



## EVALUASI PERTUMBUHAN, KANDUNGAN KLOOROFIL DAN KAROTENOID TORBANGUN (*Coleus amboinicus* Lour.) POLIPLIROID MELALUI KULTUR *IN VITRO*

### Evaluation of Growth, Chlorophyll and Carotenoids Content of Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour.) Polyploid through *In Vitro* Cultured

Evan Maulana<sup>1</sup>, Darda Efendi<sup>1</sup>, Laela Sari<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB University,  
Jl. Meranti, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Jawa Barat, Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Riset Bioteknologi OR-IPH, BRIN, Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong, 16911, Jawa Barat, Indonesia

\*Email: laelasari@yahoo.com

#### ABSTRACT

*Torbangun (Coleus amboinicus Lour.) is an important medical plant contains an active ingredient. The leaves contain phytochemical which influence to increase of milk production. torbangun was classified as a sterile seed thus this plant cannot be propagated by seed. The polyploid induction is one such approach that may introduce phenotypic characteristic lead to increase genetic diversity. This study aimed to evaluate the growth of torbangun polyploid explants through in vitro which cultured on Murashige and Skoog (MS) medium without PGR. The experiment used a completely randomized design with four replicates. Each replicate consisted of four explants. The parameters observed were shoot height, number of axillary shoots, leaves and roots recorded every week until the 8 weeks of culture. The results showed that torbangun polyploid (tetraploid) had higher growth (shoot height and leaves number) significantly compared to diploid (control) explants, while there were no significantly difference in the number of axillary shoots roots. The polyploid induction of torbangun enhanced the chlorophyll and carotenoids content.*

**Keywords:** *Coleus amboinicus Lour., polyploid, chlorophyll, carotenoids, in vitro*

#### ABSTRAK

Torbangun (*Coleus amboinicus Lour*) merupakan tanaman obat penting yang mengandung bahan aktif. Daunnya mengandung fitokimia yang berpengaruh terhadap peningkatan produksi susu. Torbangun tergolong benih mandul sehingga tanaman ini tidak dapat diperbanyak dengan biji. Induksi poliploid merupakan salah satu pendekatan yang dapat memperkenalkan sifat fenotipik yang dapat meningkatkan keragaman genetik. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pertumbuhan eksplan torbangun poliploid secara *in vitro* yang dikultur pada media Murashige dan Skoog (MS) tanpa ZPT. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat ulangan. Setiap ulangan terdiri dari empat eksplan. Parameter yang diamati adalah tinggi pucuk, jumlah tunas ketiak, daun dan akar dicatat setiap minggu sampai 8 minggu kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa poliploid (tetraploid) torbangun memiliki perbedaan pertumbuhan (tinggi tunas dan jumlah daun) yang lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan diploid (kontrol), sedangkan jumlah tunas ketiak akar tidak berbeda nyata. Induksi poliploid torbangun meningkatkan kandungan klorofil dan karotenoid.

**Kata Kunci:** *Coleus amboinicus Lour., poliploid, klorofil, karotenoid, in vitro*

## PENDAHULUAN

Torbangan (*Coleus amboinicus* Lour.) merupakan salah satu jenis tanaman lokal Indonesia yang sudah terbukti khasiatnya sebagai pelancar air susu ibu (ASI). Di Indonesia, khususnya di Sumatera Utara, daun torbangan dikonsumsi oleh para ibu setelah melahirkan dan menyusui. Menurut Santosa (2001), Damanik et al. (2006) serta Hutajulu dan Junaidi (2013), efek laktogogum yang dihasilkan dengan mengonsumsi daun torbangan mampu meningkatkan produksi ASI lebih banyak jika dibandingkan mengonsumsi suplemen pelancar ASI seperti produk A dengan komposisi placentar ekstrak 15 mg dan produk B dengan komposisi daun katuk 200 mg. Selain kuantitas, kualitas ASI yang dihasilkan oleh para ibu setelah mengonsumsi daun torbangan seperti kandungan zat besi, seng dan kalium lebih baik dibandingkan dengan para ibu yang mengonsumsi suplemen lain seperti produk-produk di atas. Hal ini terlihat dari berat bayi, panjang badan dan lingkar kepala bayi yang lebih tinggi pada ibu-ibu yang mengonsumsi daun torbangan dan menyusui anaknya, dibandingkan dengan yang mengonsumsi suplemen lainnya (Santosa 2001).

Daun torbangan mengandung berbagai senyawa penting, di antaranya berbagai zat gizi penting seperti protein, vitamin dan mineral, flavonoid dan senyawa lain yang bersifat laktogogum dan farmakoseutika. Senyawa laktogogum berupa *3-ethyl-3-hydroxy-5-alpha andostan-17-one*, *3,4-dimethyl-2-oxocyclopent-3-enylacetic acid*, *monomethyl succinate* dan *methylpyro glutamate*, senyawa sterol, steroid, asam lemak dan asam organik, sedangkan kandungan farmakoseutika berupa senyawa yang bersifat buffer, antibakterial, dan antioksidan (Tafzi et al. 2017, Khoerotunnisa et al. 2020). Daun torbangan mengandung zat gizi yang tinggi seperti protein, mineral, asam amino, tanin, besi dan karoten. Daun torbangan mengandung senyawa kimia carvacrol, thymol, humulene, undecanal, terpinene, cymene, caryophyllene oxide, terpineol dan selinene (Arjunan et al. 2012). Sebuah penelitian melaporkan bahwa flavonoid, quercetin dan kaempferol, ditemukan memiliki interaksi yang baik dalam merangsang produksi ASI (Khoerotunnisa et al. 2020). Fenolik, flavonoid, glikosida dan

komponen volatil merupakan komponen yang banyak dalam daun torbangan (Soni dan Singhai 2012)

Saat ini penelitian mengenai torbangan masih sebatas farmakologi (Hullatti dan Bhattacharjee 2011). Penelitian tentang teknik perbanyakan *in vitro* dan budidaya belum banyak dilakukan. Tanaman torbangan masih jarang dibudidayakan dan masih banyak dijumpai pada tempat terbuka seperti lereng berbatu, semak pesisir, ladang dan di pinggir hutan. Produksi tanaman segar tanpa pemupukan kompos lebih rendah pertumbuhannya. Pertumbuhan tanaman torbangan di Indonesia termasuk lambat sehingga pemanenan juga harus dilakukan pada umur tanaman yang lebih lama yaitu 4–5 bulan. Pertumbuhan tinggi, lebar tajuk dan jumlah tajuk tanaman torbangan yang lambat sampai minggu ke 19 di lapang. Upaya peningkatan pertumbuhan dan produksi daun torbangan telah dilakukan dengan pemupukan menggunakan pupuk kandang sapi, fosfat alam dan abu sekam padi dapat meningkatkan bobot basah pucuk 125,21% dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemupukan (Munawaroh dan Aziz 2013). Tanaman torbangan tidak dapat diperbanyak dengan biji karena biji dari tanaman torbangan tidak dapat berkecambah. Masyarakat di Indonesia pada umumnya melakukan perbanyakan secara vegetatif yaitu melalui stek batang. Perbanyakan tanaman menggunakan stek batang mengakibatkan sulitnya memperoleh kultivar-kultivar baru unggul sebagai sumber keragaman genetik. Peningkatan keragaman genetik torbangan dapat dilakukan dengan pemuliaan tanaman.

Pemuliaan tanaman untuk mendapatkan berbagai karakter unggul mensyaratkan tersedianya keragaman genetik. Keragaman genetik dapat diupayakan melalui hibridisasi (Setiawati et al. 2016), introduksi dan induksi mutasi. Pada tanaman torbangan, hibridisasi tidak dimungkinkan, karena bunganya steril. Peningkatan keragaman genetik pada berbagai tanaman telah dilaporkan oleh banyak peneliti, di antaranya induksi mutasi dengan irradiasi sinar gamma (Aisyah et al. 2015), pada torbangan dan nilam menggunakan kolkisin (Wibisono 2019), (Zuyasna et al. 2021), pada *Phalaenopsis* menggunakan *ethyl methane sulfonate*

(EMS) (Qosim et al. 2012), pada talas, pisang, kelor dan jati menggunakan orizalin (Poerba et al. 2014, Wulansari et al. 2016, Ridwan et al. 2018, Poerba et al. 2019, Ridwan dan Witjaksono 2020).

