

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Ciri Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*, L.)

Kentang mempunyai nama yang amat beragam, diantaranya *potato* (Inggris), *ardappel* (Belanda), *kartoffel* (Jerman). Kentang di Indonesia dikenal dengan beberapa nama daerah, diantaranya *kumeli* (Jawa Barat), *kuweli* (Jawa Tengah), *gantang* (Minangkabau dan Aceh), dan *Keteki jawa* (Sumba) (Rukmana, 1997). Klasifikasikan tanaman kentang sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Familia	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Species	: <i>Solanum tuberosum</i> , L. (Tjiptosopomo, 1985).

Kentang (*Solanum tuberosum*, L.) merupakan tanaman semusim berbentuk herba. Batangnya biasanya bersegi empat, lunak, berwarna hijau dan hijau kemerah-merahan tergantung pada varietasnya (Soenarjono dan Soemartono, 1992). Batang di atas tanah tegak, awalnya silindris dan akhirnya menjadi persegi serta bercabang jika pertumbuhannya sudah lanjut (Vincent, *et al.*, 1998).

Organ-organ penting tanaman kentang adalah sebagai berikut:

1. Daun

Tanaman kentang berdaun menyirip majemuk, dengan lembar daun bertangkai memiliki ukuran, bentuk dan tekstur yang beragam (Vincent, *et al.*, 1998). Samadi (1997) menyatakan bahwa tanaman kentang letak daunnya berselang-seling mengelilingi batang tanaman. Daun berbentuk oval sampai oval agak bulat dengan ujung meruncing dan tulang-tulang daun menyirip. Warna daun hijau muda sampai hijau tua hingga kelabu.

2. Batang dan Akar

Batang di bawah permukaan tanah (rizoma), umumnya disebut stolon, menimbun dan menyimpan produk fotosintesis dalam umbi yang membengkak dekat bagian ujung. Karbohidrat ditranslokasikan sebagai sukrosa ke dalam stolon, yang pembelahan dan pembesaran selnya menyebabkan pertumbuhan umbi; sukrosa yang ditransportasikan dikonversi dan disimpan dalam bentuk butiran pati (Vincent, *et al.*, 1998).

Tanaman kentang yang dihasilkan secara aseksual dari umbi memiliki akar serabut dengan percabangan yang halus dan berada di permukaan, sedang tanaman yang tumbuh dari biji membentuk akar tunggang ramping dengan akar lateral yang banyak (Vincent, *et al.*, 1998).

3. Bunga

Tanaman kentang ada yang berbunga dan ada yang tidak, tergantung pada varietasnya. Warna bunga bervariasi yaitu kuning atau ungu. Pada tanaman kentang yang berbunga, bunga tumbuh dari ketiak daun teratas (Samadi, 1997).

Bunga yang bergerombol membentuk tandan. Bunga tidak bermadu, dan sebagian besar menyerbuk silang dengan perantara angin, tetapi serangga dapat juga melakukan penyerbukan. Pada beberapa kultivar sering terjadi gugur bunga sehingga buah jarang terbentuk. Bunga yang terbuahi menghasilkan buah beri bulat kecil berwarna hijau atau keunguan yang beracun karena mengandung glikoalkaloid (Vincent, *et al.*, 1998).

4. Umbi, Buah dan biji

Secara morfologi umbi adalah batang pendek, tebal dan berdaging dengan tunas samping (aksilar), yang dikenal sebagai 'mata'. Tunas tersebut membentuk susunan spiral yang tertekan pada permukaan umbi, dengan jumlah yang makin banyak mendekati titik apikal. Sebenarnya, setiap mata adalah sekelompok tunas, dan setiap tunas mampu tumbuh menjadi batang. Setiap kultivar memiliki jumlah tunas yang berbeda. Tunas apikal adalah tunas yang pertama berkecambah, dan cenderung menghambat pertumbuhan tunas lain. Makin jauh dari bagian apikal umbi, dominansi apikal tersebut makin berkurang; suhu rendah dapat menurunkan dominansi apikal. Warna daging umbi biasanya kuning muda atau putih: ada kultivar yang berwarna kuning cerah, jingga, atau ungu. Bentuk umbi beragam; memanjang, bulat, atau pipih (Vincent, *et al.*, 1998).

Buah kentang berwarna hijau tua sampai keunguan, berbentuk bulat, mengandung 500 bakal biji, dan yang berkembang menjadi biji berkisar antara 10 – 300 biji (Soelarso, 1997). Biji pipih kecil, sebanyak beberapa butir hingga beberapa ratus biji, berbentuk oval atau jantung, berwarna kuning atau coklat kekuningan, terbungkus di dalam pulp (Vincent, *et al.*, 1998).

