

# MORFOGENESIS PADA DAUN, TANGKAI DAUN, DAN RUAS BATANG KENTANG HITAM (*Solenostemon rotundifolius* (POIR) JK MORTON) SECARA *IN VITRO*

Aryani Leksonowati<sup>1</sup> dan Witjaksono

Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong Science Center

Jl. Raya Bogor-Jakarta Km 46, Cibinong, Bogor

Telp/Fax: (021) 8765066/(021) 8765067

<sup>1</sup>E-mail: ryani\_like@yahoo.com

## ABSTRACT

*Solenostemon rotundifolius* (Poir) JK Morton is a minor crop that produce carbohydrate and therefore can be utilized for food diversification and help food security program. This crop is not cultivated intensively but it is planted as a side crop during the dry season. Low yield could be responsible for its unattractiveness for farmer to farm it intensively. Improvement of varieties is needed but it is hindered by the low genetic variability due to lack of sexual reproduction. Manipulation at cell level and biotechnology could be an alternative for improving this crop. The availability of a reliable protocol(s) for plant regeneration is needed. This study is intended to develop reliable regeneration protocols using inocula derived from shoot culture on MS basal medium supplemented with various level of BA and NAA. The results show that inocula of leaf, petiole, and stem internodes respond classically to the varying concentration of sitokinin BA and auxin NAA. The optimum production of shoot that reflect the best shoot organogenic response were achieved by leaves inoculums grew on medium supplemented with 5 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA. This protocol serves as a protocol for further somatic cell genetic experiments to increase genetic variability of this crop.

**Key words:** *in vitro* culture, morphogenesis, organogenesis, *Solenostemon rotundifolius* (Poir) JK Morton

## PENGANTAR

Kentang hitam (*Coleus tuberosus* Benth., *Plectranthus rotundifolius*, *Solanostemon rotundifolius* (Poir) JK Morton) termasuk suku Lamiaceae merupakan salah satu sumber karbohidrat alternatif dan obat-obatan yang mempunyai potensi untuk dikembangkan. Umbi mengandung sampai 20% karbohidrat (terutama pati) dan sekitar 2% protein. Tanaman yang berasal dari Afrika Barat ini resisten terhadap penyakit karena fungsi namun sangat peka terhadap nematoda (Jansen, 1996).

Kentang hitam yang dibudidayakan masyarakat adalah varietas alami yang kemungkinan hasil domestikasi. Perbanyakan tanaman ini biasanya dilakukan secara vegetatif dengan stek batang atau umbinya. Pemuliaan tanaman ini secara konvensional tidak dapat dilakukan karena reproduksinya yang steril (Vimala & Nambisan, 2005). Mutasi dan pendekatan bioteknologi modern seperti transformasi genetik, fusi protoplas dan seleksi *in vitro*, dan variasi somaklonal dapat menjadi alternatif dalam meningkatkan keragaman genetik tanaman ini dan perbaikan genetik. Untuk tujuan itu, protokol regenerasi tanaman harus tersedia.

Teknik regenerasi kentang hitam melalui kultur jaringan telah tersedia (Hoesen, 1991). Pelipat-gandaan

tunas samping dan induksi pembentukan tunas adventif dari inokulum daun *in vitro* dapat diperoleh pada medium yang diperkaya dengan zat pengatur tumbuh BA (2 dan 4 mg/l) yang dikombinasikan dengan NAA atau tanpa NAA (Hoesen, 1991). Prematilake (2005) mendapatkan regenerasi tunas dari kalus kentang hitam, tetapi jumlah regenerasi hanya 2–4 tunas per kalus. Percobaan Hoesen (1991) dan Prematilake (2005) tidak menunjukkan respon yang menyeluruh karena level konsentrasi yang diuji hanya sedikit.

Pada paper ini dilaporkan pengaruh BA dan NAA terhadap morfogenesis inokulum kentang hitam *in vitro*. Tujuan dari penelitian yang disampaikan adalah mendapatkan kombinasi medium terbaik untuk produksi tunas secara organogenesis.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Morfogenesis pada kentang hitam dipelajari dengan perlakuan kombinasi zat pengatur tumbuh benzyl adenine (BA) pada konsentrasi 0; 0,1; 0,5; 1; 5 mg/l dan naphthalene acetic acid (NAA) pada konsentrasi 0; 0,1; 1 mg/l. Medium dasar yang dipakai adalah formulasi MS (Murashige & Skoog, 1962) yang dimodifikasi dan terdiri dari (mg/l): NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1650, KNO<sub>3</sub> 1900, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 440,

MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 370, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 170, hara mikro, vitamin (Glycine 4, Pyridoxine 1, Thiamin 0,2, Nicotinic acid 0,5, sukrosa 30.000, dan zat pengatur tumbuh BA dan NAA sesuai perlakuan. Medium dipadatkan dengan bahan pematik Gelrite 3 g/l. Medium tumbuh diatur dengan HCl atau KOH sehingga pH menjadi 5,7–5,8 sebelum ditambah Gelrite. Medium kemudian diautoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 15 Psi selama 20 menit. Medium dibawa ke *Laminair Air Flow* dan dibagi ke *Petri dish* steril berukuran 90 mm × 20 mm, masing-masing sebanyak 30 ml. Medium tumbuh disimpan dalam lemari medium pada ruangan dengan suhu 25° C setidaknya semalam sebelum dipakai.

Inokulum yang digunakan dalam percobaan ini berupa potongan daun, tangkai daun dan ruas batang kentang hitam klon Nganjuk 1 *in vitro*. Potongan inokulum daun, tangkai daun (*petiole*), dan ruas batang diambil dari biak tunas kentang hitam *in vitro* yang berumur 4–6 minggu (Hoesen, 1991; Witjaksono & Leksonowati, 2008) dari klon Nganjuk 1. Inokulum daun ukuran sekitar 0,5 cm<sup>2</sup>, daun pada posisi kedua sampai dengan empat dipotong pada keempat sisinya, jika ukurannya lebar biasanya dibagi menjadi 2–6 potongan. Sedangkan inokulum tangkai dan ruas batang berukuran panjang 0,5–1 cm. Inokulum ditanam pada medium perlakuan dan tiap perlakuan terdiri dari 4 ulangan (*Petri dish*), dan masing-masing *Petri dish* diisi tujuh inokulum.

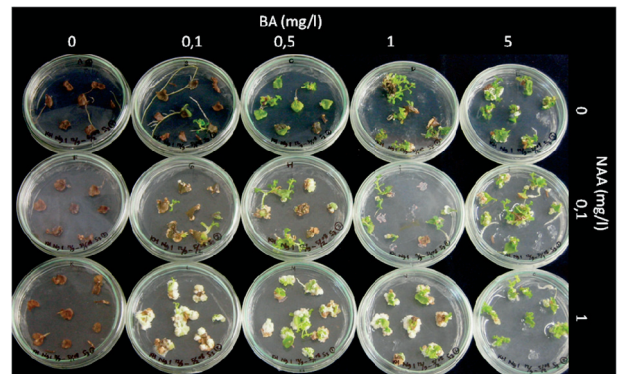
Biak dipelihara di dalam ruang pemeliharaan biak dengan suhu 27° C, pada rak kultur dengan intensitas cahaya sekitar 261–352 lux selama 16 jam per hari. Pengamatan pertumbuhan biak dilakukan pada akhir minggu keenam terhadap persentase hidup, kalus, akar, tunas, jumlah tunas.

## HASIL

### Organogenesis pada Berbagai Inokulum Biak Kentang Hitam *in vitro*

Inokulum daun dari tunas kentang hitam *in vitro* menunjukkan respon pertumbuhan yang berbeda-beda tergantung pada medium perlakuan. Secara umum respon pertumbuhan dari inokulum adalah berubah warna dari hijau sebagai warna daun pada saat inokulasi menjadi coklat dan mati, atau membentuk akar. Sebagian lain daun menunjukkan warna yang tetap hijau tetapi daun membesar secara tidak beraturan sehingga permukaan daun menggelombang (mulai hari ke-4). Selanjutnya sebagian daun tumbuh kalus seperti kapas, sebagian struktur seperti kalus tumbuh mata tunas (sekitar hari ke-10). Mata tunas selanjutnya tumbuh membesar menjadi tunas (hari ke-18). Sebagian daun juga

membentuk akar. Kalus, akar dan tunas juga dapat terbentuk pada inokulum yang sama (Gambar 1).

