



Buletin Kebun Raya

The Botanic Garden Bulletin

Akreditasi A, No. Akreditasi 255/Akred-LIPI/P2MBI/05/2010

ISSN 0125 - 961X | Vol. 16 No. 1 | Januari 2013

KERAGAMAN DAN ANALISIS KEKERABATAN *Hoya* spp. BERTIPE DAUN NON SUKULEN BERDASARKAN KARAKTER ANATOMI DAUN

Diversity and Cluster Analysis of Non-Succulent Leaf Type *Hoya* spp. Based on Leaf Anatomy Characters

Aldi Rahman Hakim, Dorly dan Sri Rahayu

1

PERKECAMBAHAN DAN PERTUMBUHAN SEMAI

Artocarpus altissimus J.J. Smith

Germination and Seedling Development of *Artocarpus altissimus* J.J. Smith

Sahromi

17

POPULATION AND MICROHABITAT OF *Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz. IN DANAU PULAU BESAR-DANAU BAWAH WILDLIFE SANCTUARY, SUMATRA

Populasi dan Mikrohabitat *Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz. di Cagar Alam Danau Pulau Besar-Danau Bawah, Sumatra

Yayan Wahyu Candra Kusuma, Didit Okta Pribadi dan Yupi Isnaini

27

VARIASI SERAPAN KARBONDIOKSIDA (CO₂) JENIS-JENIS POHON DI "ECOPARK", CIBINONG DAN KAITANNYA DENGAN POTENSI MITIGASI GAS RUMAH KACA

Variation in Carbondioxide (CO₂) Absorption of Tree Species in "Ecopark", Cibinong in Relation to Green House Gas Mitigation

Nuril Hidayati, Muhammad Mansur dan Titi Juhaeti

37

INDUKSI POLIPLIIDI KENTANG HITAM (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng. AKSESI SANGIAN SECARA *IN VITRO*

In Vitro Polyploid Induction of Black Potato (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) "Sangian Accession"

Mely Wardah Hayati, Prasetyorini dan Witjaksono

51

KARAKTERISTIK ANATOMI DAUN DARI SEPULUH SPESIES *Hoya* SUKULEN SERTA ANALISIS HUBUNGAN KEKERABATANNYA

The Anatomical Characteristics of Ten Succulent *Hoya* Leaves and Its Hierarchical Cluster Analysis

Putra Hafiz, Dorly dan Sri Rahayu

59



Koleksi *Artocarpus altissimus* di Kebun Raya Bogor

INDUKSI POLIPLIIDI KENTANG HITAM (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) AKSESI SANGIAN SECARA *IN VITRO*

In Vitro Polyploid Induction of Black Potato (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) "Sangian Accession"

Mely Wardah Hayati¹, Prasetyorini¹, Witjaksono²

¹Program Studi Biologi FMIPA, Universitas Pakuan Bogor
Jl. Pakuan PO. Box 452 Bogor

²Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
Cibinong Science Center, Jl Raya Bogor Km 46 Bogor 16911
Email: tjak_witjaksono@yahoo.com

Abstract

Black potato (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) JK Morton) is an under-utilized tuber producing herbaceous plant cultivated as side crop with little culture intervention. Polyploid plants often produce higher biomass and greater plant size including tuber size. The aim of this study was to obtain polyploid plants of black potato "Sangian" accessions with the hope to increase the tuber size and plant productivity. Nodal explants derived from shoot culture were submerged in different length of time (8, 24 hours) and concentration (0, 3, 6, 15 μ M) of oryzalin. The explants were then subcultured into proliferating medium and polyploidy were examined using flowcytometer. The results showed that the induction treatment were effective for polyploidy induction. Analysis of relative DNA content of the samples of leaves that grew from nodal explant showed 16.5% tetraploid, 28.4% mixoploid and the rest were diploid compared to control plants that were assumed to be diploid ($2n = 2x$).

Key words: black potato, oryzalin, polyploid, *Plectranthus rotundifolius*.

