatkan rata-rata jumlah umbi mikro kentang (Maharani, 2019). Perlakuan konsentrasi sukrosa 60 g.L⁻¹ menghasilkan jumlah buku tertinggi pada planlet kentang (Wati, 2020). Pemberian konsentrasi sukrosa sebesar 120 g.L⁻¹ mampu membentuk umbi dengan skala presentase 95,83% terhadap induksi umbi mikro kentang secara *in vitro* (Syrafrizal, 2020). Sehingga tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap kultur kentang varietas Granola dan memperoleh konsentrasi sukrosa terbaik pada kultur kentang secara *in vitro*.



Gambar 1. Diagram alir kerangka pemikiran penelitian multiplikasi tunas kentang Granola G1 dengan konsentrasi sukrosa.

1.5 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah disusun diperoleh hipotesis diduga kultur kentang akan memberikan respon pertumbuhan yang berbeda-beda terhadap peningkatan konsentrasi sukrosa yang diujikan.

1.6 Kontribusi Penelitian

1. Penelitian ini mampu memberikan informasi terkait pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap pertumbuhan tunas kentang varietas Granola.
2. Penelitian ini akan menjadi sumber informasi pada penelitian selanjutnya terkait komposisi media yang telah ditentukan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Botani Tanaman

Tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L. var. Granola) merupakan tanaman yang umum dikonsumsi di Indonesia berasal dari famili *Solanaceae* dan genus *Solanum*. Kentang memiliki potensi yang sangat besar dalam menunjang kebutuhan pangan. (Sagala *et al.*, 2012). Tanaman kentang berasal dari Peru dan Bolivia di pegunungan Andean setinggi 3.000 mdpl (Handayani, *et al.*, 2011).

Kentang terdiri dari beberapa varietas yaitu varietas Granola untuk sayur dan varietas atlantik untuk olahan. Menurut (Nurchayati, *et al.*, 2019) menyatakan bahwa varietas kentang memiliki bentuk daun, ukuran daun dan warna daun yang berbeda. Varietas Granola batang yang dihasilkan memiliki ciri yaitu batang basah, berwarna hijau, dan memiliki penampang batang persegi.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kentang

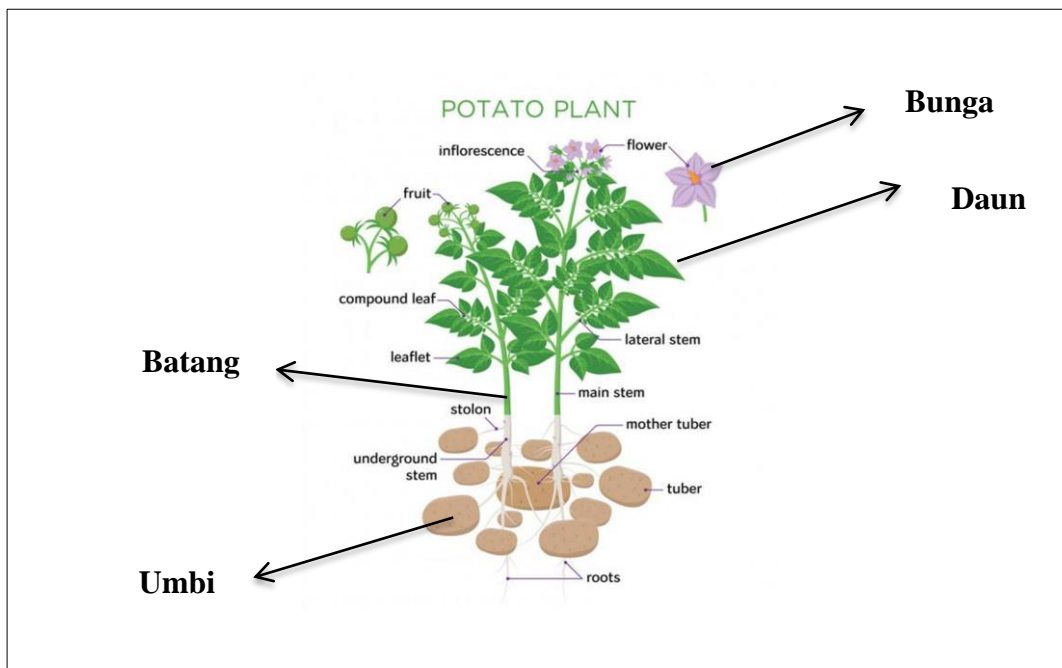
Menurut *Agriculture* (2018), dalam sistematika tumbuhan kentang dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta - seed plants</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta- seed plants</i>
Division	: <i>Magnoliophyta - Flowering plants</i>
Class	: <i>Magnoliopsida – Dicotyledons</i>
Subclass	: <i>Asteridae</i>
Order	: <i>Solanales</i>
Family	: <i>Solanaceae - Potato Family</i>
Genus	: <i>Solanum L.- nightshade</i>
Species	: <i>Solanum tuberosum L.- Irish potato (Agriculture, 2018)</i>