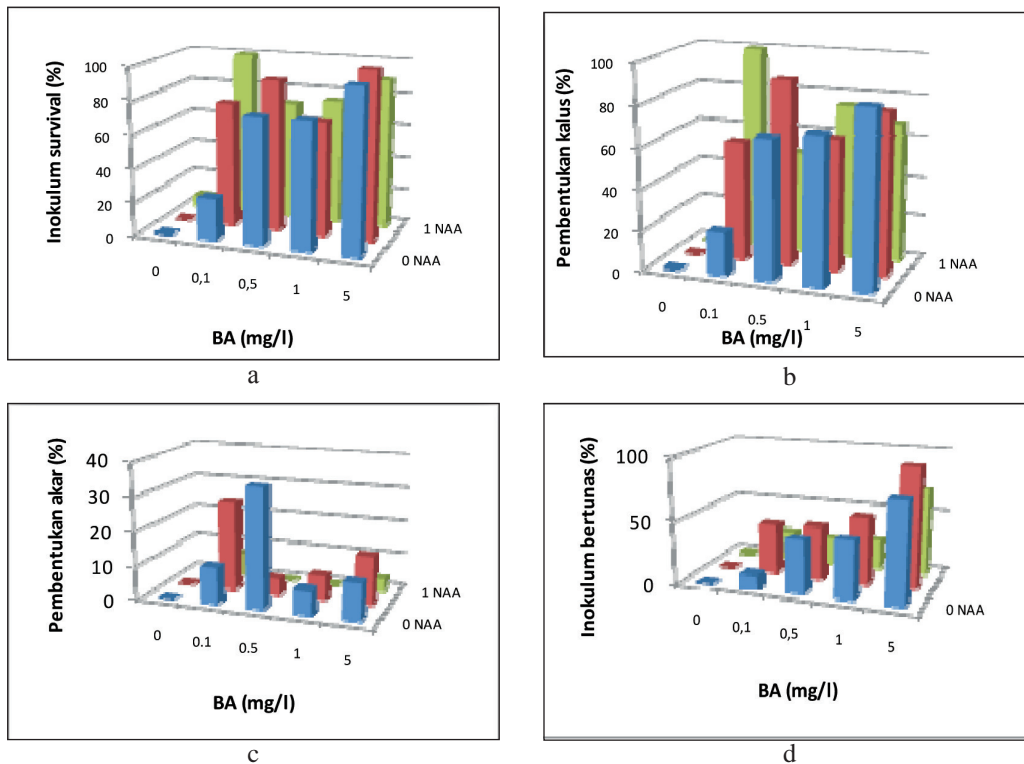


**Gambar 1.** Pengaruh berbagai konsentrasi BA dan NAA terhadap organogenesis pada daun kentang hitam

### Pengaruh Perlakuan Kombinasi BA dan NAA terhadap Morfogenesis Berbagai Inokulum Kentang Hitam *in vitro*

Pengaruh kombinasi perlakuan BA dan NAA terhadap tanggap pertumbuhan inokulum daun yang diambil dari biak tunas *in vitro* bersifat interaktif. Inokulum daun meningkat persen *survival*nya dengan meningkatnya konsentrasi BA dalam medium. Pada medium tanpa BA, inokulum potongan daun berubah warna menjadi coklat dan mati setelah minggu ke-4, walaupun akar terbentuk dengan frekuensi yang sangat rendah yang juga menjadi coklat dan mati setelah minggu ke-4. Penambahan NAA pada konsentrasi 0,1 mg/l dan 1 mg/l pada medium BA, cenderung meningkatkan persentase *survival* inokulum daun pada konsentrasi BA rendah (0,1 mg/l), tetapi cenderung tidak berpengaruh nyata pada medium dengan BA lebih tinggi (0,5–5 mg/l) (Gambar 2a).

Mirip dengan respon *survival*, kalus tidak terbentuk pada medium kontrol tanpa BA tanpa peduli konsentrasi NAA dalam medium. Kalus baru terbentuk pada medium dengan BA. Pada medium tanpa NAA, persen inokulum membentuk kalus meningkat dengan meningkatnya konsentrasi BA. Peningkatan konsentrasi NAA pada medium dengan BA meningkatkan persentase inokulum membentuk kalus, terutama pada medium dengan konsentrasi BA rendah. Dengan kata lain pembentukan kalus menurun dengan meningkatnya konsentrasi BA dalam medium. Secara jelas terlihat bahwa pembentukan kalus dipengaruhi oleh NAA dan BA cenderung menghambat pembentukan kalus. Persentase pembentukan kalus tertinggi (100%) didapat pada medium dengan NAA tertinggi (1 mg/l) dan BA terendah (0,1 mg/l). Peningkatan NAA pada medium tidak



**Gambar 2.** Pengaruh perlakuan kombinasi BA dan NAA pada medium tumbuh terhadap persentase *survival* (a), persentase pembentukan kalus (b), pembentukan akar (c), dan pembentukan tunas (d) dari inokulum daun kentang hitam *in vitro*.

hanya meningkatkan persentase inokulum membentuk kalus tetapi juga banyaknya kalus yang terbentuk (Gambar 1).