Abstrak

Kentang hitam (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) adalah umbi yang dihasilkan oleh herba sebagai tanaman sampingan yang kurang dimanfaatkan. Tanaman poliploid seringkali menghasilkan biomasa yang lebih banyak serta ukuran tumbuhan yang lebih besar termasuk ukuran umbinya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan tanaman kentang hitam aksesori Sangian poliploid yang diharapkan dapat meningkatkan ukuran umbi dan produktivitas tanamannya. Eksplan kultur adalah batang berbuku yang berasal dari kultur tunas yang direndam selama 8 dan 24 jam dalam oryzalin pada berbagai konsentrasi (0, 3, 6, 15 μ M). Eksplan kemudian ditumbuhkan pada media tumbuh dan pengamatan ploidinya dilakukan dengan flow cytometer. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan yang dicoba efektif untuk menginduksi poliploid. Analisa kandungan relative DNA dari daun yang tumbuh dari eksplan, 16,5% tetraploid, 28,4% mixoploid dan sisanya diploid.

PENDAHULUAN

Kentang hitam (*Plectranthus rotundifolius* (Poir.) Spreng.) adalah tanaman herba yang membentuk umbi dengan kadar karbohidrat tinggi dan karena itu berpotensi dikembangkan untuk diversifikasi pangan. Kentang hitam di Indonesia hanya dikenal di daerah pulau Jawa, Bali, dan Madura (Heyne, 1987). Umbi yang dihasilkan kentang hitam berukuran kecil dan berwarna coklat muda, coklat tua hingga hitam. Biasanya kentang hitam dikonsumsi sebagai sayuran, direbus atau sebagai campuran sajian sebagai pengganti kentang (*Solanum tuberosum*). Kentang hitam berasal dari Afrika Barat dan sudah tidak ditemukan tumbuh meliar di daerah asalnya dan juga diperbanyak secara vegetatif, karena itu diperkirakan keragaman genetiknya sempit. Tanaman ini resisten terhadap penyakit, terutama fungi, tetapi peka terhadap nematode (Jansen, 1996).

Kurang optimalnya pemanfaatan kentang hitam sejalan dengan kurangnya penelitian dan pengembangan komoditas tersebut. Padahal, potensi genetik komoditas tersebut mungkin masih dapat ditingkatkan dengan pemuliaan tanaman, misalnya dengan pemuliaan mutasi atau teknik manipulasi yang lain, seperti peningkatan jumlah kromosom atau poliploidisasi.

Tanaman poliploid (triploid atau tetraploid) diketahui mempunyai sosok, ukuran buah, umbi atau bunga yang lebih besar (Suryo, 2007). Tanaman poliploid telah dimanfaatkan dalam pertanian, misalnya gandum (hexaploid $2n=6x$), kentang (tetraploid $2n=4x$), pisang (triploid $2n=3x$; tetraploid $2n=4x$), jambu biji seedless (triploid $2n=3x$), mangga (tetraploid $2n=4x$), dan semangka seedless ($2n=3x$).

Kentang hitam memiliki jumlah kromosom diploid, $2n = 2x = 64, 84$ (Nkansah, 2004). Jumlah ploidi kentang hitam kemungkinan dapat ditingkatkan melalui perlakuan dengan oryzalin pada media kultur *in vitro*. Teknik regenerasi kentang hitam melalui kultur jaringan pun telah dilakukan (Prematilake, 2005; Leksonowati dan Witjaksono, 2011; Witjaksono dan Leksonowati, 2012).

Oryzalin adalah suatu herbisida yang dapat menghalangi pembentukan benang spindel pada waktu mitosis (Cox, 2001). Ramulu et al. (1991) mengemukakan bahwa senyawa oryzalin dapat menginduksi tingkat ploidi kromosom dan memperluas variasi genetik tanaman. Menurut Yamets dan Blume (2008), penggunaan oryzalin pada makhluk hidup khususnya pada tanaman dapat menghalangi pembentukan benang spindel pada saat proses mitosis sehingga sel-sel baru yang terbentuk jumlah kromosomnya akan berlipat ganda.

Penggunaan senyawa oryzalin telah banyak dilakukan untuk mendapatkan tanaman tetraploid, seperti pada pisang (Van Duren et al., 1996; Poerbadkk., 2012), bawang merah (Suminah et al., 2002; Grzebelus dan Adamus, 2004), yacon (Viehmanna et al., 2009).

