

Uji Ketahanan *in Vitro* Klon-klon Kentang Hasil Persilangan Kentang Kultivar Atlantic dan Granola terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) dan Busuk Lunak (*Erwinia carotovora*)

***In Vitro* Test of Potato Clones Derived from Crossing between cv. Atlantic and Granola for Their Tolerance to Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum*) and Soft Rot (*Erwinia carotovora*)**

Awang Maharijaya^{1*}, Muhammad Mahmud² dan Agus Purwito¹

Diterima 3 Maret 2008/Disetujui 24 Juli 2008

ABSTRACT

Several bacterial pathogens can cause diseases of potato. *Ralstonia solanacearum* and *Erwinia carotovora* are those of the world's most important diseases of potato, especially in tropical climates. This experiment was aimed to obtain putative potato cultivars having good tolerance to bacterial wilt caused by *R. solanacearum* and soft rot caused by *E. carotovora*. Two adopted potato cultivars in Indonesia, cv. Atlantic ($2n=4X=48$) and cv. Granola ($2n=4X=48$), were used as parents. The experiment was arranged in a Randomized Complete Design. Test for tolerance was performed *in vitro* using BF15 as susceptible control and *Solanum stenotomum* as tolerance control. The result showed that there was high diversity of tolerance level to both *R. solanacearum* and *E. carotovora*. Some clones showed good tolerance level as compared to cv. Atlantic and cv. Granola, but none showed that as compared to *S. stenotomum*.

Key words: *in vitro* testing, potato, *R. solanacearum*, *E. carotovora*

PENDAHULUAN

Pengembangan kentang di Indonesia saat ini dihadapkan pada beberapa kendala. Kendala utama dalam pengembangan kentang diantaranya penyediaan bibit bermutu dalam jumlah yang cukup dan tepat kultivar (Wattimena, 1992), iklim yang kurang mendukung, serta gangguan hama dan penyakit (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Iklim di wilayah tropis sangat mendukung berkembangnya penyakit (Chozin, 2006).

Beberapa bakteri dapat menyebabkan penyakit pada kentang (Stead, 1999). Beberapa penyakit kentang yang disebabkan oleh bakteri adalah layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) dan busuk lunak (*Erwinia carotovora*). Layu bakteri ditemukan secara luas, banyak ditemukan pada wilayah tropis dan subtropis, namun juga ditemukan pada daerah temperatur dingin (Hayward *et al.*, 1998). Layu bakteri bahkan dapat menurunkan produksi kentang sampai 80% (Wattimena, 2000). Penyakit busuk lunak (*soft root*) pada umbi menghambat pertumbuhan tanaman kentang yang penting di berbagai belahan dunia. Daerah beriklim hangat biasanya didominasi oleh bakteri *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* sedangkan di daerah dingin (sejuk) oleh *Erwinia carotovora* pv. *Atroseptica*. *E.*

carotovora merupakan bakteri tular tanah yang dapat menyerang apa saja dari bagian tanaman dan dapat menyebabkan terjadinya busuk lunak, nekrosis dan kelayuan.

Salah satu cara mengatasi kerugian kentang akibat serangan *Erwinia carotovora* dan *Ralstonia solanacearum* adalah dengan merakit kultivar yang tahan terhadap penyakit tersebut. Sumber sifat ketahanan dapat diperoleh dari beberapa species liar dan kerabat dekat. Beberapa species liar dan kerabat dekat yang memiliki sifat ketahanan atau toleransi tinggi terhadap penyakit bakteri telah digunakan sebagai sumber gen ketahanan seperti introgresi gen tahan dari *S. phureja* (Fock *et al.*, 2000) dan *S. stenotomum* ke *S. tuberosum* (Fock *et al.*, 2001). Namun demikian, introgresi gen ketahanan menggunakan kultivar liar sulit dilakukan dengan metode persilangan konvensional karena adanya ketidakserasian seksual (*sexual incompatibility*), khususnya perbedaan tingkat ploidi atau perbedaan *endosperm balance number* (French *et al.*, 1998). Tanaman kentang komersial pada umumnya bersifat tetraploid ($2n=4x=48$) sedangkan species liar sebagai sumber sifat ketahanan adalah diploid ($2n=2x=24$) sehingga persilangan untuk mendapatkan sifat ketahanan perlu dilakukan pada tingkat diploid atau dihaploid. Teknik untuk menurunkan tingkat ploidi