B. Jenis Kentang

Jenis kentang berdasarkan warna umbinya dibedakan ke dalam tiga golongan sebagai berikut.

1. kentang putih, yaitu jenis kentang yang memiliki warna putih pada daging umbi dan kulitnya. misalnya varietas *marita*, *denata*, *radosa*, *diamant*, dan lain-lain.
2. kentang kuning, yaitu jenis kentang yang memiliki warna kuning pada umbi dan kulitnya. Misalnya varietas *patrones*, *thung*, *eigenheimer*, *rapan*, *granola*, *cipanas*, *segunung*, *cosima*, dan lain-lain.
3. kentang merah yaitu jenis kentang yang memiliki warna merah pada umbi dan kulitnya misalnya, varietas *desiree*, dan *arka*.

Dari ketiga jenis kentang tersebut, yang paling digemari oleh masyarakat dan sangat laku di pasaran untuk dikonsumsi adalah kentang kuning. Kentang kuning memiliki rasa lebih enak, gurih, tidak lembek dan kadar airnya sedikit. Sementara jenis kentang putih rasanya kurang enak, agak lembek dan banyak mengandung air (Samadi, 1997).

Salah satu kentang kuning adalah kentang varietas *granola* yang mempunyai potensi produksi panen yang tinggi yaitu dapat mencapai 30 ton sampai 35 ton/ha; kulit umbi dan daging umbi berwarna kuning; umbi berbentuk oval; kualitas umbi baik; berumur genjah (2,5 – 3 bulan); umumnya tahan terhadap beberapa jenis penyakit yang sering menyerang tanaman kentang (Samadi, 1997).

C. Kultur jaringan Tumbuhan

Kultur jaringan (tissue culture) adalah suatu sistem perbanyak tanaman secara vegetatif dengan menggunakan sedikit jaringan dari suatu tanaman dan akan diperoleh bibit bebas hama dan penyakit serta sifatnya sama dengan induknya dalam jumlah yang berlipat ganda (ribuan kali bahkan jutaan kali) dalam waktu yang relatif singkat (Widiarto, 1996).

Teknik kultur jaringan ini didasarkan pada prinsip "totipotensi". "Totipotensi" adalah kemampuan suatu sel atau jaringan tumbuhan yang diambil dari bagian manapun akan dapat tumbuh menjadi tanaman yang sempurna jika diletakkan pada media yang cocok (Rahardja, 1990).

C. 1. Syarat keberhasilan kultur jaringan

Keberhasilan pembiakan vegetatif secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain : bagian organ tanaman yang dipergunakan, cara sterilisasi, komposisi dari medium tumbuh yang dipakai dan keadaan lingkungan (Herawan dan Hendrati, 1996).

a. Pemilihan Bahan Untuk Eksplan

Dalam pemilihan eksplan yang penting adalah bagian yang digunakan, varietas, umur dan letak pada cabang (Gunawan, 1995). Eksplan yang digunakan untuk pelaksanaan kultur jaringan dapat berupa batang, daun, akar, buah, biji, dan jaringan parenkim dalam organ penimbun. Beberapa akar yang berfungsi sebagai organ penyimpan seperti pada wortel dan batang pada kentang sering digunakan sebagai eksplan dalam penelitian kultur jaringan. Dalam memilih dan

mempersiapkan eksplan diusahakan seragam baik ukuran maupun bentuknya (Street, 1977).

b. Sterilisasi

Problema yang sering mengganggu dalam perkerjaan *in vitro* adalah membuat dan menjaga kondisi agar senantiasa aseptik. Media kultur jaringan yang kaya akan nutrisi tersebut, merupakan sumber makanan yang baik untuk bakteri dan jamur maka semua prosedur *in vitro* harus memuat pencegahan terhadap kontaminasi mikroba (Wetherell, 1992). Sehingga, sterilisasi merupakan hal yang sangat penting dalam kegiatan kultur jaringan ini. Sterilisasi yang utama yang harus dilakukan adalah : sterilisasi ruang, sterilisasi alat, sterilisasi eksplan, dan sterilisasi medium (Gunawan, 1995).

c. Medium Kultur

Pada keberhasilan dalam teknologi serta penggunaan metode *in vitro* terutama disebabkan pengetahuan yang lebih baik tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan.