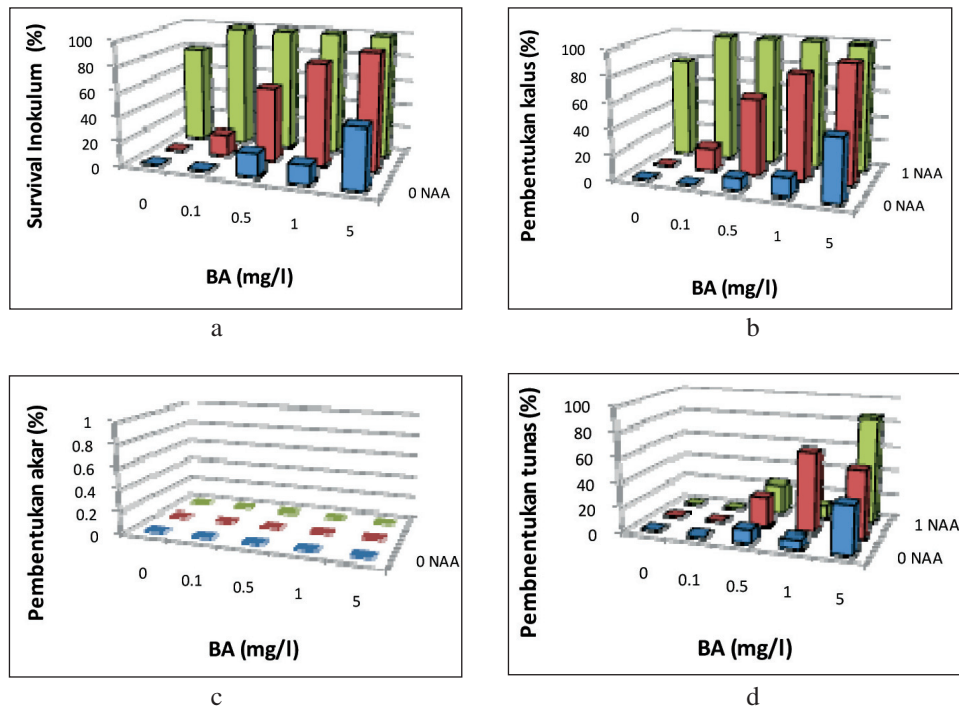
Pembentukan akar dari inokulum daun terjadi dengan persentase yang rendah, berkisar 0–30% (Gambar 2c). Respon pembentukan akar cenderung parabolik terhadap konsentrasi BA pada medium tanpa NAA. Tetapi penambahan NAA pada medium merubah pola parabolik tersebut, dan pembentukan akar menurun dengan meningkatnya konsentrasi NAA.

Pembentukan tunas sangat dipengaruhi oleh konsentrasi BA; peningkatan persentase pembentukan tunas meningkat dengan meningkatnya konsentrasi BA pada semua konsentrasi NAA yang dicoba. Interaksi pengaruh NAA dan BA terhadap pembentukan tunas terlihat dengan meningkatnya persentase pembentukan tunas dari NAA 0 mg/l ke NAA 0,1 mg/l dan kemudian menurun lagi pada konsentrasi NAA 1 mg/l. Pada konsentrasi 5 mg/l BA dan 0,1 mg/l NAA, pembentukan tunas mencapai persentase tertinggi (96,43%).