¹ Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680 Telp (0251) 8629353. email: maharijaya@yahoo.com

(* Penulis untuk korespondensi)

² Peneliti di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

dapat dilakukan melalui pembentukan tanaman haploid, sedangkan untuk meningkatkan dapat digunakan teknik penggandaan kromosom. Teknik semacam ini memerlukan keterampilan, tenaga dan biaya yang banyak. Oleh sebab itu, pada perkembangannya, perakitan kultivar baru kentang yang tahan penyakit dilakukan melalui hibridisasi somatik, fusi protoplas (Fock *et al.*, 2000; 2001) atau pemanfaatan teknik-teknik rekayasa genetika. Namun demikian, teknik persilangan konvensional lebih diterima oleh sebagian masyarakat dan pemerintah terutama untuk pelepasan varietas.

Agar dapat dilakukan persilangan konvensional, sumber sifat ketahanan diharapkan dapat diperoleh dari kultivar kentang tetraploid. Kultivar Granola ($2n=4x=48$) dikenal memiliki sifat agak tahan hawar daun dan penyakit layu bakteri. Selain itu kultivar Granola memiliki keunggulan lain seperti umur panen pendek, hasil tinggi, bentuk umbi yang baik dan tahan penyakit virus PVX dan PVY. Kelemahan kultivar Granola adalah kadar air umbi yang tinggi dan tidak cocok untuk kentang olahan. Kultivar yang memiliki tingkat produksi yang baik adalah Atlantik. Bersama kultivar Granola, kultivar Atlantik sudah adopsi oleh para petani di Indonesia. Dengan demikian persilangan antara kultivar Atlantik dan Granola berpotensi untuk dikembangkan dalam program pemuliaan. Kedua kultivar tersebut adalah tetraploid sehingga persilangan antara keduanya diharapkan kompatibel dan dapat menghasilkan benih. Namun secara teoritis persilangan antara tetraploid akan menghasilkan keragaman genetik yang tinggi untuk banyak karakter (Uijtewall, 1987) sehingga diperlukan populasi yang lebih besar jika dibandingkan persilangan diploid. Sebagai akibatnya kegiatan seleksi awal (*screening*) penting untuk dilakukan untuk mengurangi jumlah klon yang harus diseleksi di lapang.

Wattimena *et al.* (2001) telah memperkenalkan metode seleksi *in vitro* kentang terhadap kendala biotik dan abiotik yang diberi nama SSICD (*Single Seed in vitro clonal descent*). Menurut Samanhudi (2001) teknik inokulasi bakteri *Ralstonia solanacearum* dengan cara gunting pucuk memiliki korelasi yang sangat nyata dengan pengujian di rumah kaca. Teknik *in vitro* telah dilakukan oleh Asnawati (2002) untuk skrining terhadap klon-klon calon tetua yang tahan layu bakteri dan busuk lunak. Metode pengujian ketahanan terhadap penyakit bakteri secara *in vitro* dapat dilakukan dengan dua cara yaitu metode siram atau gunting. Menurut Delfiani (2003) metode gunting memiliki kisaran waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan periode inkubasi pada perlakuan metode siram. Beberapa keuntungan dari pengujian *in vitro* adalah (Niks dan Lindhout, 2006): 1) banyak individu yang dapat diuji dalam tempat yang lebih kecil, 2) seleksi dilakukan dibawah kondisi yang terkontrol dan terstandar. Agen penyeleksi dapat diberikan secara lebih seragam. Seleksi *in vitro*