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanam dan Pelaksanaan Percobaan

Bahan tanaman yang digunakan adalah batang berbuku yang diambil dari biak tunas kentang hitam *in vitro* aksesori "Sangian" yang dipelihara dengan disubkultur sesuai metoda Witjaksono dan Leksonowati (2012). Batang kentang hitam dari biak *in vitro* dibuang daunnya, kemudian direndam dalam medium cair yang sudah ditambah oryzalin dalam tabung Erlenmayer dan digoyang dengan kecepatan 120 rpm di atas shaker sesuai perlakuan waktu.

Media yang dipakai adalah media cair formulasi MS (Murashige & Skoog, 1962) yang dimodifikasi dengan komposisi sebagai berikut (mg/l): NH_4NO_3 1650, KNO_3 1900, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 440, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 370, KH_2PO_4 170, hara mikro, Fe-NaEDTA 37, Vit.MS (Glycine 4, Pyridoxine 1, Thiamin 0,2, Nicotinic Acid 0,5), Myo-Inositol 100, sukrosa 30.000, BA 5, NAA 0,1, TDZ 0,01 dan pH diatur menjadi 5,7-5,8 dengan 0,1 N HCl atau KOH sebelum disterilisasi dengan autoklaf (Leksonowati & Witjaksono, 2011). Setelah disterilisasi media

dimasukkan ke dalam 12 botol Erlenmeyer (dalam laminar air flow, LAF) yang masing-masing diisi 75 ml media dan diberi larutan oryzalin (sesuai perlakuan) yang telah disterilisasi dengan milipore filter (Acrodisc filter 0,33 μ m).

Percobaan terdiri atas kombinasi dua faktor perlakuan, yaitu konsentrasi oryzalin (0, 3, 6, dan 15 μ M) dan waktu perendaman (8 dan 24 jam).

Batang berbuku yang telah diperlakukan dipotong-potong untuk mendapatkan inokulum batang dengan satu buku berukuran 1-1,5 cm. Inokulum ditanam pada media B (formulasi MS dengan hanya 2 mg/l BA sebagai zat pengatur tumbuh) atau MS0 (formulasi MS tanpa zat pengatur tumbuh) dengan jumlah inokulum masing-masing 5 potong tiap botol. Tiap perlakuan dibuat 6 ulangan.

Biak dipelihara di dalam ruang dengan suhu 27o C, intensitas cahaya 261-352 lux selama 16 jam per hari. Setelah tunas berumur 6 minggu, sebagian daunnya diambil untuk analisis ploidi menggunakan *flow cytometer*. Pengamatan pertumbuhan biak dilakukan pada minggu keenam setelah tanam dengan peubah *survival* hidup, tinggi tunas, jumlah buku, ukuran dan jumlah daun.

Analisis Ploidi dengan *Flow cytometer*

Tingkat ploidi dari sampel tunas hasil perlakuan percobaan dianalisa menggunakan *flow cytometer* (Partec CyFlow*) (Anonym, 2010). Daun dari sampel tunas yang diduga poliploid dipotong dengan ukuran 0,5 cm x 0,5 cm, ditaruh dalam cawan petri kecil, diberi 250 μ M *Nuclei Extraction Buffer** (Anonym, 2010), kemudian dicacah hingga halus, disaring dan dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambah 2 ml *Staining Solution** (Anonym, 2010), lalu didiamkan selama 30-60 menit di tempat gelap. Tabung berisi nuclei kentang hitam kemudian dimasukkan ke dalam alat *flow cytometer* selama 5 menit untuk dibaca kandungan relatif DNA dari nuclei yang diwarnai dengan propidium iodine. Hasilnya ditampilkan dalam layar komputer melalui *software flomax** (Anonym, 2010). *Peak* dari sampel kontrol tanpa perlakuan diletakkan pada channel 100 sebagai

kontrol diploid. *Peak* dari sampel perlakuan dibandingkan dengan kontrol untuk menentukan ploidi dari sampel perlakuan.

Staining Solution berisi *Staining Buffer* PI (Propidium Iodine) Stock Solution dan RNAase, sedangkan *Nuclei Extraction Buffer* berisi CyStain PI Absolute P (Anonym, 2010).