Zat hara terdiri dari komponen yang utama dan komponen tambahan. Komponen utama meliputi garam mineral, sumber karbon (gula), vitamin dan zat pengatur tumbuh. Komponen lain seperti senyawa nitrogen organik, berbagai asam organik metabolit dan ekstrak tambahan tidak mutlak tetapi dapat menguntungkan ketahanan sel dan perbanyakannya (Gunawan,1995). Komponen utama pada media kultur jaringan tanaman dapat dikelompokkan sebagai berikut :

1. Makronutrien

Elemen penting makronutrien yang dibutuhkan tanaman yaitu N, P, K, Ca, Mg dan S (George dan Sherrington, 1984). Beberapa manfaat unsur-unsur makro, nitrogen dibutuhkan untuk menyusun asam amino, protein atau senyawa lain yang mengandung nitrogen. Unsur belerang dibutuhkan untuk ketahanan atau proteksi tubuh tumbuhan, juga terdapat pada beberapa molekul protein. Unsur fosfat dalam tubuh tumbuhan antara lain diubah menjadi persenyawaan RNA dan DNA. Unsur kalium berperan dalam metabolisme, pada hidratisasi dan keluar masuknya nutrien di dalam sel juga memacu perakaran (Indrianto, 1992).

2. Mikronutrien

Mikronutrien esensial dari logam adalah Fe, Mn, Zn, B, Cu, Co dan Mo (George dan Sherrington, 1984). Beberapa manfaat unsur-unsur mikro, besi (Fe) diberikan dalam bentuk chelat, diperlukan agar besi tetap pada jangkauan suatu range pH yang luas dalam jangka waktu yang lama sehingga dapat diserap oleh jaringan tumbuhan. Mangan merupakan elemen esensial yang berperan sebagai aktifator enzim. Cuprum merupakan bagian dari enzim (Indrianto, 1992).

3. Chelating agent

Zat ini merupakan senyawa di mana molekulnya mampu mengikat ion logam dengan ikatan kimia, membentuk cincin kompleks (chelating agent). Pengikatan besi dengan EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) dapat mencegah pengendapan besi dalam media (Salisbury dan Ross, 1995).

4. Vitamin

Substansi vitamin dibutuhkan oleh sel tanaman untuk mengkatalisis metabolisme tertentu. Murashige dan Skoog mencampur kombinasi vitamin dari mio inositol, thiamin, asam nikotinat dan piridoksin telah digunakan untuk berbagai macam kultur jaringan untuk meningkatkan pertumbuhan sel (Katuuk, 1989).

5. Asam amino

Asam amino menyediakan sumber N bagi sel tumbuhan (Thom *et al.*, 1981) dalam George dan Sherrington (1984). Asam amino yang diberikan dalam media kultur *in vitro* antara lain glutamin, adenin dan asparagin. Asam amino digunakan untuk merangsang pertumbuhan sel lebih lanjut, terutama dalam kultur sel dan protoplas (Tones, 1957 dalam Poedjirahayu, 1995).

6. Gula

Sukrosa merupakan sumber energi yang paling sesuai untuk kultur kalus. Untuk kultur kalus, 2% - 4% sukrosa w/v biasanya optimal (George dan Sherrington, 1984).

7. Buffer

Buffer digunakan untuk menjaga kestabilan pH. Apabila pH terlalu rendah dilakukan penambahan NaOH 0,1 N dan apabila pH terlalu tinggi maka ditambah HCl 0,1 N. pH terlalu tinggi dapat menghentikan pertumbuhan secara *in vitro* dan jika pH terlalu rendah dapat menyebabkan IAA menjadi kurang stabil (Pierik, 1987).

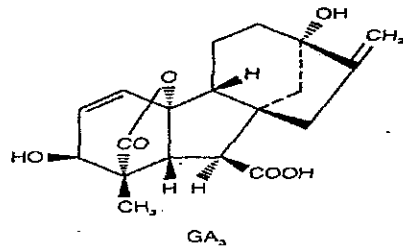
8. Agar

Agar digunakan untuk membuat media padat atau semi padat pada kultur jaringan tumbuhan. Konsentrasi agar yang digunakan berkisar antara 0,6 - 1% w/v. Konsentrasi agar yang terlalu tinggi dapat mengurangi difusi persenyawaan dari dan ke arah eksplan sehingga pengambilan hara dan zat tambah berkurang (Debergh, 1982 dalam Gunawan 1997). Menurut Pierik (1987) dan Katuuk (1989) konsentrasi agar yang terlalu tinggi membuat daya ikat agar terhadap air makin kuat karena agar mempunyai sifat mengikat air. Sehingga dapat menyulitkan eksplan menyerap unsur hara yang terlarut dalam medium.