diharapkan mampu menjadi alternatif tahapan awal yang baik dalam usaha mendapatkan kultivar unggul kentang. Dari penelitian ini diharapkan akan diketahui tingkat ketahanan klon-klon kentang hasil persilangan cv. Atlantik dan cv. Granola terhadap busuk lunak (*E. carotovora*) dan layu bakteri (*R. solanacearum*) secara *in vitro* sehingga didapatkan calon klon-klon kentang unggul untuk pengujian di lapangan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berupa plantlet klon-klon hasil persilangan konvensional kultivar Atlantik dan Granola (cv. Atlantik X cv. Granola), kentang kultivar BF15 sebagai kontrol peka penyakit, dan *S. stenotomum* sebagai kontrol tahan. Bahan lain yang digunakan media kultur jaringan Murashige and Skoog (MS), media bakteri (SPA), serta inokulum bakteri *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* dan *Ralstonia solanacearum*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow cabinet*, otoklaf, oven, *shaker*, neraca analitik, botol kultur dan alat-alat diseksi di laboratorium kultur jaringan.

Klon ditumbuhkan pada media MS tanpa Zat Pengatur Tumbuh. Inokulasi dengan bakteri dilakukan pada tanaman *in vitro* yang berumur 8 minggu dalam kultur. Kultur diinokulasi dari biakan murni yang diperoleh dari hasil isolasi Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB. Isolat kemudian ditumbuhkan pada media SPA selama 24 jam dan diinkubasi dengan dikocok dengan menggunakan *shaker* berkecepatan 150 rpm. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai didapatkan konsentrasi 10^9 sel/ml. Inokulasi dilakukan dengan metode gunting pucuk, yaitu gunting dicelupkan kedalam suspensi bakteri kemudian digunting pada pucuk tanaman kentang (Samanhudi, 2001). Suhu ruangan yang digunakan adalah 25°C.

Rancangan lingkungan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktor yaitu klon. Satu satuan percobaan terdiri dari satu botol yang berisi dua eksplan. Setiap ulangan terdiri dari 20 botol dengan dua eksplan. Pengamatan dilakukan terhadap peubah: 1) periode inkubasi yaitu periode waktu yang dibutuhkan oleh patogen sejak penetrasi hingga timbul infeksi yang dapat dilihat pada tanaman, 2) kejadian penyakit yaitu persentase tanaman yang mengalami layu (terserang penyakit) terhadap jumlah tanaman yang diamati, dan 3) ketahanan tanaman yaitu konversi nilai persentase kejadian penyakit dikonversikan ke derajat ketahanan menurut cara Thaveechai *et al.* (1989). Pengelompokan tingkat ketahanan dapat dimodifikasi sesuai dengan keperluan dan didasarkan pada besarnya nilai persentase

kejadian yang terjadi pada kontrol rentan dan kontrol tahan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Periode Inkubasi

Hasil pengamatan terhadap periode inkubasi atau saat timbulnya gejala layu bakteri dan busuk lunak setelah inokulasi secara *in vitro* disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis sidik ragam periode inkubasi pada

pengujian ini dapat dilihat pada Tabel Lampiran 12 dan 13. Berdasarkan analisis sidik ragam tersebut periode inkubasi antar klon berbeda nyata. Di lapangan, periode inkubasi sangat ditentukan oleh faktor lingkungan seperti cahaya, air, dan suhu (Niks dan Lindhout, 2006). Dalam pengujian ketahanan penyakit bakteri secara *in vitro* seluruh faktor tersebut relatif seragam, sehingga perbedaan periode inkubasi yang terjadi disebabkan oleh perbedaan genotipe dan setiap klon kentang yang diuji.