HASIL

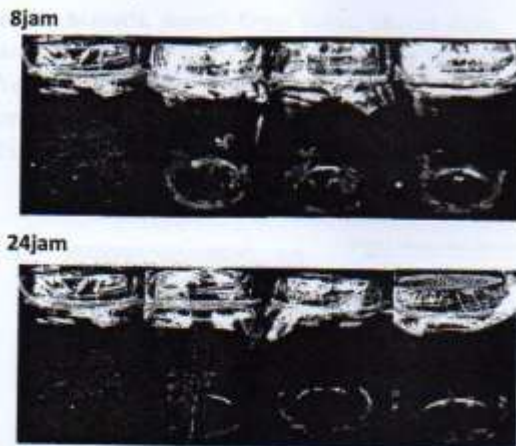
Pertumbuhan Inokulum

Perlakuan kombinasi konsentrasi oryzalin dengan waktu perendaman menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap daya hidup dan pertumbuhan inokulum sampai 4 minggu setelah transfer. Pada perlakuan kontrol tanpa perendaman dengan Oryzalin, inokulum buku tunas tumbuh membentuk tunas yang memanjang dan berdaun lebar dengan persentase yang hidup mencapai 100%, namun perlakuan perendaman menurunkan baik persentase yang hidup ataupun pertumbuhan tunas (Tabel 1) dan dapat dilihat secara visual (Gambar 1). Penurunan pertumbuhan yang lebih drastis dapat diamati pada perendaman 24 jam dibanding perendaman 8 jam dan peningkatan konsentrasi Oryzalin juga menurunkan daya hidup maupun pertumbuhan tunas dari inokulum.

Tabel 1. Rata-rata peubah inokulum saat 4 MST dengan beberapa perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata Peubah Inokulum							
	WP	KO	H(%)	T(cm)	BB	T	UD	WD
Kontrol	0	100	2,3	6	2	besar	Hijau tua	
8 jam	3	80	1,0	4	1	Kecil	Hijau	
	6	52	1,3	6	2	Kecil	Hijau	
	15	20	0,9	4	1	Kecil	Hijau	
24 jam	3	47	1,8	5	2	Kecil	Hijau	
	6	40	1,2	5	2	Kecil	Hijau	
	15	20	1,1	5	1	Kecil	Hijau	

Ket.: WP=waktu perendaman; KO=konsentrasi oryzalin; H=hidup; T=tinggi; BB=buku batang; T=jumlah tunas; UD=ukuran daun relative; WD=warna daun.



Gambar 1. Pertumbuhan tanaman kentang hitam aksesori "Sangian" dengan konsentrasi Oryzalin kontrol (a), 3 μ M (b), 6 μ M (c), dan 15 μ M (d), dengan waktu perendaman 8 jam dan 24 jam dalam media regenerasi pada 4 MST.

Tingkat Ploidi dan Morfologi

Hasil analisis ploidi dengan *flow cytometer* dari sampel yang diperlakukan dengan Oryzalin disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis ploidi kentang hitam aksesori "Sangian" menggunakan *flow cytometer*.

Perlakuan Hasil Analisis Flowcytometer						
WP	KO	JTA	2x	2x+4x	3x+4x	4x
	Kontrol	8	8	-	-	-
8	3	18	9	5	-	4
	6	21	12	6	1	3
	15	3	-	3	-	-
24	3	17	13	2	-	2
	6	8	3	2	-	3
	15	6	-	5	-	1
Total Ploidi		81	45	23	1	13

Ket.: WP=waktu perendaman (jam); KO=konsentrasi Oryzalin (μ M); JTA=jumlah tanaman yang dianalisis; 2x=diploid; 2x+4x=mixoploid; 3x+4x= mixoploid; 4x=tetraploid.

Perlakuan beberapa konsentrasi Oryzalin dalam menginduksi ploidi kentang hitam aksesori

"Sangian" berhasil meningkatkan ploidi dari diploid ($2n=2x$) menjadi mixoploid diploid-tetraploid ($2n=2x+4x$), mixoploid triploid-tetraploid ($2n=3x+4x$), dan tetraploid ($2n=4x$) (Tabel 2).