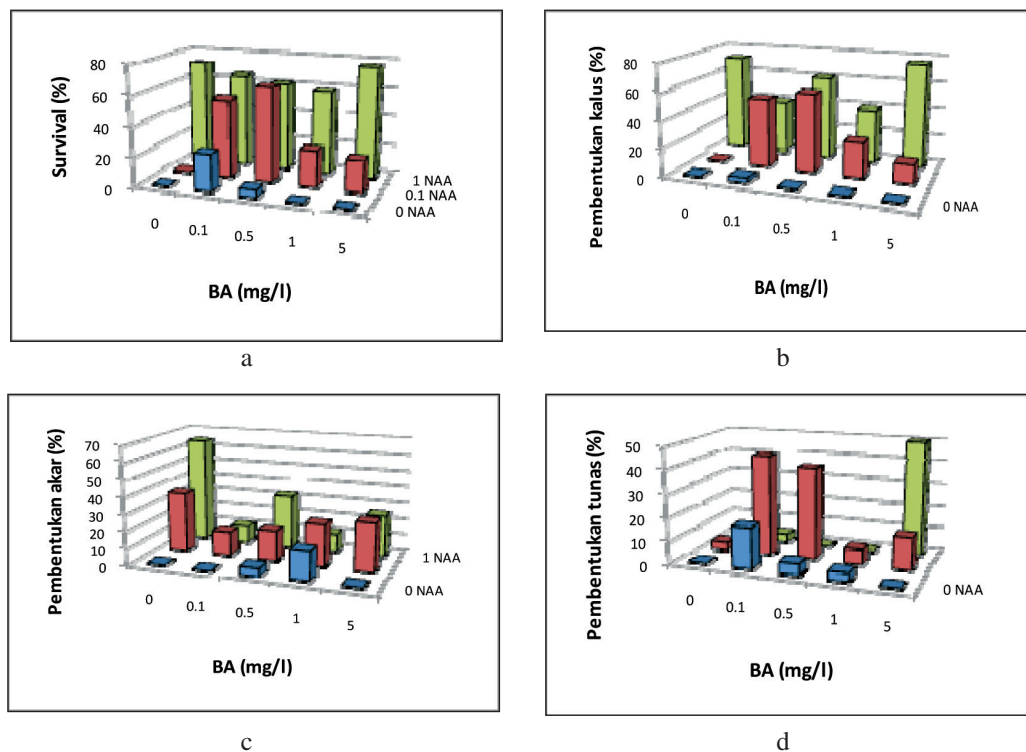
Pada inokulum tangkai daun, morfogenesis sangat dipengaruhi oleh adanya NAA pada medium. *Survival* inokulum tangkai daun rendah (40%) pada media BA tanpa NAA dan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi

NAA dan mencapai 100% pada medium dengan NAA 1 mg/l (Gambar 3a). Peningkatan BA juga meningkatkan *survival* inokulum. Pola respon inokulum tangkai daun dalam pembentukan kalus sama dengan respon *survival* (Gambar 3b). Pada inokulum tangkai daun, akar tidak terbentuk sama sekali (Gambar 3c). Respon pembentukan tunas dari inokulum tangkai daun mengumpul pada konsentrasi BA dan NAA yang tinggi, yaitu BA pada konsentrasi 0,5 mg/l atau lebih besar dan NAA pada konsentrasi 0,1 mg/l atau lebih besar (Gambar 3d). Persentase pembentukan tunas tertinggi (80%) terjadi pada konsentrasi BA 5 mg/l dan NAA 1 mg/l.