Teknik pemuliaan konvensional melalui hibridisasi memerlukan waktu yang cukup lama untuk memperoleh keragaman genetik sehingga salah satu teknik untuk mempersingkat waktu dilakukan induksi poliploid. Peningkatan mutu genetik tanaman torbangun dengan mutasi induksi poliploid diharapkan dapat meningkatkan kandungan bioaktif metabolit sekunder. Seperti pada mutasi irradiasi sinar gamma dapat meningkatkan kandungan DDMP dan stigmasterol (Aisyah et al. 2015). Pengaruh induksi mutasi dengan metode poliploidisasi terhadap kandungan bioaktif belum banyak dilakukan penelitian. Tanaman poliploid dari beberapa jenis tanaman mempunyai ukuran daun, batang, buah, dan bunga lebih besar dibandingkan dengan tanaman diploid. Perubahan jumlah kromosom akan mengubah sifat morfologi, anatomi, dan fisiologi sehingga meningkatkan keragaman genetik. Poliploid pada tumbuhan dapat terjadi secara alami maupun buatan. Salah satu teknik induksi poliploid buatan yang sering digunakan yaitu dengan menggunakan zat kimia seperti kolkisin, orizalin dan trifluralin (Gallone et al. 2014, Feng et al. 2017). Penggunaan senyawa anti mitotik orizalin untuk menggandakan kromosom telah dilakukan pada banyak spesies tanaman. Orizalin dapat digunakan sebagai senyawa alternatif untuk penggandaan kromosom dan memiliki sifat yang kurang toksik dibandingkan kolkisin (Miguel dan Leonhardt 2011). Orizalin memiliki daya afinitas yang kuat terhadap tubulin tanaman sehingga hanya memerlukan konsentrasi yang lebih rendah ( $\mu\text{M}$ ) untuk menginduksi tanaman poliploid (Gallone et al. 2014, Sattler et al. 2016). Induksi poliploid telah banyak dilakukan pada berbagai tanaman dengan tujuan antara lain sebagai sumber tetua untuk menghasilkan tanaman triploid tanpa biji dan peningkatan kualitas buah seperti pada jeruk (Kosmiatin dan Husni 2018) dan pisang (Kanchanapoom dan Koarapatchaikul 2012). Selain itu juga untuk meningkatkan jumlah biomassa (Wang et al. 2015, Corneillie et al. 2019) dan fitokimia pada tanaman obat-obatan seperti *Artemisia annua* (Rahman et

al. 2017) atau meningkatkan kadar protein, lemak, mineral (Ridwan dan Witjaksono 2020). Pada tanaman sumber pangan, induksi poliploid antara lain bertujuan untuk meningkatkan produktivitas hasil panen karena pada umumnya tanaman poliploid mempunyai ukuran daun, batang, bunga, dan buah yang lebih besar dibandingkan dengan tanaman diploidnya (Poerba et al. 2014, Wang et al. 2015, Corneillie et al. 2019). Diharapkan hasil induksi poliploid dengan orizalin pada tanaman torbangun diploid  $2n = 2x = 34$  dapat menghasilkan biomassa dan kandungan bioaktif yang lebih tinggi dibandingkan diploidnya.

Penelitian torbangun yang pernah dilaporkan melalui kultur jaringan baru pada tahap inisiasi (Noorrohmah et al. 2017), penggunaan jenis tutup tabung yang berbeda (Hapsari et al. 2018), pengaruh BAP, NAA, IAA terhadap pertumbuhan *in vitro* torbangun (Rahman et al. 2015), pengaruh sitokinin dengan elisitor kitosan, asam salisilat dan fenil alanine dapat meningkatkan kandungan metabolit sekunder torbangun (Govindaraju dan Arulselvi 2018), dan induksi kolkisin (Wibisono 2019). Penelitian evaluasi pertumbuhan torbangun hasil induksi poliploidisasi menggunakan orizalin belum pernah dilakukan sehingga penelitian ini diteliti lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pertumbuhan eksplan torbangun poliploid secara *in vitro* yang dikultur pada media Murashige dan Skoog (MS) tanpa ZPT dan mengetahui kandungan klorofil serta karotenoidnya.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2020–Januari 2021 di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Pusat Riset Bioteknologi OR-IPH, BRIN Cibinong Bogor.

Penelitian ini terdiri dari dua percobaan yaitu evaluasi pertumbuhan eksplan torbangun poliploid secara *in vitro* yang dikultur pada media Murashige dan Skoog (MS) tanpa ZPT dan mengetahui kandungan klorofil serta karotenoidnya.

### Bahan

Bahan eksplan yang digunakan untuk evaluasi pertumbuhan adalah tunas tanaman torbangun *in vitro* berumur 8 minggu dengan

tinggi sekitar 1 cm. Tanaman yang digunakan adalah torbangun kontrol (diploid) dan poliploid (hasil induksi orizalin). Media dasar Murashige dan Skoog (1962) tanpa zat pengatur tumbuh. Alat-alat yang digunakan adalah *laminar air flow cabinet*, pH meter, Flowsitometer (BD ACCURI<sup>+</sup>, USA).

### **Pertumbuhan tunas pada subkultur I–III**

Tunas *in vitro* yang tumbuh setelah perlakuan orizalin di subkultur kesatu sampai ketiga pada media MS dengan pemotongan tunas. Pengamatan dilakukan setiap minggu sampai enam minggu setelah tanam (MST) dari subkultur kesatu sampai subkultur ketiga. Parameter pertumbuhan yang diamati yaitu jumlah tinggi tunas, jumlah tunas aksilar, jumlah daun dan jumlah akar. Pengamatan jumlah tunas aksilar/tunas samping dilakukan dengan mengamati jumlah tunas samping yang muncul. Tinggi tunas diamati dengan cara mengukur tinggi tanaman dari atas media sampai ujung tunas. Jumlah daun diamati dengan cara menghitung jumlah daun yang hijau/segar saja, yang layu tidak dihitung. Jumlah akar diamati dengan cara menghitung akar yang baru muncul. Data dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) dan jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) taraf 5%.

### **Analisis tingkat ploidi**

Konfirmasi tingkat ploidi dilakukan terhadap tunas *in vitro* pada tiga kali subkultur dengan menggunakan flowsitometer (BD Accuri<sup>+</sup>, USA). Potongan daun berukuran sekitar 0,5 × 0,5 cm diletakkan di atas cawan petri kemudian ditetesi dengan 1,5 mL buffer CyStain UV Ploidi, kemudian dicacah hingga halus dengan silet. Cacahan daun disaring dengan saringan millipore 30 µm. Filtrat dimasukkan dalam tabung kuvet untuk dianalisis. Analisis dilakukan pada panjang gelombang 400 nm dan kecepatan 1000 nukleus per detik (Handayani et al. 2017). Daun tanaman torbangun diploid digunakan sebagai standar. Rerata kandungan DNA (*mean*) dan *coefficient of variation* (CV) dari tiap-tiap sampel pada setiap puncak diamati dan dibandingkan dengan tanaman kontrol (diploid). Tingkat ploidi tanaman ditentukan sesuai dengan kelipatan rata-rata jumlah kandungan DNA, berdasarkan histogram

yang muncul dari hasil analisis menggunakan flowsitometer

### **Pemurnian klon**

Tunas yang sudah mempunyai nomor klon (hasil subkultur ketiga), diambil satu tanaman tiap klon kemudian dipotong menjadi beberapa bagian menurut jumlah buku yang ada. Tiap buku ditanam pada media MS (subkultur keempat). Kemudian tunas torbangun subkultur ketiga diberi kode abjad dibelakang nomor klon dari A sampai Z. Sehingga tiap klon tanaman torbangun berjumlah 26 nomor. Setelah tunas berumur enam minggu, tiap 26 nomor klon tersebut kemudian dimurnikan kembali dengan mengambil satu tanaman tiap nomor klon dan dipotong tiap buku serta ditanam kembali ke media MS (subkultur kelima). Tunas dipelihara di dalam ruang inkubasi pada suhu 25–26 °C dengan pencahayaan kontinyu (intensitas cahaya 1000 lux). Selanjutnya hasil dari subkultur kelima dianalisis tingkat ploidinya.

### **Evaluasi pertumbuhan tunas pada subkultur VI**

Tunas dari enam nomor klon yang terpilih (Klon 332 Z, 333 M, 513 K, 332 O, 333 F dan 513 W) dan 1 klon diploid (kontrol), digunakan sebagai eksplan tunas untuk ditanam pada media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dengan 4 ulangan (botol) dan unit pengamatannya berupa 1 botol (tinggi 11,5 cm × diameter 6,5 cm) berisi 4 eksplan tunas sehingga tiap klon ada 16 tunas yang diamati. Percobaan menggunakan rancangan penelitian RAL (rancangan acak lengkap) satu faktorial, yaitu klon. Parameter pengamatan dilakukan terhadap tinggi tunas, jumlah daun, jumlah tunas aksilar dan jumlah akar setiap minggu dari minggu kesatu sampai minggu kedelapan. Data dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) dan jika berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) taraf 5%.