9. Zat Pengatur Tumbuh

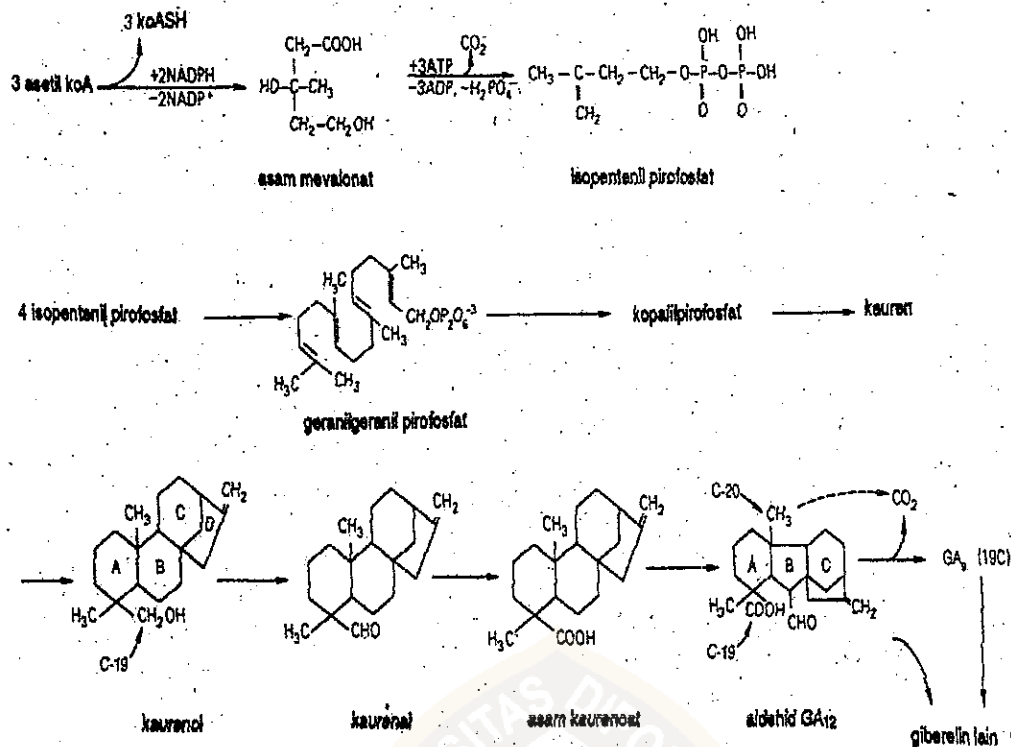
Zat pengatur tumbuh adalah suatu senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah, dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan tanaman (Gunawan, 1997). Di dalam tubuh tumbuhan terdapat hormon tumbuh yaitu senyawa organik yang jumlahnya hanya sedikit, maka diperlukan hormon dari luar. Zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah auksin, sitokinin, dan juga giberelin (Abidin, 1990). Asam giberelin terdapat pada berbagai organ dan jaringan tumbuhan seperti akar, tunas, mata tunas, bunga, bintil akar, buah dan jaringan halus. Jenis asam giberelin sampai tahun 1980 telah ditemukan 84 jenis yang terdapat pada berbagai cendawan dan tumbuhan. Semua giberelin bersifat asam maka dinamakan asam giberelin yang dinomori untuk membedakan-bedakannya. Semua giberelin mempunyai memiliki 19 atau 20

atom karbon. Dari jenis-jenis giberelin yang tersedia, jenis GA₃ merupakan jenis yang sangat aktif selama pertumbuhan dan sudah lama tersedia di pasaran, dan GA₃ juga merupakan jenis giberelin yang lambat dimetabolisme melalui proses hidroksilasi, menghasilkan produk yang tidak aktif (Salisbury dan Ross, 1995).



Gambar 01. Rumus Bangun GA₃ (Salisbury dan Ross, 1995).