2.2.2 Morfologi Tanaman Kentang

1). Daun

Tanaman kentang mempunyai daun majemuk yang menempel di satu tangkai (rachis), helai daun umumnya berjumlah ganjil dan saling berhadapan dan di antara pasang daun memiliki sepasang daun kecil seperti telinga yang disebut daun sela. Pangkal tangkai daun majemuk terdapat sepasang daun kecil yang disebut sebagai daun penumpu (stipula). Daun berwarna hijau muda sampai hijau gelap dan ditutupi oleh daun-daun halus. (Sunarjono, 2007).



Gambar 2. Morfologi tanaman kentang

Sumber : Simangunsong, 2011

2). Batang

Batang pada tanaman kentang berbentuk segi empat atau segi lima tergantung dengan jenis varietasnya. Batang adalah tanaman berbuku-buku, berongga dan tidak berkayu. Diameter batang kecil dengan tinggi dapat mencapai 50-120 cm, tumbuh menjalar. Batang berwarna hijau kemerah-merahan atau hijau keungu-unguan, batang berfungsi sebagai jalannya zat-zat hara dari tanah sampai ke daun untuk menyalurkan hasil fotosintesis dari daun ke seluruh bagian tanaman yang lainnya. (Rukmana, 2005). Keadaan iklim berupa suhu yang tinggi akan memberikan pengaruh pertumbuhan tanaman kentang, diantaranya tinggi

tanaman, jumlah ruas, dan jumlah daun (Wenas, *et al.*, 2016). Kentang varietas Granola memiliki batang yang menghasilkan memiliki karakter basah, berwarna hijau dan mempunyai penampang batang berbentuk persegi. Keragaman tanaman kentang varietas Granola terdapat pada karakteristik tanamannya yang lebih pendek. Kentang mempunyai sistem perakaran tunggang dan serabut. Akar serabut tumbuh menjalar ke samping sampai menembus tanah dangkal, sedangkan akar tunggang bisa menembus sampai kedalaman 45 cm (Handayani, *et al.*, 2011)

3). Bunga

Bunga tanaman kentang berwarna keputihan atau ungu dan tumbuh pada ketiak daun teratas berkelamin dua (*Hermaphroditus*), yang tersusun dalam rangkaian bunga yang tumbuh pada ujung batang dengan tiap rangkaian bunga terdapat 7 – 15 kuntum bunga. Umbi tanaman kentang varietas Granola memiliki bentuk oval dan berwarna kuning dan ketebalan pada kulit umbi sedang (Kusmana dan Sofiari, 2007). Daging pada umbi kentang varietas Granola yaitu berwarna kuning (Hidayat *et al.*, 2018). Umbi kentang tersebut memiliki mata tunas dengan jumlah berkisar 2 – 4 mata tunas, namun ada juga yang memiliki variasi berbeda pada setiap jenis varietasnya.

Tinggi tanaman kentang biasanya dipengaruhi oleh ukuran umbi yang dihasilkan, jika ukuran umbi kecil maka tingkat kemampuan dalam penyimpanan cadangan makanannya rendah. Sebaliknya jika ukuran umbi yang dihasilkan itu besar maka tingkat penyimpanan cadangan makanannya terbilang tinggi. (Mulyono, *et al.*, 2017).