Tabel 1. Periode Inkubasi, kejadian penyakit dan tingkat ketahanan klon-klon kentang hasil persilangan cv. Atlantic dan cv. Granola terhadap penyakit layu bakteri dan busuk lunak

Klon	Periode inkubasi layu bakteri (hari)	Kejadian penyakit layu bakteri (%)	Tingkat ketahanan layu bakteri	Periode inkubasi busuk lunak (hari)	Kejadian penyakit busuk lunak (%)	Tingkat ketahanan busuk lunak
Atnola 1	5.60	93.33	R	4.67	88.89	R
Atnola 2	5.80	89.47	R	7.73	68.89	AR
Atnola 3	7.67	63.63	AR	8.73	50.50	AR
Atnola 4	5.07	98.00	R	4.67	60.53	AR
Atnola 5	7.27	85.71	R	10.60	37.65	AT
Atnola 8	5.47	85.29	R	8.47	50.00	AT
Atnola 9	4.40	100.00	R	4.87	100.00	R
Atnola 10	8.06	75.00	AR	7.47	42.86	AT
Atnola 12	4.13	100.00	R	5.60	66.67	AR
Atnola 22	4.33	100.00	R	6.27	48.28	AT
Atnola 24	4.40	100.00	R	4.53	100.00	R
Atnola 26	4.40	100.00	R	5.00	86.00	R
Atlantic (tetua)	4.20	100.00	R	5.33	100.00	R
Granola (tetua)	6.80	66.67	AR	8.60	36.36	AT
BF15 (pembanding rentan)	4.50	100.00	R	5.00	100.00	R
<i>S. stenotomum</i> (pembanding tahan)	8.50	19.65	T	10.16	23.00	T

Keterangan :

- R = Rentan (kejadian penyakit > 75%), AR = Agak Rentan (50% < kejadian penyakit ≤ 75%), T = Tahan (kejadian penyakit ≤ 25%), AT = Agak Tahan (25% < kejadian penyakit ≤ 50%)

Gejala layu bakteri diawali dengan menguningnya daun, diikuti dengan kelayuan tanaman dan rebahnya tanaman. Secara umum gejala layu bakteri yang ditemui tersebut sama dengan gejala di lapangan. Gejala penyakit layu bakteri adalah kelayuan, tanaman kerdil, serta daun yang menguning (Kelman, 1953; Martin dan French, 1996). Gejala busuk lunak dalam pengujian *in vitro* diawali dengan adanya bagian tanaman yang membusuk berwarna hitam, kemudian diikuti dengan berubahnya warna tanaman menjadi pucat atau pudar dan berikutnya tanaman menjadi lemah. Menurut CIP dan Balitsa (1999) jaringan yang terinfeksi *E. carotovora* menjadi basah, berwarna krem kehitam-

hitaman dan lunak, sehingga mudah dibedakan dengan jaringan yang sehat.

Periode inkubasi klon-klon hasil persilangan kultivar Atlantik dan Granola berkisar antara 4.5 hingga 8.06 hari untuk *R. solanacearum*, dan 4.5 hingga 10.6 hari untuk *E. carotovora*. Dibandingkan dengan klon rentan (BF15) dan klon tahan (*Solanum stenotomum*) ada beberapa klon hasil persilangan kultivar Atlantik dan Granola yang periode inkubasinya lebih cepat dari pembanding rentan, dan ada satu klon yang periode inkubasinya lebih lama dari pembanding tahan. Dengan menggunakan tetua yang secara alami tidak memiliki sifat ketahanan yang tinggi agak sulit diperoleh turunan yang memiliki sifat ketahanan yang tinggi.