Giberelin adalah senyawa isoprenoid, khususnya berupa diterpen yang disintesis dari dua unit asetil koenzim A melalui lintasan asam mevalonat. *Geranylgeranyl pirofosfat*, yaitu senyawa 20 karbon, bertindak sebagai donor bagi semua atom karbon pada giberelin. Senyawa ini diubah menjadi *kopalinprofosfat* yang memiliki sistem dua cincin, dan senyawa terakhir tersebut kemudian diubah menjadi *kauren* yang mempunyai sistem empat cincin. Perubahan *kauren* lebih lanjut di sepanjang lintasan meliputi oksidasi yang terjadi di retikulum endoplasma, menghasilkan senyawa antara *kaurenol* (jenis alkohol), dan *asam kaurenolat*, setiap senyawa teroksidasi lebih lanjut.



Gambar 02. Beberapa reaksi dalam biosintesa Giberelin. Berbagai langkah yang ditunjukkan dengan panah tunggal sebenarnya mengikut-sertakan lebih dari satu reaksi yang dikatalisis enzim, khususnya reaksi sebelum terbentuk kauren (Salisbury dan Ross, 1995).

Secara umum asam giberelin mempunyai fungsi antara lain; menyebabkan tanaman menghasilkan bunga sebelum waktunya, buah tanpa biji, menyebabkan tanaman kerdil menjadi raksasa dalam waktu yang singkat, menyebabkan biji dan tunas lekas tumbuh, dan lain-lain (Rahardja, 1988).

Menurut Wattimena (1987), pengaruh fisiologis dari giberelin yaitu dalam pertambahan panjang batang tanaman, terutama di dalam perpanjangan ruas tanaman yang disebabkan oleh bertambah besar dan jumlah sel-sel pada ruas-ruas tersebut. Selain perpanjangan batang, giberelin juga memperbesar

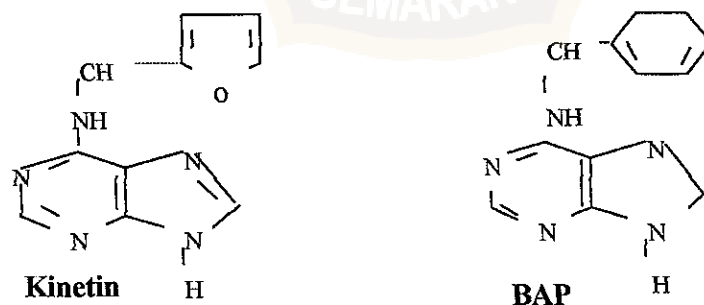
luas daun dari berbagai jenis tanaman, jika disemprot dengan giberelin. Demikian juga terhadap besar bunga dan buah bertambah jika diberi giberelin.

Dalam teknik kultur jaringan GA_3 dapat ditambahkan dalam medium karena dengan penambahan GA_3 akan menginduksi eksplan untuk mensintesis auksin endogen. Konsentrasi GA_3 yang digunakan dalam teknik kultur *in vitro* pada tanaman dikotil yaitu antara 1 – 8 mg/l, pemberian GA_3 pada *Solanum xanthocarpum* sebanyak 2 mg/l menyebabkan pertumbuhan kalus menjadi terhambat (George dan Sherrington, 1984). Menurut Oberbeek (1966) dalam Abidin (1990), penggunaan giberelin, akan mendukung pembentukan enzim proteolitik yang akan membebaskan triptofan sebagai asal bentuk dari auksin. Hal ini berarti bahwa kehadiran giberelin tersebut akan meningkatkan kandungan auksin endogen (IAA). Wattimena (1987) menyatakan bahwa IAA berpengaruh terhadap pergeseran dinding sel, dengan melepaskan ikatan-ikatan hidrogen yang menghubungkan siloglukan dan mikrofibril selulosa. Ikatan-ikatan hidrogen ini, dapat dipengaruhi oleh suhu tapi terutama oleh ion H^+ (proton). Sifat IAA sendiri tidak terlalu asam untuk dapat menaikkan konsentrasi ion H^+ pada dinding sel. Untuk perpanjangan suatu jaringan diperlukan pH sekitar 4,0 maka diperlukan sumber ion H^+ yang diperoleh melalui pergerakan anion dan kation (termasuk H^+) melalui plasma membran oleh suatu proses yang dikenal dengan “pompa ion”. Salah satu proses pompa ion adalah pengangkutan ion H melalui membran plasma menyebabkan kenaikan ion-ion H pada dinding sel dan pada sitoplasma tekanan turgornya turun. Peranan IAA adalah mengaktifkan pompa ion ini pada plasma

membran yang menyebabkan tertimbunnya ion-ion H pada dinding sel dan pelonggaran dari dinding sel. IAA juga berperan dalam merubah aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam sintesa komponen dinding sel (polisakarida, glikoprotein dan lain-lain).