4). Umbi

Umbi terbentuk dari cabang samping di antara akar. Proses perkembangan umbi digambarkan dengan terhentinya perkembangan membujur stolon diikuti dengan pertumbuhan sehingga stolon tersebut membesar. Kapasitas umbi untuk menyimpan makanan seperti karbohidrat protein lemak, nutrisi, mineral, dan air. Umbi kentang yang sebenarnya mengandung racun solanin berwarna hijau meskipun sudah tua (Sunarmi, 2010).

2.2 Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan merupakan teknik budidaya *in vitro* untuk mengisolasi bagian tanaman dengan perbanyakannya hingga memperoleh hasil tanaman yang lengkap (Lestari, 2011). Menurut prinsip tersebut, sebuah sel atau jaringan tumbuhan diambil dari bagian manapun, dan akan tumbuh menjadi tumbuhan yang sempurna jika menggunakan media yang cocok. (Bustomi, 2011). Pelaksanaan teknik kultur jaringan meliputi beberapa tahapan yaitu meliputi persiapan media, eksplan, penanaman, penumbuhan, perawatan, dan aklimatisasi. Komponen media kultur jaringan tumbuhan terdiri dari unsur hara makro dan mikro, suplemen ion yang terpisah, vitamin, sumber karbon, dan zat pengatur tumbuh serta vitamin dan asam amino (Dodds dan Roberts, 1995).

Teknik kultur jaringan berawal dari pembuktian teori totipotensi (total potensi genetik) yang telah dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann pada tahun 1938 – 1839. Totipotential (total potensi genetik) ialah setiap sel tanaman yang terdapat informasi genetik dan perangkat fisiologi dengan kondisi sesuai dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman lengkap (Yusnita, 2003).

Menurut Anitasari *dkk*, (2018) Tahapan dalam kultur jaringan yaitu inisiasi, multiplikasi, perpanjangan dan induksi akar (pengakaran) serta aklimatisasi. Kegiatan inisiasi ini meliputi persiapan eksplan, sterilisasi eksplan hingga memperoleh eksplan yang bebas dari mikroorganisme kontaminan. Selanjutnya multiplikasi merupakan tahap perbanyakannya eksplan dengan subkultur (pemindahan eksplan ke dalam media baru yang berisi ZPT) dan dilakukan secara berulang-ulang untuk mempertahankan stok eksplan.

Pengakaran merupakan kegiatan terakhir sebelum planlet dipindahkan kondisi di luar. Selanjutnya Aklimatisasi adalah proses adaptasi tanaman hasil kultur jaringan terhadap lingkungan sekitarnya. Keunggulan teknik kultur jaringan diantaranya yaitu perbanyakannya bibit dapat dilakukan secara massal dengan efisiensi waktu yang relatif cepat, bebas dari serangan hama penyakit yang dihasilkan oleh indukan awal, ketersediaan stok bibit yang tersedia (Sulistiani & Yani, 2012). Dengan adanya teknik kultur jaringan sangat membantu dalam segi pemeliharaannya (Karjadi dan Buchory, 2008). Selain itu keuntungan lain yang

diperoleh dari teknik kultur jaringan yaitu produksi metabolit sekunder dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa harus dipengaruhi oleh keadaan cuaca (Putri, 2015).

Keberhasilan kultur jaringan ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya wadah dan media tumbuh serta eksplan yang digunakan. Konsentrasi sukrosa yang tinggi, zat pengatur tumbuh dan suhu kultur (18 – 22°C) (Hasni, *et al*, 2014). Jika subkultur dan zat pengatur tumbuh yang digunakan pada media kultur terlalu tinggi akan mengakibatkan tanaman yang dihasilkan mengalami mutasi sehingga tanaman tersebut tidak mempunyai sifat yang sama dengan induknya. Berhasilnya kultur jaringan banyak ditentukan oleh media tanam seperti faktor lingkungan salah satunya pH, suhu, cahaya, sterilisasi dan pemilihan eksplan yang tepat.