### **Analisis kandungan klorofil dan karotenoid**

Sampel daun klon 332 Z, 333 M, 513 K, 332 O, 333 F, 513 W dan kontrol diploid umur 12 minggu setelah tanam diambil masing-masing sebanyak 0,2 g selanjutnya digerus dan dilarutkan dengan 10 mL aseton 80%. Sampel disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm. Filtrat dipisahkan dari endapan. Filtrat diukur absorbansi pada 480 nm, 645 dan 663

nm untuk mengukur kandungan klorofil dan karotenoid (Arumingtyas et al. 2018).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

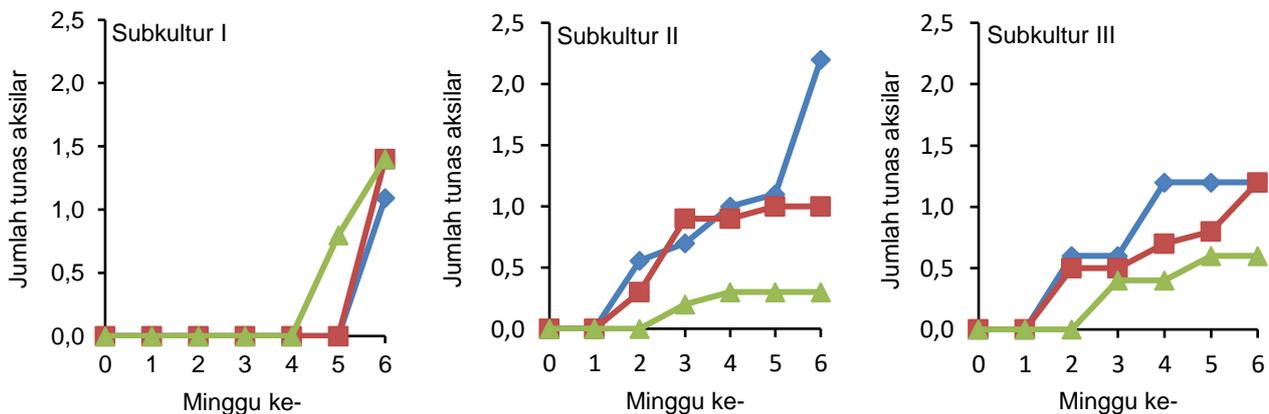
### Jumlah tunas aksilar

Pertumbuhan jumlah tunas aksilar hasil perlakuan orizalin subkultur kesatu sampai ketiga selama enam minggu dapat dilihat pada Gambar 1. Pengamatan menunjukkan bahwa respons pertumbuhan eksplan yang ditanam pada media MS tanpa penambahan ZPT sebagian besar menghasilkan tunas aksilar. Pada subkultur kesatu tampak bahwa perlakuan orizalin menghasilkan pola pertumbuhan yang sama hingga minggu keempat. Setelah minggu kelima sampai keenam terjadi perbedaan pola pertumbuhan jumlah tunas aksilar. Pada subkultur kedua, perlakuan orizalin menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda, dimana tanaman kontrol memiliki jumlah tunas aksilar lebih banyak dibandingkan dengan tanaman hasil perlakuan orizalin 30 dan 60  $\mu\text{M}$  (Gambar 1).

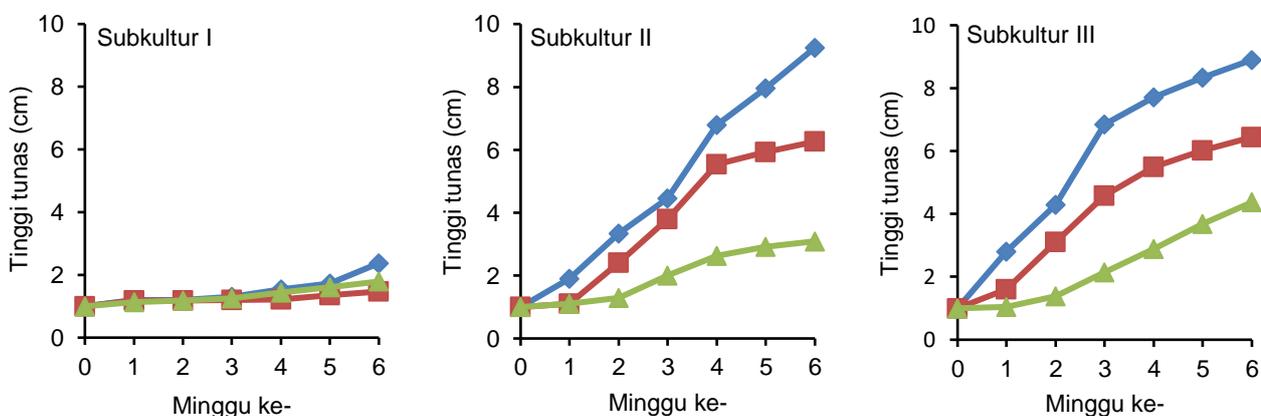
Pada subkultur ketiga jumlah tunas aksilar paling banyak pada tanaman kontrol dan tanaman hasil perlakuan orizalin 30  $\mu\text{M}$ , dibandingkan tanaman hasil perlakuan orizalin 60  $\mu\text{M}$ . Pada subkultur ketiga tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi orizalin maka jumlah tunas aksilar semakin rendah.

### Tinggi tunas

Pertumbuhan tinggi tunas hasil perlakuan orizalin dapat dilihat pada Gambar 2. Tampak bahwa perlakuan orizalin 30  $\mu\text{M}$  dan 60  $\mu\text{M}$  menghasilkan pertumbuhan tinggi tunas yang rendah dibandingkan dengan tanaman kontrol. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Wulansari et al. (2016) yang mendapatkan panjang petiol tanaman talas Bentul hasil perlakuan orizalin lebih pendek dibandingkan dengan panjang petiol tanaman kontrol (tanpa perlakuan orizalin). Pada subkultur kesatu, tinggi tunas pada perlakuan orizalin 30, 60  $\mu\text{M}$  serta kontrol belum berkembang dan tidak berbeda nyata. Selanjutnya pada subkultur kedua dan ketiga,



**Gambar 1.** Pertumbuhan jumlah tunas aksilar hasil induksi poliploid menggunakan orizalin subkultur kesatu, kedua, dan ketiga selama 6 minggu (—◆— Orizalin 0; —■— Orizalin 30; —▲— Orizalin 60)



**Gambar 2.** Pertumbuhan tinggi tunas hasil induksi poliploid menggunakan orizalin subkultur kesatu, kedua, dan ketiga selama 6 minggu (—◆— Orizalin 0; —■— Orizalin 30; —▲— Orizalin 60)

tanaman kontrol memiliki tinggi tunas lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan orizalin. Pada parameter tinggi tunas *in vitro*, semakin tinggi konsentrasi orizalin maka rerata peningkatan tinggi tunas semakin menurun.

**Jumlah daun**

Pertambahan jumlah daun hasil perlakuan orizalin dari subkultur kesatu hingga ketiga selama enam minggu dapat dilihat pada Gambar 3. Tunas tanaman kontrol menghasilkan pertambahan jumlah daun yang tertinggi dibandingkan dengan tanaman hasil induksi orizalin. Perlakuan orizalin 60 µM menghasilkan pertambahan jumlah daun yang paling sedikit. Rerata jumlah daun menunjukkan penurunan dengan semakin meningkatnya konsentrasi orizalin.