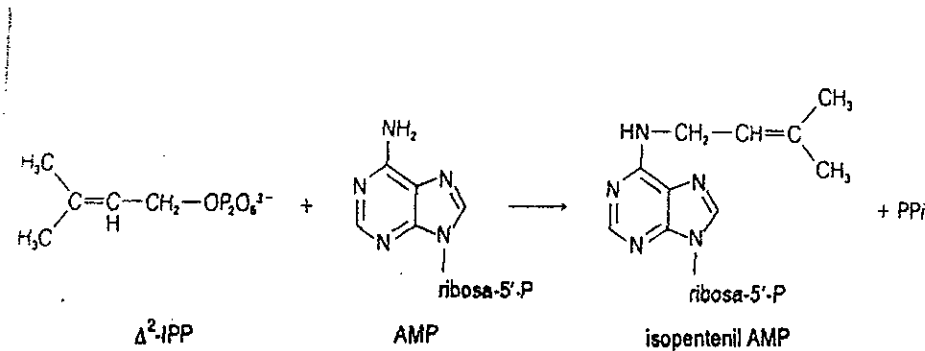
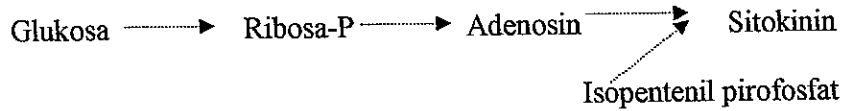
Asam giberelin juga berperan dalam proses pembuatan protein yaitu dalam tahap transkripsi dan translasi. Tahap transkripsi, GA_3 berperan dalam pembuatan mRNA yang mengandung pesan (informasi) untuk α -amilase dari pita DNA atau di dalam pembuatan rRNA. Pada tahap translasi, GA_3 berpartisipasi dalam interaksi mRNA, rRNA, dan tRNA untuk membuat protein (Wattimena, 1987).

Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur jaringan tumbuhan adalah sitokinin. Sitokinin dibagi menjadi dua macam, yaitu sitokinin alami (misal; zeatin) dan sintetik Bensil Adenin (BA), Bensil Amino Purin (BAP), dan kinetin. Semua sitokinin memiliki rantai samping yang kaya akan karbon dan hidrogen, menempel pada nitrogen yang menonjol dari puncak cincin purin.



Gambar 03. Rumus bangun Sitokinin (Salisbury dan Ross, 1995)

Biosintesis sitokinin dalam tumbuhan dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 04. Pembentukan Isopentenil AMP, Prazat bagi Isopentenil Adenin (Wattimena, 1987).

Pirofosfat (PPI) dilepaskan dari gugus isopentenil dan kemudian gugus ini bergabung dengan nitrogen amino yang melekat pada karbon 6 dari cincin purin. Isopentenil yang terbentuk dalam reaksi ini kemudian dapat diubah menjadi isopentenil adenosin melalui hidrolisis oleh enzim fosfatase, yang melepaskan gugus fosfat; selanjutnya, isopentenil adenosin dapat berubah menjadi isopentenil adenin dengan melepaskan gugus ribosa melalui hidrolisis. Lalu, isopentenil adenin dioksidasi menjadi zeatin dengan mengganti satu hidrogen gugus metilnya pada cincin samping isopentenil dengan $-\text{OH}$ (Salisbury dan Ross, 1995).

Percobaan kultur jaringan, secara umum digunakan BAP atau kinetin yang jauh lebih murah dan tahan terhadap degradasi oleh pemanasan (Gunawan, 1991). Menurut Wetter dan Constabel (1991), sitokinin seperti kinetin atau Benzil Adenin ($0,1\text{-}10 \mu\text{M}$) kadang dibutuhkan bersama $2,4 \text{ D}$