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan sebagai berikut :

2.2.1 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan upaya yang bertujuan untuk menonaktifkan spora dan mikroorganisme seperti (bakteri, jamur, parasit dan virus) instrumen yang menempel termasuk endospora dan bakteri, Hampir semua mikroba mati sesudah diberi uap air dengan suhu 121°C selama 10 – 15 menit. (Katuuk, 1989). Proses sterilisasi yang tidak sempurna akan menimbulkan terjadinya kontaminasi oleh cendawan dan bakteri. Autoklaf adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan. Lama sterilisasi yang dilakukan biasanya 15 menit untuk 121°C. (Marino dan Benjamin, 1986)

2.2.2 Media dan Nutrisi

Perbanyak tanaman dengan teknik kultur jaringan dapat dipengaruhi oleh jenis media yang digunakan. Media dasar yang sering digunakan pada teknik kultur jaringan adalah media Murashige dan Skoog (MS). Pendapat dari Marlina (2004) bahwa tanaman kentang dapat diperbanyak dengan teknik kultur jaringan menggunakan media MS. Hal ini dikarenakan kandungan yang terdapat pada media MS sudah mencakup garam mineral serta vitamin pertumbuhan eksplan (Trivedi *et al.*, 2015). Komponen bahan pembuatan media MS terdiri dari agar, sukrosa, vitamin, *myo inositol*, larutan stok dan *casein acid*. Agar biasanya ditambahkan untuk mendapatkan media semi padat yang berfungsi sebagai

peletakan dan membenamkan eksplan suatu tanaman (Puspita, 2017). Memadatkan media diantaranya agar, *gelzan*, *bacto agar*, *agarose*, *gellan*, *gum*, dan *gelrite* (George, *et al.*, 2008).

Berikut ini beberapa komposisi medium dalam kultur jaringan sebagai berikut:

a). Larutan Garam Anorganik

Tanaman setidaknya membutuhkan 16 unsur hara untuk tumbuh berkembang, unsur hara tersebut terdiri dari dua jenis yaitu unsur hara makro dan unsur hara mikro. Menurut Sandra (2013) unsur hara makro yaitu nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), sulfur (S), kalium (Ca) dan magnesium (Mg). sedangkan yang termasuk ke dalam unsur hara mikro adalah Fe, Mn, Zn, B, Cu dan Mo. Unsur –unsur tersebut berperan penting dalam memenuhi kebutuhan tanaman agar dapat tumbuh pada media kultur .

b). Zat-zat Organik

Menurut Sandra, (2013) Kultur jaringan terdapat karbohidrat berupa senyawa kimia organik yang digunakan sebagai sumber energy. Beberapa bahan penyusun utama dari karbohidrat terdiri dari unsur seperti C, H dan O. Kemudian gula, pati dan selulosa adalah bahan-bahan organik yang termasuk ke dalam karbohidrat, dan sumber yang paling banyak digunakan pada kultur jaringan ini adalah sukrosa.

Sukrosa merupakan sumber karbon yang sangat dibutuhkan selama proses kultur *in vitro*. Sumber karbon yang digunakan dalam kultur jaringan adalah sukrosa, fruktosa, galaktosa dan maltosa.

c). Vitamin

Vitamin yang sering digunakan dalam media kultur jaringan ini adalah thiamin (vitamin B1), Piridoksin (vitamin B6) dan asam nikotinat (vitamin B12). Untuk vitamin tambahan yang ditambahkan ke dalam media kultur jaringan adalah glisin, vitamin berfungsi untuk proses diferensiasi sel dan proses pertumbuhan eksplan tanaman tersebut (Sandra, 2013).

d). pH

Menurut Mastuti (2017) pH media ditentukan sekitar (5,5 – 5,8) dan sangat berpengaruh pada tingkat kelarutan senyawa yang berbentuk garam dan efisiensi pemadatan agar dalam menyerap komponen senyawa oleh sel dan

jaringan tanaman. Rendahnya pH menyebabkan agar tidak memadat dengan baik, sebaliknya jika pH tinggi agar mempunyai tingkat kepadatan yang tinggi.