Penentuan ploidi adalah berdasarkan grafik yang dihasilkan oleh analisis dengan menggunakan *flow cytometer* dan ditunjukkan pada Gambar 2. *Peak* dari jumlah relatif DNA tanaman kontrol berada pada channel 200 (Gambar 2a). Penampakan morfologi tanaman kentang hitam aksesori "Sangian" tanpa perlakuan tumbuh normal dengan warna hijau, dua daun yang berhadapan pada tiap buku batangnya (*folia opposita*), daun berbentuk bulat telur (*ovatus*), ujung dan pangkal daun tumpul (*obtusus*) dengan tepi bergerigi (*serratus*).

Hasil analisis *flow cytometer* tanaman tetraploid menunjukkan *peak* 392.35 dengan koefisien keragaman 5.77%. (Gambar 2b). Morfologi tanaman tetraploid ($2n=4x$) berbeda dari kontrol, yaitu bentuk daun yang bergelombang, dan lebih tebal dengan warna hijau yang lebih tua. Pada Gambar 2c histogram hasil analisis *flow cytometer* menunjukkan *peak* 217.14 dan 422.19 dengan koefisien keragaman 5.42 % dan 4.78 % dan menunjukkan sampel tunas kentang hitam dengan ploidi diploid dan tetraploid atau mixoploid diploid-tetraploid ($2n=2x+4x$). Tunas mixoploid tersebut memiliki struktur morfologi yang lebih kecil daripada tanaman kontrol, daunnya tebal dan bergelombang dengan percabangan tidak normal.

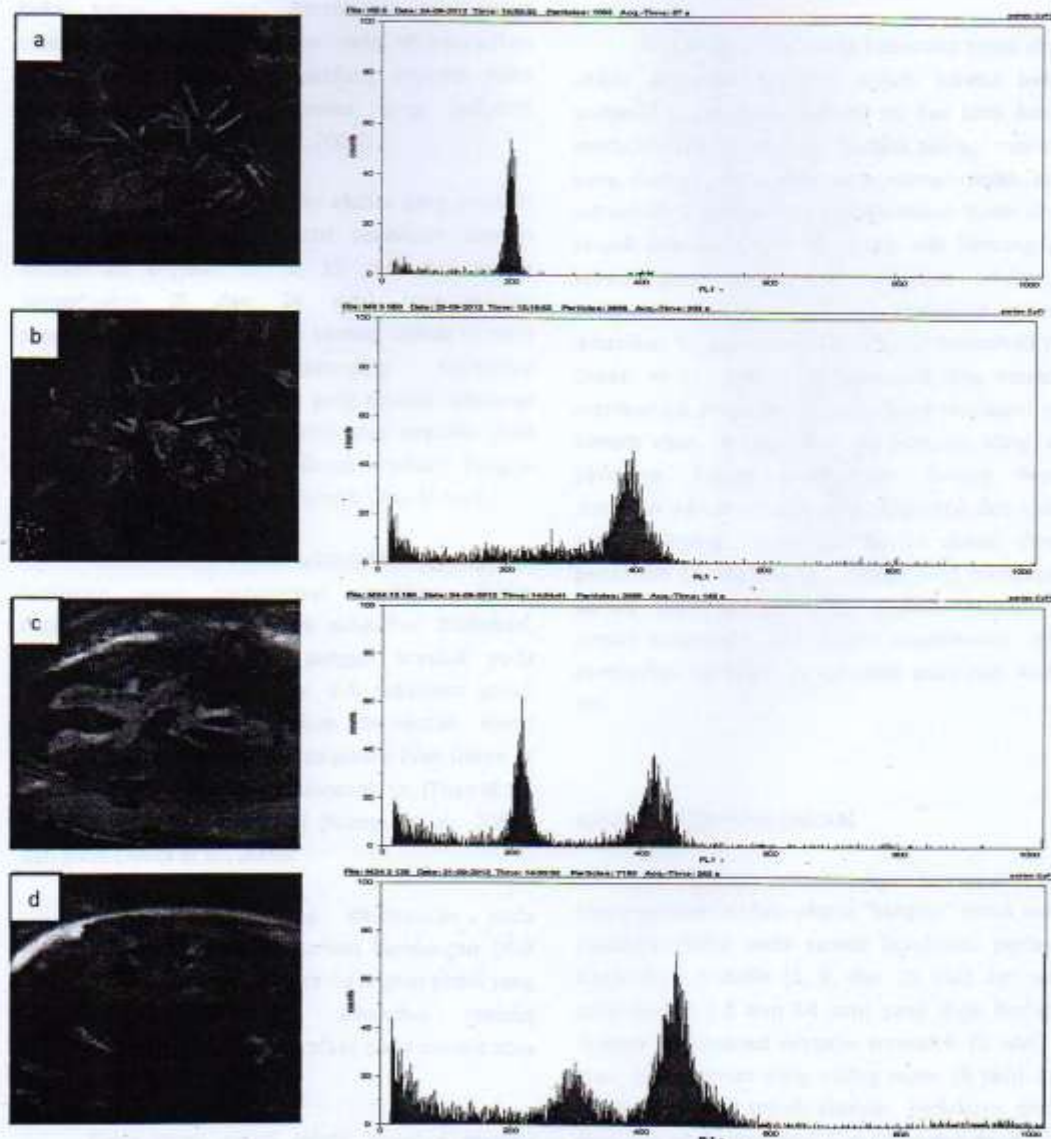
Jumlah kromosom mixoploid triploid-tetraploid ($2n=3x+4x$) (Gambar 2d) hanya ditemukan pada satu tunas yang dianalisis saja yaitu, pada kombinasi konsentrasi Oryzalin 6 μ M dengan waktu perendaman 8 jam. Hasil analisis menunjukkan *peak* 299.57 dan 455.48 dengan koefisien keragaman 6.91 % dan 3.88 %.