atau NAA untuk mendapatkan pembentukan kalus yang baik. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa kinetin yang digunakan untuk menumbuhkan kalus dari endosperm tanaman dikotil berkisar antara 0,5 – 5 mg/l. Beberapa kenyataan menunjukkan bahwa sitokinin berperan dalam metabolisme asam nukleat dan sintesa protein. Sitokinin mempunyai cincin adenin, suatu basa purin yang terdapat pada DNA dan RNA. Sitokinin juga telah diekstrak dari jaringan-jaringan meristematik tanaman, daerah-daerah dimana terjadi pembentukan asam-asam nukleat dan protein dengan sangat aktif. Sitokinin juga mencegah terjadi penguningan daun yang umumnya timbul pada proses penuaan (senescence). Warna kuning ini disebabkan oleh perombakan butir-butir khlorofil, tetapi sitokinin mengaktifkan beberapa proses metabolisme pada tempat pemberian sitokinin itu dan menghambat perombakan dari butir-butir khlorofil dan protein. Adanya perubahan metabolisme pada daerah-daerah tempat pemberian sitokinin maka terjadi juga penimbunan asam-asam amino, fosfat, gula dan bahan-bahan lain ke daerah tersebut. Penimbunan molekul-molekul tersebut ada hubungannya dengan metabolisme asam-asam nukleat dan sintesa protein (Wattimena, 1987). Fosket dkk (1981) dalam Salisbury dan Ross (1995) menyimpulkan bahwa sitokinin mendorong pembelahan sel dalam kultur jaringan dengan cara meningkatkan peralihan dari fase G2 ke fase mitosis. Hal tersebut terjadi karena sitokinin menaikkan laju sintesis protein. Beberapa protein itu berupa protein struktural atau enzim yang dibutuhkan untuk mitosis.

d. Keadaan lingkungan kultur

Bagi tanaman yang dikultur secara *in vitro*, faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan kultur diantaranya adalah, cahaya, suhu, pH, serta kelembaban (Katuuk, 1989).

1. Intensitas cahaya

Intensitas cahaya yang rendah dapat mempertinggi embriogenesis dan organogenesis. Cahaya ultra violet dapat mendorong pertumbuhan dan pembentukan tunas dari kalus tembakau pada intensitas cahaya yang rendah. Sebaliknya, pada intensitas cahaya tinggi proses ini terhambat (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Menurut Wetherell (1988), intensitas cahaya yang digunakan dalam kultur jaringan adalah 1000 lux.

2. Suhu

Suhu yang diperlukan dalam kultur jaringan sekitar 25 - 30 ° C. Namun untuk pertumbuhan yang optimum untuk setiap spesies berbeda-beda kisaran suhunya (Katuuk, 1989). Siklus pergantian suhu pada periode terang dan periode gelap dapat mempengaruhi kultur jaringan (Wetherell, 1988). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), suhu optimum untuk pertumbuhan kalus endosperm adalah sekitar 25 °C.

3. Kelembaban

Kelembaban relatif, suatu wadah kultur yang tertutup rapat akan jenuh oleh uap air. Oleh karena itu, antara kultur dan ruangan dibutuhkan terjadinya pertukaran gas, maka penutup kultur dibuat tidak kedap udara. Bila kelembaban ruangan rendah, penguapan air dari media kultur akan terlalu

besar. Dalam hal ini kelembaban ruangan perlu dinaikkan. Tetapi harus diingat, bahwa kelembaban ruangan kultur yang tinggi akan menyebabkan terjadinya pertumbuhan mikroba diluar wadah kultur atau alat-alat. Bila hal ini terjadi, spora-spora akan beterbangan dalam ruangan kultur, sehingga akan menaikkan derajat kontaminasi.

Penguapan yang berlebihan dapat dihindari dengan memasukkan rak-rak atau tempat meletakkan wadah kultur ke dalam kantong-kantong plastik besar. Kantong-kantong plastik ini juga akan mengurangi terjadinya kontaminasi (Wetherel, 1988). Sedangkan kelembaban relatif (rH) ruang kultur yaitu 70 % (Katuuk, 1989).

4. pH

pH medium harus diatur terlebih dahulu sebelum inokulasi. Pada umumnya, kebanyakan bagian tanaman tumbuh dengan baik pada media yang mengandung buffer lemah pada pH antara 5 - 6. Sel-sel tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* umumnya akan bergeser naik bila nutrien habis terpakai. Senyawa fosfat dalam media kultur mempunyai peran yang penting dalam menstabilkan pH (Wetherell, 1988). Manfaat pH dalam media untuk menjaga kestabilan membran sel, mengatur garam-garam anorganik agar tetap dalam bentuk terlarut, membantu penyerapan unsur hara dan mengatur sifat gel agar (Katuuk, 1989).