e). Bahan Pekat

Agar adalah bahan pekat yang digunakan dalam kultur jaringan. Keuntungan dalam penggunaan agar yaitu membeku pada temperatur suhu 45°C dan mencair pada temperatur suhu 100°C. Kandungan yang terdapat di dalam agar yaitu Ca, Mg, K dan Na serta Karbohidrat, asam amino dan vitamin (Marsuti, 2017).

f). Air

Air yang digunakan dalam kultur jaringan adalah air hasil dari destilasi (penyulingan). Air hasil destilasi tersebut memiliki cairan murni dari cairan yang sebelumnya yang telah tercemari oleh zat terlarut. Biasanya jenis air yang digunakan adalah aquades yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni dalam laboratorium (Adani, *et al.*, 2017).

2.2.3 Syarat Tumbuh

Kondisi Lingkungan merupakan salah satu faktor terpenting dalam menentukan berhasilnya kultur *in vitro*, oleh sebab itu sangat penting untuk diperhatikan. Ruang inkubasi adalah hasil interaksi dari bahan tanam, botol kultur, dan lingkungan ruang eksternal. Beberapa faktor lingkungan yang memberikan pengaruh terhadap respon pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro* adalah kelembaban, suhu, cahaya, karbondioksida (CO₂), Oksigen (O₂) dan etilen (C₂H₄) (Zulkarnain, 2006).

1. Suhu

Suhu adalah salah satu faktor yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro*. Menurut Ajijah *et al.*, (2010) suhu akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara *in vitro* maupun *in vivo*. Menurut Kotak *et al.*,(2007), cekaman terhadap respon pertumbuhan tanaman suhu tinggi merupakan fenomena yang sangat kompleks. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman dipengaruhi oleh suhu lebih dari faktor lingkungan lainnya pada saat air bukan merupakan faktor pembatas (Thuzar *et al.*, 2010). Namun diantara keduanya, peranan suhu *in vitro* lebih bersifat peka

dibandingkan *in vivo*, hal ini dikarenakan pada kultur *in vitro* mempunyai jaringan yang bersifat peka terhadap perkembangan sel, jaringan dan pembentuk organ tanaman (Zulkarnain, 2009).

2. Kelembaban

Kelembaban merupakan faktor penting dalam keberhasilan kultur *in vitro*. Kelembaban relatif sesuai dengan pertumbuhan tanaman kultur *in vitro* adalah 33,4% dengan wadah kultur kelembaban mencapai 70%. Menurut Zulkarnain (2009), kelembaban relatif yang dibutuhkan oleh tanaman di ruang kultur yaitu sekitar 70% dan didalam wadah kultur kelembaban yang dibutuhkan hingga mendekati 90%. Jika kelembaban ruang kultur dibawah 70% akan terjadi penguapan air pada wadah kultur yang semakin tinggi (Febriyanti, 2015).

3. Cahaya

Intensitas Cahaya menggunakan penyinaran lampu LED dengan daya 5 watt yang diletakan dibagian rak kultur, lama penyinaran harian diberikan 24 jam. Cahaya dibutuhkan untuk mendapat hasil pertumbuhan tanaman yang optimal, kemudian cahaya sebagai pemicu respon morfogenesis khususnya pada tahap awal pertumbuhan tanaman (Zulkarnain, 2009). Apabila kekurangan cahaya tanaman akan mengalami gejala etiolasi maupun vitrifikasi. Etiolasi ditandai dengan memanjangnya ruas tanaman sehingga tumbuh tinggi dan vigornya kurang. Sedangkan vitrifikasi ditandai dengan sekulensi, batang menjadi bening dan lemas karena mengandung banyak air (Sandra, 2013).