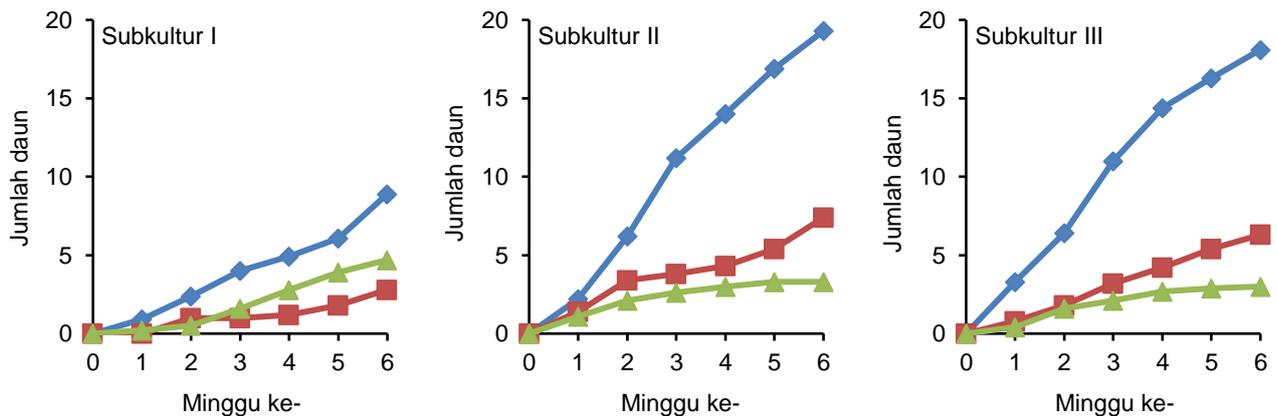
**Jumlah akar**

Pertumbuhan jumlah akar pada tunas kontrol dan hasil perlakuan orizalin dapat dilihat pada Gambar 4. Pada tunas kontrol,

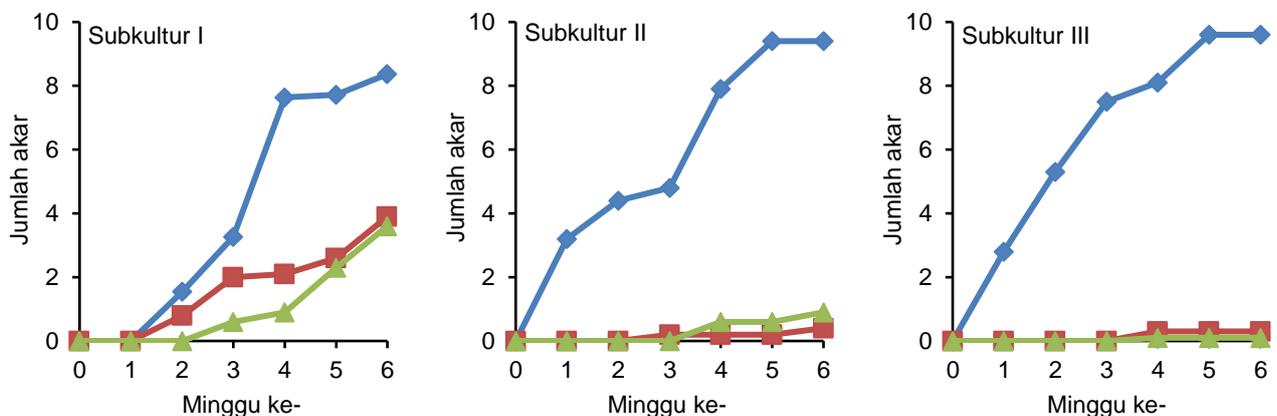
pertumbuhan jumlah akar memiliki pola yang sama semua level subkultur. Jumlah akar terus meningkat tajam hingga minggu kelima. Sebaliknya pada tunas hasil perlakuan orizalin, jumlah akar sedikit meningkat pada subkultur pertama. Namun perakaran tidak berkembang dan jumlahnya tidak bertambah pada subkultur kedua dan ketiga. Rerata jumlah akar tampak kecenderungan menurun dengan meningkatnya konsentrasi orizalin. Diduga perlakuan orizalin menghambat pertumbuhan perakaran. Hasil yang diperoleh pada studi ini serupa dengan penelitian Ermayanti et al. (2018) pada talas kultivar Kaliurang yang jumlah akar semakin menurun dengan bertambahnya konsentrasi kolkisin, dan serupa juga dengan penelitian Wulansari et al. (2016), jumlah akar talas Bentul hasil perlakuan orizalin lebih sedikit dibanding dengan tanaman kontrol.

**Tingkat ploidi**

Setelah subkultur ketiga, tunas yang berhasil hidup dan berkesinambungan



**Gambar 3.** Pertumbuhan jumlah daun hasil induksi poliploid menggunakan orizalin subkultur kesatu, kedua dan ketiga selama 6 minggu (♦ Orizalin 0; ■ Orizalin 30; ▲ Orizalin 60)



**Gambar 4.** Pertumbuhan jumlah akar hasil induksi poliploid menggunakan orizalin subkultur kesatu, kedua dan ketiga selama 6 minggu (♦ Orizalin 0; ■ Orizalin 30; ▲ Orizalin 60)

**Tabel 1.** Nilai hasil pengukuran tingkat ploidi tanaman torbangun kontrol dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin subkultur ketiga dengan menggunakan flowsitometer

Klon	Nilai Mean-X Peak (ukuran channel)	Nilai CV (Coefisien of Variant) (%)
Kontrol	106,05	4,02
332	189,13	4,32
511	155,41	8,59

tumbuhnya ada dua nomor tunas (no. 3 dan 5) dari 15 tunas yang diinduksi. Tunas no 3 menjadi tiga klon, dan tunas no 5 menjadi tiga klon. Dari dua tunas tersebut berkembang menjadi enam klon dari induksi orizalin konsentrasi 60 µM yaitu 331, 332, 333, 511, 512, dan 513. Sedangkan klon induksi poliploid menggunakan orizalin konsentrasi 30 uM tidak bertahan hidup karena kontaminasi jamur. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini mirip dengan penelitian Wulansari et al. (2016) yang menghasilkan perlakuan orizalin yang efisien dalam dalam menghasilkan tetraploid adalah perlakuan pada konsentrasi 60 µM menghasilkan 50% tunas tetraploid. Selanjutnya keenam klon tersebut diperbanyak untuk penelitian berikutnya.

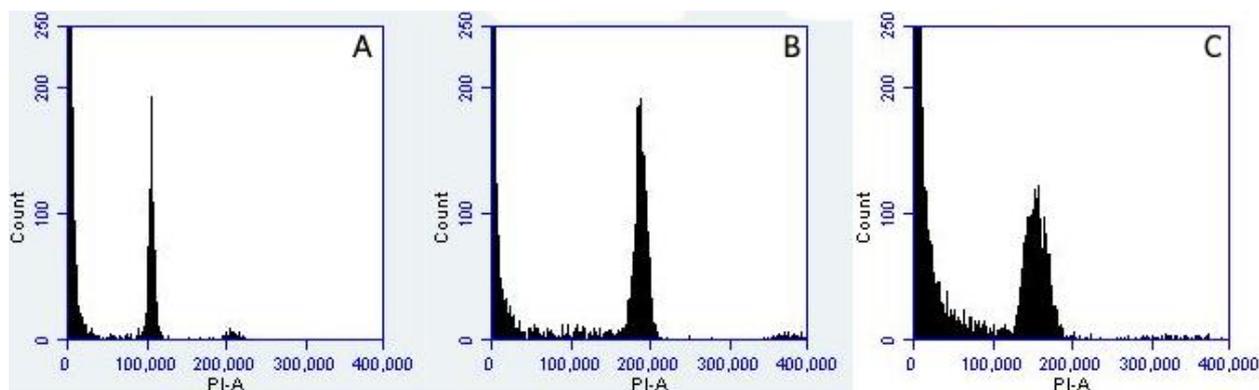
Hasil pengukuran flowsitometer (Tabel 1) dengan contoh grafik analisa pada Gambar 5, menunjukkan ukuran *peak* untuk tanaman torbangun diploid berkisar pada *channel* 106,05, klon 332 pada *channel* 189,13 dan klon 511 berkisar pada *channel* 155,41. Koefisien keragaman (CV%) pada tanaman torbangun diploid berkisar sebesar 4,02%, klon 332 berkisar sebesar 4,32% dan klon 511 berkisar 8,59%. Hasil klon 332 menunjukkan jumlah ploidi kurang lebih dua kali dari tanaman kontrol sehingga bisa dinamakan tanaman tetraploid, sedangkan pada klon 511 dapat dinamakan tanaman

triploid karena nilai ukuran *peak*-nya satu setengah dari ukuran diploid (Gambar 5).

Damanhuri dan Adiredjo (2018) menyatakan bahwa kerusakan fisiologis hanya terjadi pada generasi pertama dari tanaman yang diberi perlakuan mutagen, sedangkan anakan selanjutnya tampak tumbuh lebih baik. Oleh karena itu, pengamatan karakter morfologi lanjutan sampai beberapa generasi terhadap tunas torbangun sampai subkultur keenam yang diduga poliploid diperlukan untuk mengetahui pertumbuhan fenotip dari torbangun poliploid setelah induksi dengan orizalin.