Dari hasil pengujian ini didapatkan klon-klon dengan periode inkubasi yang mendekati pembanding tahan terhadap *R. solanacearum* yaitu Atnola 10, Atnola 3 dan Atnola 5, sedangkan untuk ketahanan terhadap *E. carotovora*, didapatkan hasil bahwa klon Atnola 5 memiliki periode inkubasi yang lebih lama dibandingkan pembanding tahan dan kedua tetua. Atnola 3 memiliki periode inkubasi yang mendekati pembanding tahan dan lebih lama dibandingkan dengan periode inkubasi kultivar Granola. Klon Atnola 26, Atnola 9, Atnola 24, Atnola 22 dan Atnola 12 memiliki periode inkubasi *R. solanacearum* yang lebih cepat dibandingkan dengan pembanding rentan, sementara klon Atnola 26, Atnola 9, Atnola 1, Atnola 4, dan Atnola 24 memiliki periode inkubasi *E. carotovora* yang lebih cepat dibandingkan dengan pembanding rentan dan tetua.

Kejadian Penyakit

Kejadian penyakit layu bakteri dan busuk lunak dari klon-klon hasil persilangan kultivar Atlantik dan Granola disampaikan pada Tabel 1. Kejadian penyakit layu bakteri pada klon-klon hasil persilangan berkisar antara 63.63% hingga 100% dan kejadian penyakit busuk lunak berkisar antara 17.05 %hingga 100%. Pembanding rentan (BF15) memiliki tingkat kejadian penyakit sebesar 100% untuk penyakit layu bakteri dan busuk lunak, sedangkan pembanding tahan memiliki kejadian penyakit sebesar 19.65% untuk layu bakteri, dan 23.00% untuk busuk lunak.

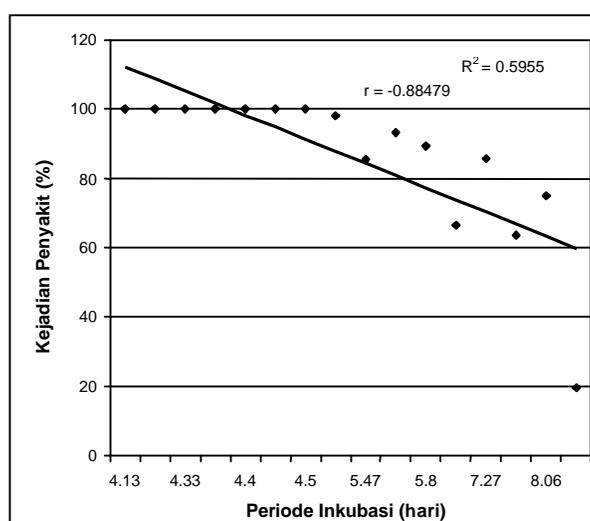
Secara umum tingkat kejadian penyakit busuk lunak lebih kecil dibandingkan layu bakteri. Hal ini dapat disebabkan karena tetua yang digunakan yaitu kultivar Granola berdasarkan pengujian *in vitro* tergolong dalam kategori agak tahan sehingga peluang untuk mendapatkan turunan yang agak tahan lebih besar.

Berdasarkan pengamatan, tidak terdapat klon-klon hasil persilangan dengan tingkat ketahanan yang lebih baik dari pembanding tahan untuk penyakit layu bakteri maupun untuk busuk lunak. Terdapat klon-klon yang memiliki tingkat ketahanan yang lebih baik dibandingkan Granola untuk layu bakteri yaitu klon Atnola 3 namun tidak ada klon yang memiliki tingkat ketahanan yang lebih baik untuk busuk lunak. Terdapat klon-klon yang memiliki kisaran tingkat ketahanan diantara Granola dan Atlantik.