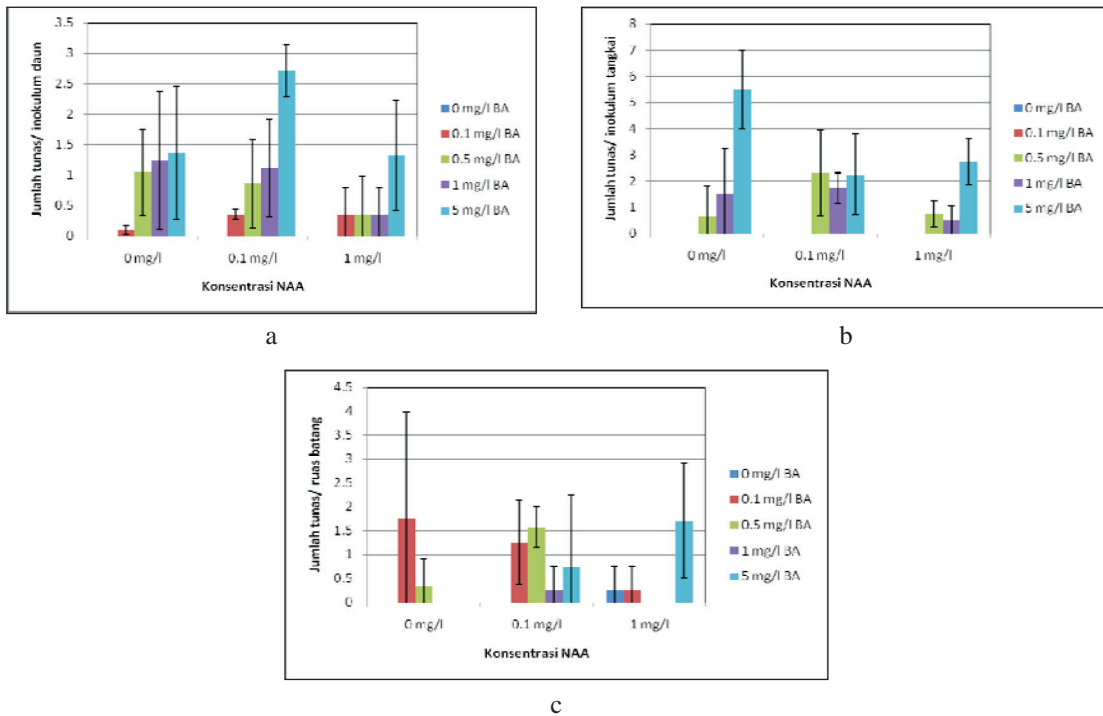
Pada inokulum ruas batang, respon morfogenesis juga dipengaruhi oleh adanya NAA dalam medium. Respon yang rendah pada semua variabel morfogenesis teramati pada medium tanpa NAA. Peningkatan NAA dalam medium meningkatkan respon morfogenesis dari inokulum ruas batang. Keseluruhan respon dari inokulum hanya mencapai 80% dari total inokulum (Gambar 4a-d). Respon pembentukan kalus membutuhkan adanya NAA pada inokulum ruas batang (Gambar 4b). Kecenderungan respon parabolik terhadap konsentrasi BA masih terlihat pada pembentukan tunas, walaupun pada tingkat respon



**Gambar 3.** Pengaruh perlakuan kombinasi BA dan NAA pada medium tumbuh terhadap persentase *survival* (a), persentase pembentukan kalus (b), pembentukan akar (c), dan pembentukan tunas (d) dari inokulum tangkai daun kentang hitam *in vitro*.



**Gambar 4.** Pengaruh perlakuan kombinasi BA dan NAA pada medium tumbuh terhadap persentase *survival* (a), persentase pembentukan kalus (b), pembentukan akar (c), dan pembentukan tunas (d) dari inokulum ruas batang kentang hitam *in vitro*.



**Gambar 5.** Pengaruh kombinasi BA dan NAA terhadap jumlah tunas yang terbentuk pada inokulum daun (a), tangkai daun (b), dan ruas batang (c) kentang hitam *in vitro* setelah 6 minggu.

yang rendah, yaitu sekitar 20% dan tertinggi pada BA 0,1 mg/l. Pada konsentrasi NAA yang lebih tinggi yaitu 0,1 mg/l, peningkatan respon pembentukan tunas terjadi pada konsentrasi 0,1–0,5 dan menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi. Pada konsentrasi NAA 1 mg/l, pembentukan tunas yang tertinggi dicapai pada BA 5 mg/l. Keseluruhan respon pembentukan tunas hanya mencapai 50% dari total inokulum.

### Pengaruh BA dan NAA terhadap Produksi Tunas dari Inokulum Daun, Tangkai Daun, dan Ruas Batang Biak Kentang Hitam

Jumlah tunas rata-rata yang terbentuk pada inokulum daun menunjukkan respon yang serupa dengan persentase pembentukan tunas, yaitu meningkat dengan meningkatnya konsentrasi BA, pada medium tanpa NAA dan medium dengan NAA 0,1 mg/l. Pada medium dengan NAA 1 mg/l, peningkatan BA sampai 1 mg/l tidak meningkatkan jumlah tunas, tetapi jumlah tunas baru meningkat pada konsentrasi BA 5 mg/l. Pengaruh menghambat NAA terhadap jumlah tunas terjadi sampai konsentrasi BA 1 mg/l, tetapi pada konsentrasi BA mg/l, pengaruh peningkatan konsentrasi NAA bersifat parabolik dengan respons maksimal pada konsentrasi 0,1 mg/l dengan jumlah tunas yang terbentuk 2,7 tunas per eksplan (Gambar 5a).

Pada inokulum tangkai daun, jumlah tunas meningkat dari konsentrasi BA 0,5 sampai maksimum pada konsentrasi BA 5 mg/l (5,5 tunas/tangkai daun). Jumlah tunas nol pada konsentrasi BA 0,1 atau yang lebih rendah. Peningkatan konsentrasi NAA juga cenderung menurunkan jumlah tunas yang terbentuk (Gambar 5b).