### Tingkat ploidi klon hasil subkultur IV–V

Enam klon yaitu 331, 332, 333, 511, 512, dan 513 yang telah dimurnikan (*line*) pada subkultur keempat sampai subkultur kelima (subkultur keempat ada 26 klon (A sampai Z) yang diperoleh dari setiap klon) sehingga semua ada 156 klon. Tunas disubkultur kembali dengan cara mengambil satu tanaman kemudian dipotong beberapa bagian menurut jumlah buku yang ada dan ditanam pada media MS. Setelah tunas berumur enam minggu kemudian dimurnikan kembali dengan mengambil satu tanaman tiap klon dan dipotong tiap buku serta ditanam kembali ke media MS untuk subkultur kelima. Pada subkultur kelima ini hanya ada 24 klon dari 156 klon karena tidak semua bisa bertahan hidup. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan hidup klon tersebut seperti kontaminasi, tanaman layu, tanaman tidak tumbuh dan mati. Tunas yang bertahan hidup dipelihara di dalam ruang inkubasi pada suhu 25–26 °C dengan pencahayaan kontinyu (intensitas cahaya 1000 lux). Selanjutnya hasil dari subkultur kelima dianalisis tingkat ploidinya.



**Gambar 5.** Histogram flowsitometer tunas torbangun kontrol (diploid) dan hasil induksi polyloid menggunakan orizalin (A. kontrol, B. klon 332, C. klon 511)

**Tabel 2.** Nilai hasil pengukuran tingkat ploidi tanaman torbangun kontrol dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin subkultur ke 5 dengan menggunakan flowsitometer

No	Klon	Nilai Mean	Nilai CV (%)	Tingkat Ploidi	Ketegaran
1	Kontrol	80,27	4,84	Diploid	+++
2	331 O	103,76	13,70	Triploid	++++
3	331 R	134,70	9,21	Tetraploid	++++
4	331 S	152,36	6,86	Tetraploid	++++
5	331 Z	170,20	5,47	Tetraploid	++++
6	332 T	65,68	8,85	Diploid	+++
7	332 Z	117,72	9,75	Triploid	+++++
8	332 O	148,50	8,47	Tetraploid	+++++
9	332 E	161,96	7,08	Tetraploid	++++
10	333 Y	80,69	19,57	Diploid	++
11	333 M	123,94	10,32	Triploid	+++++
12	333 U	129,29	10,32	Triploid	+++
13	333 F	159,54	6,37	Tetraploid	+++++
14	511 X	118,65	10,78	Triploid	++
15	511 J	123,92	10,30	Triploid	+++
16	511 D	152,69	10,66	Tetraploid	++++
17	511 S	157,51	7,26	Tetraploid	++++
18	512 M	94,57	19,9	Diploid	++
19	512 U	115,77	20,15	Triploid	+++
20	512 P	133,46	8,93	Triploid	+++
21	512 R	145,76	7,76	Tetraploid	+++
22	513 F	98,01	11,13	Diploid	+++
23	513 C	140,45	7,8	Triploid	+++
24	513 K	143,97	9,61	Triploid	+++++
25	513 W	159,72	9,26	Tetraploid	+++++

Hasil pengukuran flowsitometer dari klon subkultur kelima ditampilkan pada Tabel 2. Tampak bahwa ukuran *peak* untuk tanaman torbangun diploid berkisar pada *channel* 80,27. Koefisien keragaman (CV%) pada tanaman torbangun diploid mempunyai nilai sebesar 4,84%. Nilai ukuran *peak* dari klon-klon berkisar antara 65,68 hingga 170,20 dengan nilai CV sekitar 5,47 hingga 20,15.

Hasil dari analisis flowsitometer ini sangat beragam dari perlakuan orizalin memberikan pengaruh acak dalam menginduksi mutasi, sehingga dalam penelitian ini ditemukan individu tunas poliploid (tetraploid), triploid maupun tunas yang tetap bersifat diploid. Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Poerba et al. (2014) dan Poerba et al. (2016) yang menghasilkan keragaman tanaman pisang setelah diinduksi dengan orizalin yaitu 31–65% diploid, 69% triploid, 30% tetraploid, dan 5% mixoploid. Tanaman poliploid biasanya memiliki sifat lebih unggul dibandingkan dengan tanaman diploid (kontrol). Ukuran

batang, daun, bunga, buah dan biji yang lebih besar umum ditemukan pada tanaman poliploid sehingga mutasi melalui poliploidisasi menjadi salah satu alternatif untuk usaha perbaikan genetik. Penggunaan orizalin yang dilakukan pada tunas torbangun sebagai senyawa antimetabolit dapat menjadi salah satu pilihan selain kolkisin yang lebih toksik dan berbahaya bagi kesehatan manusia (Dhooghe et al. 2011). Menurut Ermayanti et al. (2018) penggunaan kolkisin atau orizalin pada tanaman talas menghasilkan tanaman poliploid yang tidak berbeda nyata, artinya senyawa tersebut memiliki potensi yang serupa dalam menghasilkan tanaman poliploid.

#### Evaluasi pertumbuhan pada subkultur VI

Berdasarkan Tabel 2, ada enam klon yang dipilih untuk evaluasi pertumbuhan berdasarkan dari ketegaran tanaman tersebut. Hasil pengamatan secara visual yaitu ketegaran tanaman tersebut adalah klon 513 K, 513 W, 333 M, 332 Z, 333 F, dan 332 O.

Analisis statistik terhadap nilai rata-rata jumlah tunas aksilar, tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar tanaman torbangun kontrol dan klon poliploid pada minggu kedelapan menunjukkan berbeda nyata antara tanaman kontrol dan klon poliploid (Gambar 6 dan Tabel 3). Pengamatan jumlah tunas aksilar torbangun selama delapan minggu setelah tanam (MST) menunjukkan bahwa respons pertumbuhan eksplan yang ditanam pada media MS tanpa penambahan ZPT sebagian besar tidak menghasilkan tunas aksilar, hanya tumbuh menjadi tunas tunggal. Jumlah tunas aksilar pada perlakuan tersebut baru muncul pada minggu ketiga dan tunas aksilar tertinggi adalah klon 513 W yang merupakan tanaman tetraploid (Gambar 6). Klon 513 W mengalami peningkatan jumlah tunas aksilar, hal ini diduga karena jumlah ploidinya lebih banyak dibandingkan kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman torbangun diploid (kontrol) dan hasil induksi orizalin (enam klon) mempunyai hasil yang berbeda pada tinggi tunas dan jumlah daun. Sedangkan pada jumlah tunas aksilar dan jumlah akar tidak ada perbedaan (Tabel 3).

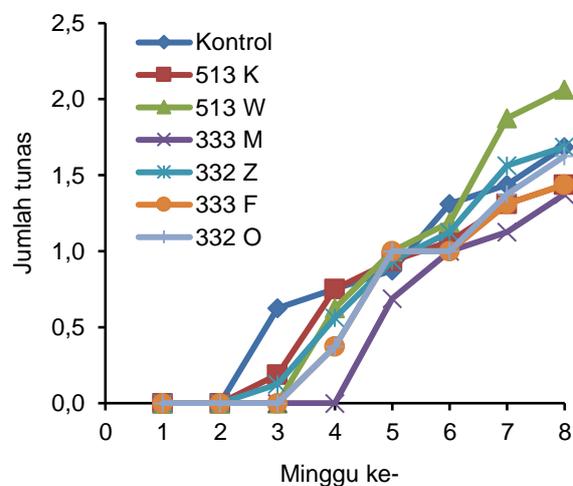
Pengamatan terhadap tinggi tunas menunjukkan bahwa pada tiap klon tanpa penambahan ZPT terjadi peningkatan tinggi tunas mulai dari minggu kedua sampai minggu kedelapan. Klon 332 Z pada media MS menunjukkan nilai rata-rata lebih tinggi pada minggu kedelapan dibandingkan dengan klon lainnya (Gambar 7). Pertumbuhan tinggi tunas pada tanaman kontrol lebih lambat dibandingkan tanaman yang sudah diinduksi orizalin. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini memiliki pola yang sama dengan hasil penelitian Ermayanti et al. (2014) bahwa tinggi tunas tanaman kontrol *Artemisia annua* L. lebih pendek dibandingkan tanaman yang diinduksi orizalin 7,5 dan 30 µM.

