

ISOLASI DAN REGENERASI PROTOPLAS DARI MESOFIL DAUN
KENTANG (*Solanum tuberosum* L) DIHAPLOID¹⁾

(*Isolation and Regeneration of Dihaploid Potato (Solanum tuberosum L.)
Mesophyl Protoplast*)

Agus Purwito, G.A. Wattimena, Antonius Suwanto,
Inez H.S. Loeddin Suharsono, Hajrial Aswidinnoor

ABSTRACT

The isolation and regeneratin of potato (Solanum tuberosum L) protoplasts have been carried out. Mesophyl cell protoplast were isolated from two dihaploid cultivars of potato BF 15 and SVP 10 leaves used four different enzymes solution. Protoplast were cultured onto four different cultures media to increase plating efficiency. Calli were then transferred to ten different regeneration media. Using cellulase RS 0.5 % and pectolyase Y-23 0.05 % protoplast yield of both cultivars were improved. Medium VKM supplemented with 0.2 mg/l 2, 4-D, 1.0 mg/l NAA and 0.5 mg/l zeatin or 2iP were increase recovery of colonies from protoplast up to 5.9 %. Regeneration medium containing zeatin did always produce more shoots than those of 2iP. Genotype-dependant regeneration frequencies have also been showed in this experiments.

RINGKASAN

Percobaan dilaksanakan untuk mengisolasi dan meregenerasikan protoplas tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.). Protoplas yang berasal dari sel mesofil daun tanaman kentang kultivar BF 15 dan SVP10 diisolasi dengan menggunakan empat larutan enzim yang berbeda. Protoplas kemudian dikulturkan kedalam empat jenis media untuk meningkatkan efisiensi penaburan. Kultur yang terbentuk kemudian ditransfer dalam 10 jenis media regenerasi. Penggunaan enzim cellulase RS 0.5 % dan pectolyase Y-23 0.05 % dapat meningkatkan produksi protoplas pada kedua kultivar. Medium VKM yang ditambah dengan 0.2 mg/l 2,4-D, 1.0 mg/l NAA dan 0.5 mg/l zeatin atau 0.5 mg/l 2ip dapat meningkatkan existensi penaburan sampai 5.9 %. Medium regenerasi yang mengandung zeatin selalu menghasilkan tunas yang lebih banyak dibandingkan 2ip. Pada percobaan ini terlihat bahwa kultivar sangat berpengaruh dalam keberhasilan regenerasi.

PENDAHULUAN

Kentang (*Solanum tuberosum* L) selain sebagai sayuran juga merupakan tanaman pangan penting di dunia yang menghasilkan berat kering tertinggi per hektar. Tanaman kentang juga dikenal sebagai tanaman yang mudah terserang hama, penyakit dan cekaman lingkungan (Bajaj dan Sapory, 1986). Tanaman kentang tercatat

mempunyai 266 jenis hama dan penyakit yang terdiri dari 23 jenis virus, 38 cendawan, 6 bakteri, 2 mikoplasma, 68 nematoda dan 128 insekta (Mandoza, 1987). Hal ini menjadikan tanaman kentang sering menjadi tanaman model dalam manipulasi genetik secara *in vitro*.

Penggunaan protoplas sebagai wahana dalam manipulasi genetik mensyaratkan efisiensi dalam isolasi protoplas dan regenerasinya menjadi tanaman (Bajaj, 1977; Thomas, 1981; Takabe *et al.*, 1971), apalagi keberhasilan isolasi dan

¹⁾ Bagian dari Disertasi S3 dari penulis pertama