D. Pertumbuhan

Pertumbuhan secara umum merupakan penambahan ukuran dan volume yang irreversible diikuti oleh biosintesis senyawa-senyawa protoplasmik baru (Salisbury dan Ross, 1995). Pertumbuhan pada organisme multiseluler dapat dibagi menjadi tiga kategori :

1. Pembelahan sel : peningkatan jumlah sel yang dihasilkan oleh pembelahan mitosis atau meiosis.
2. Peningkatan volume sel : peningkatan ukuran sel yang bersifat *irreversible* yang merupakan akibat adanya pengambilan air atau sintesis materi-materi yang diperlukan untuk kebutuhan hidup.
3. Diferensiasi sel : proses bertambahnya matriks ekstraseluler dan proses menuju spesifikasi sel. Diferensiasi sel tergantung pada perbedaan di dalam sitoplasma dan lingkungan tempat terdapat sel. Perbedaan ini menyebabkan jalur differensiasi berbeda-beda.

Semua kategori pertumbuhan tersebut melibatkan aktivitas biokimia. Protein atau enzim-enzim yang disintesis di dalam sel merupakan hasil ekspresi melalui tahapan proses transkripsi dan translasi yang semuanya telah dikode di dalam DNA. Enzim-enzim ini mengontrol aktivitas sel. Perubahan yang terjadi pada tingkat sel akan menyebabkan perubahan dalam bentuk dan ukuran, baik dalam bentuk organ individu maupun secara keseluruhan. Proses ini dikenal dengan nama organogenesis (Green, *et al.*, 1994).

Menurut Sitompul dan Guritno (1995), pertumbuhan merupakan proses dalam kehidupan tanaman yang mengakibatkan perubahan ukuran tanaman

semakin besar dan juga yang menentukan hasil tanaman. Pertambahan ukuran tubuh tanaman secara keseluruhan merupakan hasil dari pertambahan ukuran bagian-bagian (organ-organ) tanaman akibat pertambahan jaringan sel yang dihasilkan oleh pertambahan ukuran sel. Jumlah sel yang semakin banyak atau volume sel yang semakin besar membutuhkan semakin banyak bahan-bahan sel yang disintesis menggunakan substrat yang sesuai. Pertumbuhan berfungsi sebagai proses yang mengolah masukan substrat tersebut menghasilkan produk pertumbuhan. Pada tingkat sel, proses pertumbuhan menggunakan substrat senyawa-senyawa organik seperti asam amino dan karbohidrat untuk menghasilkan bahan-bahan sel.

Soeryowinoto (1996) menjelaskan bahwa menginduksi terbentuknya kalus dalam budidaya *in vitro* merupakan salah satu langkah penting. Pembentukan kalus biasanya terjadi pada jaringan dengan sel-sel yang sedang aktif membelah, yang kandungan auksin endogennya cukup. Selain itu terbentuknya kalus juga dipengaruhi oleh ketersediaan unsur-unsur hara yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Kalus terbentuk karena adanya luka pada bagian perifer dari eksplan sebagai respon terhadap zat pengatur tumbuh, baik zat pengatur endogen maupun eksogen. Adanya rangsangan perlukaan, maka sel akan berubah dari bentuk non aktif menjadi aktif membelah. Kalus merupakan massa sel yang terbentuk tidak teratur, sebagai akibat dari proliferasi sel-sel eksplan (George dan Sherrington, 1984).

Analisis dari pertumbuhan kalus, biasanya berdasarkan pada berat basah dan berat kering kalus atau jumlah sel. Pengukuran berat basah kalus merupakan cara yang sederhana, mudah, cepat dan tidak merusak kalus (Street, 1977).

Pertumbuhan dapat diukur dengan beberapa parameter, diantaranya yaitu penambahan volume dan penambahan berat. Pertambahan volume biasanya diukur dengan pertambahan panjang, tinggi, lebar, garis tengah, atau luas. Pertambahan berat diukur dengan memanen seluruh bagian tanaman atau bagian tanaman tertentu yang diinginkan, kemudian ditimbang secepatnya sebelum terjadi penguapan dari tanaman tersebut. Penimbangan ini akan menghasilkan berat basah. Untuk mendapatkan berat kering dengan cara mengeringkan tanaman segar pada suhu 70 - 80⁰ C dalam oven sampai diperoleh berat yang konstan (Salisbury dan Ross, 1995).

E. Hipotesis

Pemberian zat pengatur tumbuh GA₃ dan kinetin pada konsentrasi tertentu dapat meningkatkan metabolisme yang dapat menunjang pertumbuhan kalus kentang secara *in vitro*. Pada penelitian ini diambil hipotesis bahwa ada interaksi antara GA₃ dan kinetin pada konsentrasi tertentu yang mempengaruhi pertumbuhan kalus umbi kentang (*Solanum tuberosum*, L.) secara *in vitro*.