Jumlah daun pada media MS mulai tumbuh pada minggu kedua dan meningkat terus hingga minggu kedelapan (Gambar 8). Klon 513 W menghasilkan jumlah daun terbanyak dibandingkan dengan kontrol dan klon lainnya. Pada minggu keempat klon 513 W menunjukkan rata-rata jumlah daun yang meningkat pesat sampai minggu kedelapan. Hasil ini serupa dengan penelitian Ermayanti et al. (2014) yang menyatakan jumlah daun *Artemisia annua* L. hasil induksi orizalin 15 dan 30 µM mempunyai jumlah daun yang lebih

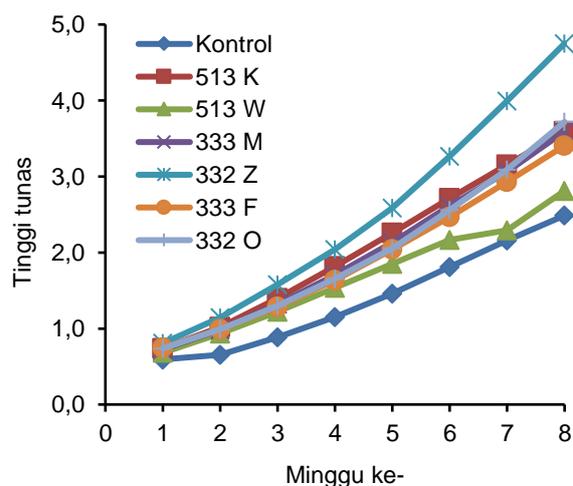
**Tabel 3.** Jumlah tunas aksilar, tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar klon torbangun umur 8 minggu pada media MS subkultur keenam

Klon	Jumlah Tunas Aksilar	Tinggi Tunas (cm)	Jumlah Daun	Jumlah Akar
Kontrol	1,69 <sup>a</sup>	2,49 <sup>a</sup>	9,69 <sup>a</sup>	6,31 <sup>a</sup>
513 K	1,44 <sup>a</sup>	3,59 <sup>b</sup>	7,31 <sup>a</sup>	4,12 <sup>a</sup>
513 W	2,06 <sup>a</sup>	2,81 <sup>a</sup>	16,63 <sup>b</sup>	5,75 <sup>a</sup>
333 M	1,38 <sup>a</sup>	3,59 <sup>b</sup>	8,87 <sup>a</sup>	5,75 <sup>a</sup>
332 Z	1,69 <sup>a</sup>	4,75 <sup>b</sup>	13,06 <sup>b</sup>	6,44 <sup>a</sup>
333 F	1,44 <sup>a</sup>	3,41 <sup>b</sup>	9,00 <sup>a</sup>	4,38 <sup>a</sup>
332 O	1,63 <sup>a</sup>	3,72 <sup>b</sup>	10,81 <sup>a</sup>	3,19 <sup>a</sup>

Keterangan:  
Perbedaan huruf dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan DMRT

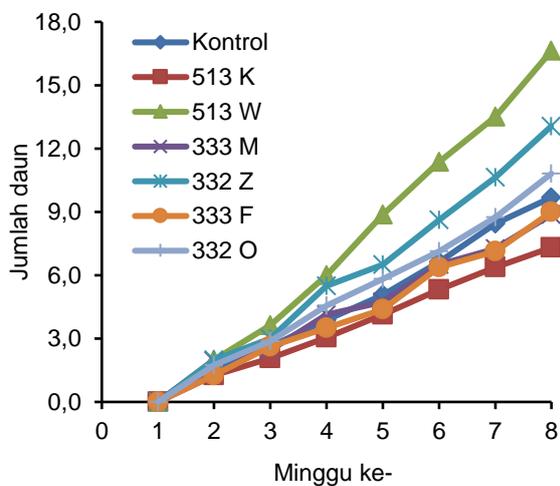


**Gambar 6.** Jumlah tunas aksilar tanaman torbangun kontrol dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin klon 513 K, 513 W, 333 M, 332 Z, 333 F, 332 O pada media MS umur 1-8 minggu

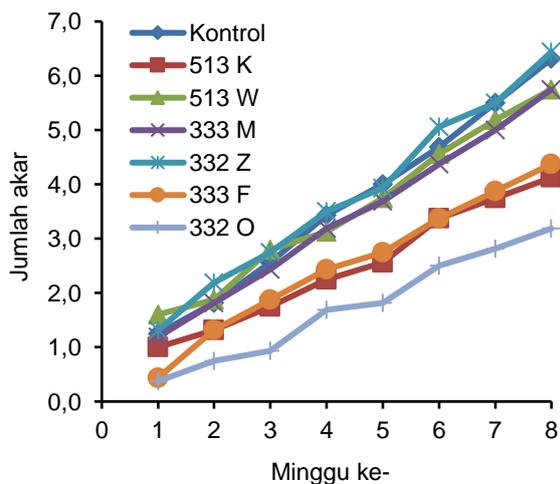


**Gambar 7.** Tinggi tunas tanaman torbangun kontrol dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin klon 513 K, 513 W, 333 M, 332 Z, 333 F, 332 O pada media MS umur 1-8 minggu

banyak daripada tanaman kontrol. Banyaknya jumlah daun ini juga berkorelasi positif dengan banyaknya jumlah tunas aksilar yang terbentuk. Semakin banyak terbentuknya tunas aksilar maka semakin banyak pula jumlah daun yang dihasilkan pada tanaman. Klon 513 W yang mempunyai jumlah tunas aksilar tertinggi (2,06) dibandingkan dengan klon lainnya, sehingga klon 513 W mempunyai jumlah daun terbanyak. Penelitian ini berkesinambungan dengan hasil Liu et al. (2011) yang menyatakan bahwa poliploidisasi menghasilkan tanaman dengan karakteristik morfologi yang lebih banyak jumlahnya dan besar ukurannya.

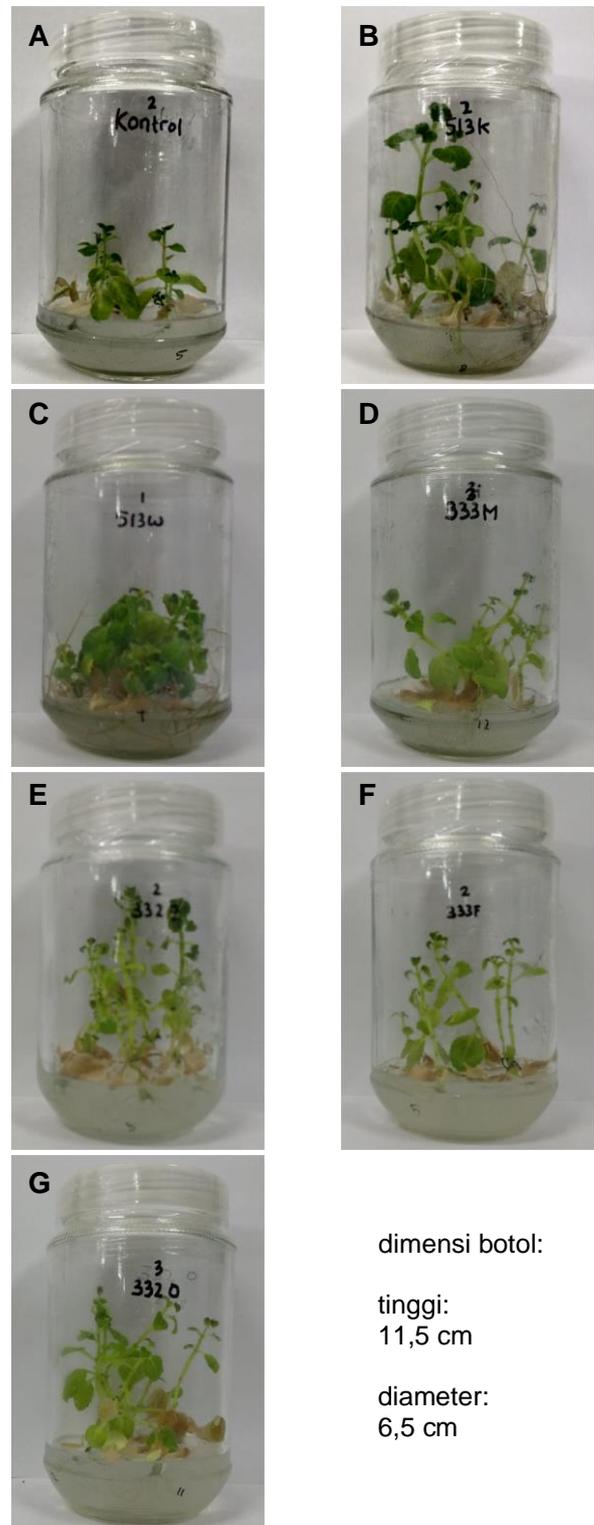


**Gambar 8.** Jumlah daun tanaman torbangun kontrol dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin klon 513 K, 513 W, 333 M, 332 Z, 333 F, 332 O pada media MS umur 1-8 minggu