2.3.4 Kultur Jaringan Tanaman Kentang

Di Indonesia tanaman kentang merupakan salah satu komoditas yang mendapat prioritas pengembangan karena potensinya sebagai sumber karbohidrat. Kebutuhan kentang yang semakin meningkat, sampai saat ini belum dapat diimbangi dengan peningkatan produksi karena masih terbatasnya penyediaan bibit berkualitas tinggi, sebagian besar masih impor dari luar negeri. Salah satu upaya untuk mengatasi tersedianya bibit kentang yang berkualitas adalah dengan sistem kultur *in vitro* (kultur jaringan). Kemajuan yang akan diperoleh dalam meregenerasikan tanaman secara *in vitro* dari sel atau bagian tanaman akan berdampak luas bagi pertanian. Teknologi *in vitro* pada

umbi mikro kentang adalah perbanyak tanaman yang mampu menyediakan bibit seragam, bebas patogen, *true to type* dalam jumlah banyak (Yusnita, 2003).

Teknik kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyak secara tanaman secara klonal, keuntungan pengadaan bibit melalui teknik kultur jaringan yaitu diperolehnya bahan tanaman yang unggul dalam jumlah banyak dan seragam, selain itu memperoleh steril (*Mother stock*) sehingga dapat digunakan untuk bahan perbanyak tanaman selanjutnya (Lestari, 2011). Berbeda dengan teknik konvensional, kultur jaringan melakukan pemisahan komponen biologis dan tingkat pengendalian yang tinggi agar memicu proses regenerasi perkembangan jaringan.

Teknik kultur jaringan memiliki beberapa manfaat antara lain, tahan terhadap hama penyakit, seragam dan sama dengan induknya meskipun menghasilkan keragaman, tanaman bebas virus, menghasilkan bahan *bioaktif* metabolit sekunder tanpa menanam di lapangan, sehingga proses tukar menukar plasma nutfah lebih mudah (Sandra, 2013). Teknik kultur jaringan tanaman telah banyak memperoleh pengembangan untuk menghasilkan benih kentang dalam jumlah banyak, waktu yang singkat, bebas hama, penyakit dan virus, tidak bergantung pada musim, kebutuhan bahan awal yang sedikit, dan dapat digunakan sebagai sumber perbanyak (*true to type*), dan menyediakan benih relatif murah dibandingkan benih hasil impor (Syahid dan Natalini, 2007).

1.2.5 Media MS (Murashige dan Skoog)

Keberhasilan kultur jaringan dalam perbanyak tanaman mikro kentang tergantung pada media yang digunakan. Media Murashige dan Skoog (MS) merupakan media yang sangat luas pemakaiannya, karena memiliki kelebihan dari medium MS ini yaitu mengandung nitrat, kalium, dan amonium yang tinggi dan dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman (Wetter and Constable, 1991). Media dalam kultur jaringan merupakan campuran air dan hara yang mengandung garam anorganik dan menyediakan unsur-unsur hara makro (N, P, K, Ca, Mg, Na) dan unsur hara mikro (B, Co, Mn, I, Fe, Zn dan Cu). Tanaman membutuhkan unsur hara dalam proses-proses metabolisme, terutama pada masa vegetatif. Diharapkan unsur yang terserap dapat digunakan untuk mendorong

pembelahan sel dan pembentukan sel baru sehingga terdapat organ tanaman seperti batang, daun, dan akar yang lebih baik guna memperlancar proses fotosintesis (Rizqiani *et al.*, 2007).

Hasil penelitian Purwanto, *et al.*, (2007) menunjukkan bahwa media 1/2 MS dengan penambahan ekstrak kentang dan air kelapa merupakan media terbaik untuk induksi akar eksplan tanaman kentang. Media MS penuh 1/4 MS masih cukup untuk menumbuhkan eksplan tanaman kentang dilihat dari tinggi tanaman, jumlah akar dan jumlah tunas. Media MS adalah media yang sangat luas pemakaiannya karena mengandung unsur makro dan mikro lengkap sehingga dapat digunakan berbagai spesies tanaman (Mardin, 2002).