Morfologi tunas mixoploid triploid-tetraploid memiliki penampakan yang sama dengan tunas mixoploid diploid-tetraploid.

Dari inokulum yang diperlakukan dapat tumbuh dua atau tiga tunas yang morfologinya

terlihat berbeda, seperti tinggi tunas, ukuran daun, bentuk daun, dan warna daun. Contohnya, seperti pada inokulum perlakuan oryzalin dengan konsentrasi 3 μ M tumbuh tiga tunas pada tunas aksilarnya, dua diantaranya berpenampakan tidak

normal dengan daun keriting. Analisis dengan flow cytometer menunjukkan ketiga tunas tersebut memiliki jumlah ploidi yang berbeda, tunas pertama tetraploid ($2n=4x$), tunas kedua mixoploid ($2n=2x+4x$), dan tunas ketiga diploid ($2n=2x$).



Gambar 2. Perbedaan morfologi tunas kentang hitam aksesori "Sangian" umur 6 MST terkait tingkat ploidinya sesuai analisis *flow cytometer*. a) biak yang tidak diperlakukan dan dianggap sebagai diploid $2n=2x$; b) tetraploid $2n=4x$; c) mixoploid $2n=2x+4x$; d) mixoploid $2n=3x+4x$. Biak dari tanaman kontrol dianggap diploid dan diletakkan pada channel 200.

PEMBAHASAN

Induksi poliploid pada kentang hitam aksesi "Sangian" dengan cara merendam batang berbuku pada medium cair yang diberi oryzalin terbukti efektif dan dapat menghasilkan tunas poliploid yang tumbuh secara aksilar dari meristem ketiak yang berada pada buku tunas *in vitro*. Percobaan sebelumnya menggunakan inokulum daun yang diinokulasikan pada medium padat mengandung oryzalin tidak menghasilkan tunas regenerasi yang poliploid (Leksonowati dan Witjaksono, 2009).

Kenyataan bahwa tunas aksilar yang tumbuh dari eksplan buku tunas dari perlakuan dengan konsentrasi oryzalin (3, 6, 15 μM) dan waktu perendaman (8 dan 24 jam) menunjukkan peningkatan ploidi relatif dari kontrol diploid ($2n=2x$) menjadi tetraploid disamping mixoploid menunjukkan efisiensi teknik yang dipakai. Menurut Kehr (2001), pemberian kolkisin atau oryzalin pada tanaman mengakibatkan adanya sel-sel dengan jumlah set kromosom yang berbeda atau kimera.

Terbentuknya tunas tetraploid langsung dari inokulum yang mempunyai meristem ketiak menunjukkan tidak perlunya subkultur dilakukan. Hal ini sangat berbeda dengan kondisi pada umumnya yang memerlukan 3-5 subkultur untuk memisahkan kimera sebelum terbentuk tunas dengan ploidi utuh seperti pada pisang (Van Duren et al., 1996; Poerba dkk., 2012), *Alocasia* sp. (Thao et al., 2003), *Spathiphyllum wallisii* (Stanys et al., 2006), dan jeruk (Aleza et al., 2009).