Pada inokulum ruas batang, respon jumlah tunas terhadap pengaruh BA dan NAA tidak menunjukkan pola yang teratur. Pada konsentrasi NAA 0 mg/l, jumlah tunas tertinggi (1,7) diperoleh pada konsentrasi BA 0,1 mg/l dan menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi. Peningkatan NAA juga tidak meningkatkan jumlah tunas yang terbentuk (Gambar 5c).

Dengan memasukkan persen pembentukan tunas dalam perhitungan produksi tunas, penggunaan inokulum daun pada medium BA 5 mg/l dan NAA 0,1 mg/l adalah yang terbaik dengan produksi tunas sebanyak 7 inokulum/*Petri dish* × 85% (persen pembentukan tunas) × 2,7 (rata-rata jumlah tunas per inokulum) sama dengan 16,07 tunas per *Petri dish*. Jumlah produksi tunas ini sedikit lebih tinggi dari penggunaan inokulum tangkai daun pada medium 5 mg/l BA tanpa NAA yang membentuk tunas rata-rata 7 inokulum/*Petri dish* × 38% (persen pembentukan tunas) × 5,5 (rata-rata jumlah tunas per inokulum) sama dengan 14,63 tunas per *Petri dish*.

## PEMBAHASAN

Morfogenesis pada berbagai inokulum yang diambil dari biak tunas *in vitro* kentang hitam sangat dipengaruhi oleh perimbangan konsentrasi BA dan NAA serta macam dari inokulum yang dipakai. Secara umum perimbangan pengaruh BA dan NAA menjadi penentu perkembangan dari eksplan; konsentrasi BA yang tinggi atau relatif lebih tinggi dari NAA bertanggung jawab terhadap pembentukan dan jumlah tunas. Sedangkan pembentukan kalus lebih dipengaruhi oleh adanya NAA pada konsentrasi tinggi. Pengaruh BA dan NAA saling meniadakan (*counter acting*) pada respon pembentukan kalus dan pada pembentukan tunas pada umumnya, tetapi efek sinergistik terjadi pada pembentukan tunas dari inokulum daun pada media dengan konsentrasi BA 5 mg/l dan NAA 0,1 mg/l. Prinsip dasar untuk perimbangan dan saling aksi (*counter acting*) antara sitokinin dan auksin dalam menentukan morfogenesis dari kalus tembakau pertama kali diuraikan oleh Skoog & Miller (1957). Prinsip dasar ini juga berlaku pada morfogenesis daun kentang hitam.

Respon morfogenesis dari inokulum tangkai daun dan ruas batang dari biak tunas menunjukkan perbedaan dibanding respon dari inokulum daun dalam hal tingkat respon maupun konsentrasi optimum dari respon. Hal ini mungkin disebabkan oleh konsentrasi zat pengatur tumbuh endogen yang berbeda dari satu macam eksplan dengan eksplan yang lain. Konsentrasi hormon endogen yang rendah mungkin mengharuskan aplikasi zat pengatur tumbuh (ZPT) eksogen yang lebih tinggi. Perbedaan respon terhadap ZPT eksogen yang berbeda juga mungkin disebabkan oleh perbedaan sensitivitas jaringan terhadap zat pengatur tumbuh maupun perbedaan reseptor yang terdapat dalam sel-sel dari jaringan yang berbeda tersebut (George, 1993).

Penelitian morfogenesis dapat dipakai untuk mendapatkan protokol perbanyak tanaman atau regenerasi yang maksimum dengan menggunakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang optimum. Pada penelitian ini, regenerasi tunas yang tertinggi dicapai pada konsentrasi BA 5 mg/l dan NAA 0,1 mg/l dengan inokulum daun, dengan jumlah tunas mencapai 16 tunas per *Petri dish*. Jumlah ini belum dapat dikategorikan tinggi mengingat bahwa pada tanaman *Coleus forskohlii*, tunas dapat diregenerasikan dari kalus pada subkultur ke-6 di medium MS ditambah 4,6  $\mu$ M kinetin dan 0,54  $\mu$ M 1-naphthalene acetic acid (NAA) dengan rata-rata produksi 150 tunas per *clump kalus* (Reddy *et al.*, 2001). Tetapi, Vanegas *et al.* (2002) mendapatkan bahwa pada tanaman *marigold* (*Tagetes erecta* L.)