**Gambar 9.** Jumlah akar tunas tanaman torbangun kontrol dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin klon 513 K, 513 W, 333 M, 332 Z, 333 F, 332 O pada media MS umur 1-8 minggu

Morfologi tunas *in vitro* umur 8 minggu ditunjukkan pada Gambar 10. Pengamatan terhadap jumlah akar pada media MS menunjukkan bahwa nilai rata-rata meningkat



**Gambar 10.** Pertumbuhan tunas *in vitro* umur 8 minggu setelah perlakuan induksi poliploid menggunakan orizalin (A. kontrol/diploid, B. klon 513 K, C. klon 513 W, D. klon 333 M, E. klon 332 Z, F. klon 333 F, G. klon 332 O)

**Tabel 4.** Hasil analisis klorofil daun torbangun diploid dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin (513 K, 513 W, 333 M, 332 Z, 333 F dan 332 O)

Perlakuan	Klorofil A (mg L <sup>-1</sup> )	Klorofil B (mg L <sup>-1</sup> )	Total Klorofil (mg L <sup>-1</sup> )	Volume (L)	Bobot (g)	Total Klorofil (mg g <sup>-1</sup> )	BM Klorofil (g mol <sup>-1</sup> )	Total Klorofil (μmol g <sup>-1</sup> )
Kontrol	10,9210	5,3963	16,3173	0,01	0,2008	0,8126	893,5	0,9095
513 K	14,1511	9,7562	23,9074	0,01	0,2012	1,1882	893,5	1,3299
513 W	14,3508	8,4704	22,8211	0,01	0,2010	1,1354	893,5	1,2707
333 M	14,5682	10,8951	25,4633	0,01	0,2008	1,2681	893,5	1,4192
332 Z	15,1391	6,0693	21,2084	0,01	0,2104	1,0080	893,5	1,1282
333 F	16,8941	9,0229	25,9171	0,01	0,2109	1,2289	893,5	1,3754
332 O	14,7761	5,6773	20,4534	0,01	0,2110	0,9694	893,5	1,0849

**Tabel 5.** Hasil analisis karotenoid daun torbangun diploid dan hasil induksi polyploid menggunakan orizalin (513 K, 513 W, 333 M, 332 Z, 333 F dan 332 O)

Perlakuan	Total Karotenoid (mg L <sup>-1</sup> )	Volume (L)	Bobot (g)	Total Karotenoid (mg g <sup>-1</sup> )	BM Karotenoid (g mol <sup>-1</sup> )	Total Karotenoid (μmol g <sup>-1</sup> )
Kontrol	0,5237	0,01	0,2008	0,0261	112,5	0,2318
513 K	0,6839	0,01	0,2012	0,0340	112,5	0,3021
513 W	0,6910	0,01	0,2010	0,0344	112,5	0,3056
333 M	0,7168	0,01	0,2008	0,0357	112,5	0,3173
332 Z	0,6762	0,01	0,2104	0,0321	112,5	0,2857
333 F	0,8147	0,01	0,2109	0,0386	112,5	0,3434
332 O	0,7263	0,01	0,2110	0,0344	112,5	0,3060

pesat mulai dari minggu pertama sampai minggu kedelapan. Namun cenderung tetap pada minggu ketujuh sampai minggu kedelapan (Gambar 9). Setiap klon dari minggu pertama sampai kedelapan menunjukkan perbedaan pada jumlah akar. Pertumbuhan akar pada tunas hasil induksi orizalin lebih lambat dibandingkan dengan tanaman kontrol. Rata-rata jumlah akar tunas kontrol dan tunas hasil perendaman orizalin yaitu 3,19 sampai 6,44 (Tabel 3). Penelitian Wulansari et al. (2016) yang menghasilkan jumlah akar talas Bentul hasil induksi orizalin lebih lambat dibandingkan tanaman kontrol. Banyaknya jumlah akar pada media MS tanpa ZPT kemungkinan diduga tanaman torbangun memiliki zat pengatur tumbuh auksin endogen.

#### Kandungan klorofil dan karotenoid

Hasil analisis klorofil daun torbangun kontrol (diploid), dan klon 332 Z, 333 M, 513 K, 332 O, 333 F, 513 W dapat dilihat pada Tabel 4. Parameter ini menunjukkan kandungan klorofil yang berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan melalui

proses fotosintesis. Hasil analisis klorofil daun torbangun diploid mempunyai nilai lebih rendah dibandingkan klon hasil induksi poliploid menggunakan orizalin. Nilai tertinggi total klorofil terdapat pada klon 333 M, yang mana klon tersebut merupakan tanaman poliploid. Menurut Liu et al. (2011) bahwa tanaman poliploid dari poliploidisasi adalah untuk menghasilkan tanaman dengan karakteristik morfologi yang lebih besar. Tanaman poliploid mempunyai morfologi yang besar maka kandungan klorofil dan karotenoid juga lebih banyak. Kandungan klorofil pada daun akan mempengaruhi reaksi fotosintesis. Kadar klorofil yang sedikit tentu tidak akan menjadikan reaksi fotosintesis maksimal. Menurut Nurcahyani et al. (2020), ketika reaksi fotosintesis tidak maksimal, senyawa karbohidrat yang dihasilkan juga tidak bisa maksimal. Cahaya matahari dan kondisi lingkungan yang memadai tidak hanya mendukung proses fotosintesis, tetapi juga pembentukan klorofil. Sehingga diharapkan tanaman poliploid mempunyai

kandungan klorofil dan karotenoid yang lebih tinggi daripada tanaman control (diploid).

Hasil analisis dalam penelitian ini membuktikan bahwa karotenoid pada tanaman torbangun kontrol mempunyai nilai yang lebih rendah, 0,5 mg L<sup>-1</sup>, dibandingkan dengan tanaman torbangun hasil induksi poliploid, yaitu 0,6 mg L<sup>-1</sup> (Tabel 5). Kandungan karotenoid merupakan parameter yang menunjukkan kandungan karotenoid yang berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan melalui proses fotosintesis. Selain klorofil, karotenoid juga sangat bermanfaat bagi tubuh manusia.

## KESIMPULAN

Tanaman torbangun diploid (kontrol) dan hasil induksi poliploid menggunakan orizalin (enam klon) mempunyai hasil yang berbeda pada tinggi tunas dan jumlah daun sedangkan pada jumlah tunas aksilar dan jumlah akar tidak ada perbedaan. Analisis klorofil dan karotenoid pada torbangun hasil induksi menggunakan orizalin mempunyai nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman diploid.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada ibu Meta Irlianty, atas bantuannya dalam penelitian di laboratorium. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada bapak Erwin Al-Hafizh, M.Si dari Pusat Riset Bioteknologi OR-IPH BRIN atas bantuan teknisnya dalam analisis flowsitometer.

## DAFTAR PUSTAKA

Aisyah SI, Marthin Y, Damanik MRM (2015) Improving performance of *Coleus* through mutation induction by gamma ray irradiation. *J Trop Crop Sc* 2: 26–32. doi: 10.29244/jtcs.2.1.26-32

Arjunan N, Murugan K, Madhiyazhagan P, Kovendan K, Prasannakumar K, Thangamani S, Barnard DR (2012) Mosquitocidal and water purification properties of *Cynodon dactylon*, *Aloe vera*, *Hemidesmus indicus* and *Coleus amboinicus* leaf extracts against the mosquito vectors. *Parasitol Res* 110: 1435–1443. doi: 10.1007/s00436-011-2646-3

Arumingtyas EL, Kusnadi J, Mastuti R, Paradise NS (2018) The effect of ethyl methane sulfonate on the antioxidant content of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). The 9th International Conference on Global Resource Conservation (ICGRC) and AJI from Ritsumeikan University AIP Conf Proc 2019: 020010. doi: 10.1063/1.5061846

Corneillie S, De Storme N, Van Acker R, Fangel JU, De Bruyne M, De Rycke RM, Geelen DNV, Willats WGT, Vanholme B, Boerjan WA (2019) Polyploidy affects plant growth and alters cell wall composition. *Plant Physiol* 179: 74–87. doi: 10.1104/pp.18.00967

Damanhuri, Adiredjo AL (2018) Genetic variability of M2 population obtained from colchicine mutation in black rice (*Oryza sativa* L.). *J Agron* 17: 234–240. doi: 10.3923/ja.2018.234.240