Tingkat ploidi yang ditunjukkan pada penelitian ini adalah berdasarkan kandungan DNA relatif terhadap kontrol, karena itu tingkat ploidi yang sebenarnya hanya bisa diketahui melalui penghitungan kromosom metafase pada mitosis atau meiosis.

Peningkatan ploidi relatif tersebut disertai dengan perubahan morfologi tanaman, seperti daun yang lebih tebal dan berwarna hijau tua, pertulangan dan ukuran daun tidak normal. Kermani et al. (2003) menyatakan bahwa penggandaan kromosom pada

tanaman mawar ditandai dengan adanya peningkatan ketebalan daun dengan warna hijau yang lebih gelap. Hasil penelitian Lehrer et al. (2008) menunjukkan beberapa tanaman tetraploid *Berberis thunbergii* var. *Atropurpurea* memiliki struktur dan bentuk daun yang abnormal setelah diinduksi menggunakan oryzalin dan kolkisin.

Perbedaan ploidi pada beberapa tunas aksilar akibat perlakuan oryzalin terjadi karena induksi poliploid terjadi pada individu sel dan acak dari sel meristem yang terdiri dari banyak sel. Sel meristem yang menjadi tetraploid akan menghasilkan tunas tetraploid, tetapi karena pembentukan tunas aksilar terjadi dari kumpulan sel, maka ada kemungkinan sel-sel yang membentuk meristem adalah sel campuran antara diploid dan tetraploid sehingga dihasilkan tunas kimera dan disebut mixoploid (Van Duren et al., 1996). Dengan memaksa meristem membentuk tunas-tunas baru, maka meristem yang kimera akan menghasilkan tunas-tunas yang utuh ploidinya. Teknik memisahkan kimera dengan demikian adalah dengan cara subkultur dan induksi tunas samping majemuk. Hal ini sesuai dengan penelitian Suminah et al., (2002) yang menyatakan bahwa telah terjadi variasi bentuk, ukuran, dan jumlah kromosom pada *Allium ascalonicum* akibat pemberian senyawa penginduksi poliploidi kolkisin 1%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penggunaan inokulum buku batang dari tunas kentang hitam *in vitro* aksesi "Sangian" untuk induksi poliploid efektif pada semua kombinasi perlakuan konsentrasi oryzalin (3, 6, dan 15 μM) dan waktu perendaman (8 dan 24 jam) yang diuji. Perlakuan dengan konsentrasi oryzalin terendah (3 μM) dan lama perendaman yang paling cepat (8 jam) dapat diadopsi sebagai teknik standar. Perlakuan oryzalin mempengaruhi morfologi biak tunas dan daun.

Tunas mixoploid perlu disubkultur lebih lanjut untuk memisahkan kimera sehingga diperoleh tunas dengan ploidi utuh. Sedangkan tunas tetraploid perlu