organogenesis dari eksplan daun dapat menghasilkan persentase tunas sebesar 69,4% pada medium MS yang dikombinasikan dengan BA (13,3  $\mu$ M) dan IAA (17,1  $\mu$ M). Organogenesis pada *Salvia nemorosa* dapat terbentuk dari eksplan *lamina* daun maupun *petiole* baik secara langsung atau tidak langsung melalui *kalus*, dengan jumlah tunas tertinggi diperoleh pada kombinasi 0,9 mM BA dan 2,9 mM IAA untuk eksplan *lamina* (Skala & Wysokinska, 2004). Eksplan daun dari *orange mint* (*Mentha citrata* Ehrh.) dapat meregenerasikan jumlah tunas yang lebih banyak pada medium MS ditambah 44,4 M benzyladenine (BA) dan 250 ml 1-1 air kelapa. Sedangkan pada eksplan daun *peppermint* (*Mentha piperita* L.) dapat menghasilkan jumlah tunas terbanyak pada medium MS ditambah 44,4 M BA dan 250 ml atau 450 ml/1 air kelapa (Van Eck & Kitto, 1992).

Walaupun produksi tunas dari sistem regenerasi organogenesis dari daun *in vitro* yang telah dikembangkan hanya menghasilkan tunas tidak dalam jumlah yang sangat tinggi, namun protokol ini dapat dipakai untuk tujuan manipulasi sel somatik untuk mendapatkan mutan atau tujuan lain yang sejenis.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah morfogenesis inokulum daun, tangkai daun maupun ruas batang dipengaruhi oleh konsentrasi BA dan NAA dalam medium tumbuh dengan cara yang mirip morfogenesis *kalus* tembakau menurut deskripsi klasik dimana sitokinin menentukan pembentukan tunas dan auksin menentukan pembentukan *kalus* atau akar.

*Produksi tunas, yang merupakan* interaksi antara persen inokulum yang membentuk tunas dan rata-rata jumlah tunas per inokulum, yang tertinggi dicapai pada inokulum daun pada medium perlakuan kombinasi 5 mg/l BA dan 0,1 mg/l NAA.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari DIPA 2008–2010 Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Sdr. Katarina Utami Nugraheni, SP atas bantuan teknis selama penelitian.

## KEPUSTAKAAN

- George EF, 1993. Plant Propagation by Tissue Culture Part 1. In Practice. 2<sup>nd</sup> edition. Exegetic Limited, England, 420–446.
- Hoesen DSH, 1991. Biak jaringan kentang hitam (*Coleus tuberosus* Benth.) in: Witjaksono, Marwoto RM & Supardiyono EK (eds.) Prosiding Seminar hasil Penelitian dan pengembangan Sumberdaya hayati 1990/1991. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI. Bogor, 99–104.

- Jansen PCM, 1996. *Plectranthus rotundifolius* (Poir) Sprengel. In: Flach M & Rumawas F (eds.) *Plant yielding non-seed Carbohydrates*. PROSEA, Bogor, 141–143.
- Murashige T & Skoog F, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plants*. 15: 473–497.
- Prematilake DP. 2005. Inducing Genetic variation of innala (*Solanostemon rotundifolius*) via *in vitro* callus culture. *J Natn Sci Foundation Sri Lanka* 33: 123–131.
- Reddy PS, Rondrigues R & Rajasekharan R, 2001. Shoot organogenesis and mass propagation of *Coleus forskohlii* from leaf derived callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 66: 183–188.
- Skala E & Halina W, 2004. *In vitro* regeneration of *Salvia nemorosa* L. from shoot tips and leaf explants. *In vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 40: 596–602.
- Skoog F & CO Miller, 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11: 118–140.
- Vanegas PE, Andr'es CH, Ma. Elena V & Octavio PL, 2002. Plant regeneration via organogenesis in Marigold. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 69: 279–283.
- Van Eck JM & SL Kitto, 1992. Regeneration of peppermint and orange mint from leaf disks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 30: 41–49.
- Vimala B & Nabisan B, 2005. Tropical Minor Tuber Crops. Central Tuber Crops Research Institute Sreekariyam, Thiruvananthapuram 695 017, Kerala, India. 24 p.
- Witjaksono & Leksonowati A, 2008. Perbanyak Kentang Hitam (*Coleus tuberosus* Benth.) secara *In vitro*. Laporan Teknik Pusat penelitian Biologi-LIPI. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) 2008. 1484–1489.

Reviewer: **Tim Reviewer**