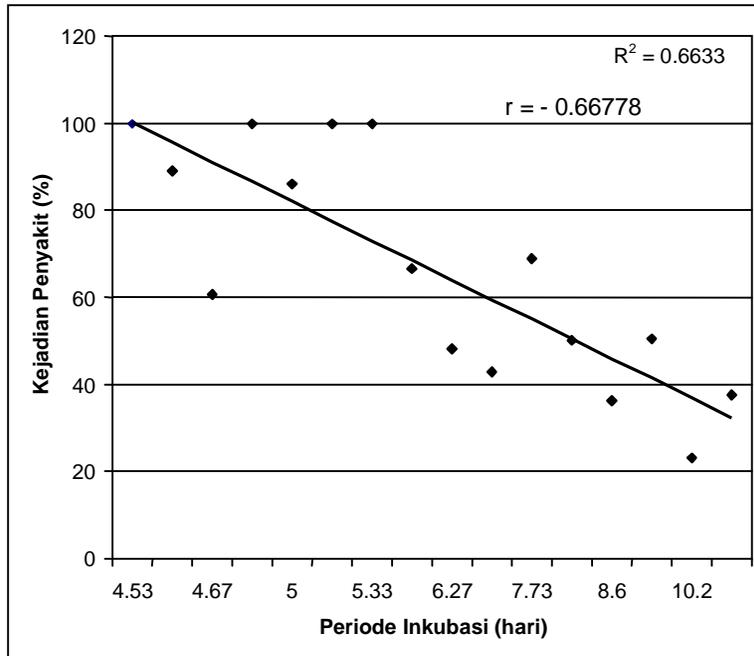
Periode inkubasi *R. solanacearum* dan kejadian penyakit layu bakteri memiliki korelasi yang nyata (Gambar 1). Hal yang serupa juga ditunjukkan oleh periode inkubasi *E. carotovora* yang berkorelasi nyata dengan kejadian penyakit busuk lunak (Gambar 2).

Tingkat Ketahanan

Tingkat ketahanan diperoleh dengan mengkonversi besarnya angka kejadian penyakit ke dalam skala tingkat ketahanan. Hasil konversi kejadian penyakit menjadi tingkat ketahanan dapat dilihat pada Tabel 1. Dari 12 klon hasil silangan kultivar Atlantik dan Granola, 10 klon rentan terhadap layu bakteri dan 2 klon agak rentan terhadap layu bakteri yaitu Atnola 3 dan Atnola 10. Untuk tingkat ketahanan busuk lunak, 4 klon bersifat rentan, 4 klon agak rentan dan 4 klon agak tahan. 4 klon yang agak tahan tersebut adalah Atnola 5, Atnola 8, Atnola 10, dan Atnola 22. Klon-klon tersebut diharapkan dapat menjadi kandidat klon-klon dengan sifat ketahanan yang lebih baik atau sama dengan Granola. Menurut Samanahudi (2001) teknik pengujian ketahanan penyakit secara *in vitro* berkorelasi sangat nyata dengan pengujian di lapangan, sehingga klon-klon yang memiliki tingkat ketahanan yang baik pada pengujian ini diharapkan akan memiliki tingkat ketahanan penyakit di lapangan yang baik pula.



Gambar 1. Korelasi antara periode inkubasi dan kejadian penyakit layu bakteri pada klon-klon kentang hasil persilangan cv. Atlantik dan Granola



Gambar 2. Korelasi antara periode inkubasi dan kejadian penyakit busuk lunak pada klon-klon kentang hasil persilangan cv. Atlantik dan Granola

KESIMPULAN

Klon-klon hasil persilangan cv. Atlantik dan Granola memiliki tingkat ketahanan terhadap *R. solanacearum* dan *E. carotovora* yang beragam. Persilangan cv. Atlantik dan cv. Granola secara konvensional dapat menghasilkan 4 klon yang memiliki tingkat ketahanan terhadap penyakit layu bakteri dan busuk lunak yang lebih baik dibandingkan tetua yaitu Atnola 3, Atnola 5, Atnola 8, dan Atnola 10.

SARAN

Untuk memperkuat hasil penelitian ini diperlukan penelitian lanjutan berupa pengujian penampilan di lapangan terhadap beberapa klon terpilih.

DAFTAR PUSTAKA

Asnawati. 2002. Skrining klon terhadap penyakit layu bakteri dan busuk lunak secara *in vitro* dan manipulasi media kultur sumber protoplas pada tanaman kentang. (Tesis). Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Chozin, M.A. 2006. Peran Ekofisiologi Tanaman dalam Pengembangan Teknologi Budidaya Pertanian. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Ilmu Agronomi. Fakultas Pertanian IPB.