diperbanyak dan diaklimatisasi serta ditumbuhkan di lapang untuk mengetahui ukuran umbi dan sifat agronominya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Tri Handayani, M.Si dan seluruh staf peneliti dan teknisi Laboratorium Blak Jaringan & Sel Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi, LIPI dan Dr. Yuyu S. Poerba, Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Pusat Penelitian Biologi, LIPI yang telah mengijinkan penggunaan alat serta bahan kimia untuk analisa *flow cytometer* dan Fajarudin Ahmad, S.Si di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Pusat Penelitian Biologi-LIPI yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aleza, P., J. Juarez, P. Ollitrault, and L. Navarro. 2009. Production of Tetraploid Plants of Non Apomictic Citrus Genotypes. *Plant Cell Reports* 28: 1837-1846.
- Anonymous. 2010. *CyFlow Space Instrument Operating Manual*. Partec GmbH Germany. 30 hal.
- Cox, C. 2001. Oryzalin: Herbicide Factsheet. *Journal of Pesticide Reform* 1 (4): 16.
- Grzebelus, E. and A. Adamus. 2004. Effect of Antimitotic Agents on Development and Genome Doubling of Gynogenic Onion (*Allium cepa* L.) Embryos. *Plant Science* 167(3): 569-574.
- Heyne, H. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan RI.
- Jansen, P.C.M. 1996. *Plectrants rotundifolius* (Poir.) Sprengel. In: Flach M & Rumawas F (eds.) *Plant yielding non-seed Carbohydrates*. PROSEA, Bogor. p 141-143.
- Kehr, A. 2001. Tetraploidy Convension: An Easy and Effective Method od Colchicine Treatment. http://members.tripod.com/h_syiacus/tetra_ploidy. (diakses Desember 2012)
- Kermani, M.J., V. Sarasan, A. V. Roberts, K. Yokoya, J. Wentworth and V. K. Sieber. 2003 Oryzalin-induced chromosome doubling in Rosa and its effect on plant morphology and pollen viability. *Theoretical and Applied Genetics* 107:1195-2000
- Lehrer, J.M., H. B. Mark, D. L. Jessica. 2008. Induction of Tetraploidy in Meristematically Active Seeds of Japanese Barberry (*Berberis thunbergii* var. *atropurpurea*) Through Exposure to Colchicine and Oryzalin. *Journal Scientia Horticulturae* 119: 67-71.
- Leksonowati, A. dan Witjaksono. 2009. Pengaruh Perlakuan Oryzalin Terhadap Kentang Hitam (*Coleus tuberosus* Benth.) In Vitro. *Laporan Teknik*, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Leksonowati, A. dan Witjaksono. 2011. Morfogenesis pada Daun, Tangkai Daun, dan Ruas Batang Kentang Hitam (*Solenostemon rotundifolius* (Poir) J. K. Morton) Secara In Vitro. *Berkala Penelitian Hayati*. 16: 161-167.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A Revised Medium For Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nkansah, G.O. 2004. *Solenostemon rotundifolius* (Poir.) J.K.Morton In: Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. (Editors). *PROTA 2: Vegetables/Légumes*. PROTA, Wageningen, Netherlands.
- Poerba, Y. S., A. Fajarudin dan Witjaksono. 2012. Persilangan Pisang Liar Diploid *Musa acuminata* Colla var. *malaccensis* (RIDL) Nasution Sebagai Sumber Polen dengan Pisang Madu Tetraploid. *Jurnal Biologi Indonesia* 8(1): 181-196.
- Prematilake, D. P. 2005. Inducing Genetic Variation of Innala (*Solanostemon rotundifolius*) Via In Vitro Callus Culture. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. 33:123-131.
- Ramulu, S. K., H. A. Verhoeven, P. Dijkhuis. 1991. Mitotic Blocking, Microtenucleation, and Chromosome Doubling by Oryzalin, Amiprofos-Methyl, and Colchicine In Potato. *Protoplasm* 160: 65-73.

- Stanys, V., A. Weckman, G. Stanienne and P. Duchovskis. 2006. In Vitro Induction of Polyploidy in Japanese Quince (*Chaenomeles japonica*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 84(3): 163-268.
- Suminah, Sutarno, A. D. Setyawan. 2002. Induksi Poliploidi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Biodiversitas* 3: 174-180.
- Suryo. 2007. *Sitogenetika*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. p 217-220.
- Thao, N. T. P., U. Kenji, M. Ikuo, O. Yukio, and O. Hiroshi. 2003. Induction of Tetraploids In Ornamental Alocasia Through Colchicine and Oryzalin Treatments. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72(1):19-25
- Van Duren, M., R. Morpurgo, J. Doleze and R. Afza. 1996. Induction and Verification of Autotetraploids in Diploid Banana (*Musa acuminata*) by In Vitro Techniques. *Euphytica* 88: 25-34.
- Viehmanna, I., E. F. Cusimamani, M. Bechyne, M. Vyvadilova, and M. Greplova. 2009. In Vitro Induction of Polyploidy in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 97: 21-25.
- Witjaksono dan A. Leksonowati. 2012. Tissue Culture Propagation of "Hausa potato" (*Solenostemon rotundifolius* (Poir.) JK Morton). *Annales Bogoriense* 16:1-8.
- Yamets, A. I. and Y. B. Blume. 2008. Progress in Plant Polyploidization Based on Antimicrotubular Drugs. *The Open Horticulture Journal* 1: 15-20.