2.3 Peran Sukrosa Pada Kultur Kentang

Teknik kultur jaringan didasari oleh konsep teori *totipotensi* yang artinya setiap sel, jaringan dan organ dapat memperbanyak diri dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Sandra, 2013). Tujuan pokok dari kultur *in vitro* adalah memperbanyak tanaman dalam kurun waktu yang singkat. Di dalam kultur jaringan, planlet tidak berfotosintesis sehingga bahan fotosintesis yang digunakan berupa sukrosa.

Sukrosa digunakan pada kultur jaringan merupakan disakarida yang terdiri dari glukosa dan fruktosa. Sukrosa yang ditambahkan pada media *in vitro* akan diubah menjadi bentuk pati oleh planlet, pati yang sudah terbentuk akan di akumulasi dan akan disimpan di kloroplas dalam bentuk butiran yang tidak larut dalam air. Pati dalam kultur *in vitro* berfungsi sebagai penyedia kerangka karbon, agen osmotik dan substrat respirasi (Lakitan, 2011). Penambahan konsentrasi sukrosa yang tinggi akan membuat media kultur menjadi pekat sehingga difusi bergerak dari arah konsentrasi molekul terlarut tinggi ke konsentrasi molekul terlarut yang lebih rendah. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penggunaan sukrosa sebagai sumber karbon secara tepat untuk pembentukan tunas kentang.

Respon tanaman bergantung pada konsentrasi sukrosa yang ditambahkan ke medianya, penggunaan konsentrasi sukrosa 30 g.L⁻¹ secara umum yang sering digunakan dalam media kultur mampu meningkatkan hasil kultur tunas *Tacca*

leontopetaloides (Hapsari *et al.*, 2015), *Stevia rebaudiana* (Sinta dan Sumarno, 2011) dan kentang (Munggaran *et al.*, 2018).

Konsentrasi sukrosa sekitar 20 – 60 g.L⁻¹ merupakan konsentrasi penghasil energi, karena gula ditranspor dan disintesis secara alami oleh tanaman (Trigiano & Gray, 2004). Selain itu sukrosa berperan sebagai penghasil tekanan osmotik pada media, kontribusi sukrosa dalam meningkatkan tekanan osmotik yaitu sukrosa akan dihidrolisis ke dalam Glukosa dan Fruktosa selama di autoklaf. Pemberian sukrosa memberikan cekaman osmotik untuk membuka agar mikrospora dapat keluar dan langsung bersentuhan dengan media, sehingga akan merangsang proses pembentukan kalus (Lestari, 2011).

Tinggi rendahnya konsentrasi sukrosa akan mempengaruhi perkembangan kalus ataupun organogenesis selama kultur berlangsung (Zulkarnain, 2009). Sukrosa memberikan pengaruh 2/5 bagian dari potensial osmotik di media MS (Trigiano & Gray, 2004).

2.4 Multiplikasi Tunas Kentang

Teknik perbanyak tanaman secara *in vitro* tidak terlepas pada istilah Multiplikasi, yang merupakan salah satu metode perbanyak tanaman secara terus-menerus dengan tujuan mengetahui potensi hasil perbanyak dengan kualitas yang baik, sehingga pada teknik *in vitro* bisa diketahui batas perbanyak untuk dilakukan (Ramadani, 2018).

Tahapan multiplikasi tunas terbentuk pada tahap inisiasi tunas yang dirangsang untuk membentuk tunas-tunas baru, seperti tunas aksilar atau tunas adventif. Menurut Purwantara (2012) bahwa multiplikasi tunas terdiri dari dua tahapan, tahapan yang pertama tunas diinduksi untuk membentuk tunas baru di media induksi tunas, kemudian untuk tunas yang berhasil diinduksi disubkultur ke medium elongasi tunas, supaya tunas tersebut dapat mengalami proses pertumbuhan yang maksimal. Keberhasilan pada proses Multiplikasi tunas kentang dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang berasal dari akar memberikan pengaruh pertumbuhan dalam tanaman untuk proses perbanyak. Sedangkan faktor eksternal berasal dari lingkungan (luar tanaman) yang memberikan pengaruh pertumbuhan tanaman (Karjadi, 2008).