CIP, Balitsa. 1999. Penyakit, Hama dan Nematoda Utama Tanaman Kentang. International Potato Center dan Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Bandung. 124 hal.

Delfiani, D. 2003. Evaluasi ketahanan 28 klon kentang (*Solanum tuberosum*) terhadap penyakit busuk lunak (*Erwinia carotovora* L.R. Jones) secara *in vitro*. (Skripsi). Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian IPB. Bogor.

Fock, I., C. Collonier, J. Luisetti, A. Purwito, V. Souvannavong, F. Vedel, A. Servaes, A. Ambroise, H. Kodja, G. Ducreux, D. Sihachakr. 2001. Use of *Solanum stenotomum* for introduction of resistance to bacterial wilt in somatic hybrids of potato. *Plant Physiol. Biochem.* 39: 899-908.

Fock, I., C. Colloner, A. Purwito, J. Luisetti, V. Souvannavong, F. Vedel, A. Servaes, A. Ambroise, H. Kodja, G. Duscreux, D. Sihachakr. 2000. Resistance to bacterial wilt in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *Solanum phureja*. *Plant Sci.* 160: 165-176.

French, E.R., R. Anguiz, P. Aley. 1998. The usefulness of potato resistance to *Ralstonia solanacearum*, for integrated control of Bacterial Wilt, *In: Prior Ph., C. Allen, J. Elphinstone.* (Eds.), *Bacterial Wilt Disease, Molecular and Ecological Aspects*, Springer-Verlag, Berlin. p. 381-385.

- Hayward, A.C., J.G. Elphinstone, D. Caffier, J. Janse, E. Stefani, E.R. French, A.J. Wright. 1998. Round table on bacterial wilt (brown rot) of potato, *In: Prior Ph., C. Allen, J. Elphinstone (Eds.), Bacterial Wilt Disease, Molecular and Ecological Aspects*, Springer-Verlag, Berlin. p. 420-430.
- Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *P. solanacearum*. A literature review and bibliography. North Carolina Agric. Expt. Sta. Tech. Bull. 99: 194,
- Martin, C., E.R. French. 1996, Bacterial Wilt of Potato. Bacterial Wilt. A Training Manual. International Potato Center (CIP). Lima. Peru.
- Niks, R.E., W.H. Lindhout. 2006. Breeding for Resistance Against Disease and Pests. Laboratorium of Plant Breeding. Wageningen University. Wageningen.
- Rubatzky, V., M. Yamaguchi. 1998. Sayuran Dunia: Prinsip, Produksi dan Gizi. Penerbit ITB. Bandung. 135 hal.
- Samanhudi. 2001. Identifikasi Ketahanan Klon Kentang Hasil Fusi Protoplas BF15 dengan *Solanum stemonum* terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*). (Tesis). Magister Program Pascasarjana IPB.
- Stead, D. 1999. Bacterial diseases of potato: relevance to in vitro potato seed production. *Potato Research* 42:449-456.
- Thaveechai, N., G.L. Hartman, W. Kositratana. 1989. Bacterial Wilt Resistance Screening. Laboratory Course on Bacterial Wilt of Tomato. Kasetsart University, Thailand.
- Uijtewaal, B.A., D.J. Huigen, J.G. Hermsen. 1987. Production of potato monohaploids ($2n=x=12$) through pollination. *Theoretical and Applied Genetics*. 73:751-758.
- Wattimena, G.A. 1992. Bioteknologi Tanaman. Depdikbud. Dirjen Dikti. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor. 185 hal.
- _____. 2000. Pengembangan propagul kentang bermutu dan kultivar kentang unggul dalam mendukung peningkatan produksi kentang di Indonesia. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Ilmu Hortikultura. Fakultas Pertanian. IPB. Bogor.