Damanik R, Wahlqvist ML, Watanapenpaiboon N (2006) Lactagogue effects of torbangun, a Batakese traditional cuisine. *Asia Pac J Clin Nutr* 15: 267–274. PMID: 16672214

Dhooghe E, Van Laere K, Eeckhaut T, Leus L, Van Huylenbroeck J (2011) Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro*. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 104: 359–373. doi: 10.1007/s11240-010-9786-5

Ermayanti TM, Hafizh EA, Martin AF, Rantau DE (2014) Induksi tanaman poliploid *Artemisia annua* L. secara *in vitro* dengan perlakuan konsentrasi dan lama perendaman orizalin. Prosiding Seminar Nasional XVII “Kimia dalam Pembangunan”. Yogyakarta 19 Juni 2014. Hal 1–8

Ermayanti TM, Wijayanta AN, Ratnadewi D (2018) Induksi poliploidi pada tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Kultivar Kaliurang dengan perlakuan kolkisin secara *in vitro*. *J Biol Indones* 14: 91–102. doi: 10.14203/jbi.v14i1.3667

Feng H, Wang ML, Cong RC, Dai SL (2017) Colchicine- and trifluralin-mediated polyploidization of *Rosa multiflora* Thunb. var. *inermis* and *Rosa roxburghii* f. *normalis*. *J Hort Sci Biotechnol* 92: 279–287. doi: 10.1080/14620316.2016.1249964

- Gallone A, Hunter A, Douglas GC (2014) Polyploid induction *in vitro* using colchicine and oryzalin on Hebe 'Oratia Beauty': Production and characterization of the vegetative traits. *Sci Hortic* 179: 59–66. doi: 10.1016/j.scienta.2014.09.014
- Govindaraju S, Arulselvi PI (2018) Characterization of *Coleus aromaticus* essential oil and its major constituent carvacrol for *In vitro* antidiabetic and antiproliferative activities. *J Herbs Spices Med Plants* 24: 37–51. doi: 10.1080/10496475.2017.1369483
- Handayani T, Witjaksono, Nugraheni KU (2017) Induksi tetraploid pada tanaman jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) secara *in vitro*. *J Biol Indones* 13: 271–278. doi: 10.14203/jbi.v13i2.3401
- Hapsari BW, Sari L, Noorrohmah S, Ermayanti TM (2018) Pertumbuhan Torbangun (*Coleus amboinicus* L.) pada media MS secara *in vitro* dengan penggunaan jenis tutup tabung berbeda. Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas Untuk Kehidupan. Jakarta, 21 April 2018. Hal. 408–422.
- Hullatti KK, Bhattacharjee P (2011) Pharmacognostical evaluation of different parts of *Coleus amboinicus* Lour., Lamiaceae. *Pharmacogn J* 3: 39–44. doi: 10.5530/pj.2011.24.8
- Hutajulu TF, Junaidi L (2013) Manfaat ekstrak daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L) untuk meningkatkan produksi air susu induk tikus. *J Riset Industri* 7: 15–24
- Kanchanapoom K, Koarapatchaikul K (2012) *In vitro* induction of tetraploid plants from callus cultures of diploid bananas (*Musa acuminata*, AA group) 'Kluai Leb Mu Nang' and 'Kluai Sa'. *Euphytica* 183: 111–117. doi: 10.1007/s10681-011-0516-9
- Khoerotunnisa LL, Syafnir L, Kodir RA (2020) Rievew artikel 6 tanaman yang berpotensi sebagai herbal galaktagogumy. *Prosiding Farmasi SPESIA Unisba* 6: 621–627. doi: 10.29313/v6i2.23455
- Kosmiatin M, Husni A (2018) Perakitan varietas jeruk tanpa biji melalui pemuliaan konvensional dan nonkonvensional. *J Litbang Pertanian* 37: 91–100. doi: 10.21082/jp3.v37n2.2018.p91-100
- Liu S, Chen S, Chen Y, Guan Z, Yin D, Chen F (2011) *In vitro* induced tetraploid of *Dendrothema nakingense* (Nakai) Tzvel. shows an improved level of abiotic stress tolerance. *Sci Hortic* 127: 411–419. doi: 10.1016/j.scienta.2010.10.012
- Miguel TP, Leonhardt KW (2011) *In vitro* polyploid induction of orchids using oryzalin. *Sci Hortic* 130: 314–319. doi: 10.1016/j.scienta.2011.07.002
- Munawaroh N, Aziz SA (2013) Pertumbuhan dan produksi daun torbangun (*Plectranthus amboinicus* Spreng.) dengan pemupukan organik dan pemangkasan. *Bul Agrohorti* 1: 122–132. doi: 10.29244/agrob.1.4.122-132
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Noorrohmah S, Sari L, Wulansari A, Ermayanti TM (2017) Inisiasi kultur tunas Torbangun (*Coleus amboinicus* L.) dari eksplan buku pada media Murashige and Skoog. Prosiding Seminar Nasional Biologi 2 (SEMABIO), Pemanfaatan Biodiversitas berbasis Kearifan Lokal, UIN Bandung 13 April 2017, Hal. 357–364
- Nurcahyani E, Rahmadani DD, Wahyuningsih S, Mahfut (2020) Analisis kadar klorofil pada buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) terinduksi *indole acetic acid* (IAA) secara *in vitro*. *Anal Environ Chem* 5: 15–23. doi: 10.23960/aec.v5.i1.2020.p15-23
- Poerba YS, Witjaksono, Ahmad F, Handayani T (2014) Induksi dan karakterisasi pisang mas lumut tetraploid. *J Biol Indones* 10: 191–200. doi: 10.14203/jbi.v10i2.2082
- Poerba YS, Witjaksono, Handayani T (2016) Pembentukan dan penampilan pisang rejang hibrid triploid hasil persilangan pisang rejang mixoploid dengan pisang rejang diploid. *J Biol Indones* 12: 19–30. doi: 10.14203/jbi.v12i1.2308
- Poerba YS, Martanti D, Handayani T, Witjaksono (2019) Induction of banana autotetraploid "Klutuk Sukun" and their reproductive function for producing triploid hybrids. *Asian J Plant Sci* 18: 91–100. doi: 10.3923/ajps.2019.91.100
- Qosim WA, Istifadah N, Djatnika I, Yunitasari (2012) Pengaruh mutagen etil metan

- sulfonat terhadap kapasitas regenerasi tunas hibrida *Phalaenopsis in vitro*. J Hort 22: 360–365. doi: 10.21082/jhort.v22n4.2012.p360-365
- Rahman W, Al Hafiizh E, Ermayanti TM, Rantau DE, Lelono AA (2017) Acclimation and agronomic performance of polyploids clones of *Artemisia annua* L. J Biol Indones 13: 33–41. doi: 10.14203/jbi.v13i1.3092
- Rahman ZA, Sabrina E, Ali MSM, Mirad R, Othman AN (2015) In vitro micropropagation of a valuable medicinal plant *Plectranthus amboinicus*. Am J Plant Sci 6: 1091–1097. doi: 10.4236/ajps.2015.68113
- Ridwan, Witjaksono (2020) Induction of autotetraploid Moringa plant (*Moringa oleifera*) using orizalin. Biodiversitas 21: 4086–4093. doi: 10.13057/biodiv/d210920
- Ridwan, Handayani T, Riastiwi I, Witjaksono (2018) Bibit jati tetraploid lebih toleran terhadap cekaman kekeringan daripada bibit jati diploid asalnya. J Penelitian Kehutanan Wallacea 7: 1–11. doi: 10.18330/jwallacea.2018.vol7iss1pp1-11
- Santosa CM (2001) Khasiat konsumsi daun bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L) sebagai pelancar sekresi air susu ibu menyusui dan pemacu pertumbuhan bayi. Tesis, IPB University
- Sattler MC, Carvalho CR, Clarindo WR (2016) The poliploidy and its key role in plant breeding. Planta 243: 281–296. doi: 10.1007/s00425-015-2450-x
- Setiawati T, Karuniawan A, Supriatun T, Karyono (2016) Persilangan interspesifik *Ipomoea batatas* (L.) Lam. dengan *I. trifida* (H.B.K.) G. Don. berumbi asal Citatah, Jawa Barat. Bul Kebun Raya 19: 11–20. doi: 10.14203/bkr.v19i1.112
- Soni H, Singhai AK (2012) Recent updates on the genus *Coleus*: A review. Asian J Pharm Clin Res 2: 12–17. Corpus ID: 46783650
- Tafzi F, Andarwulan N, Giriwonob PE, Dewid FNA (2017) Uji efikasi ekstrak metanol daun torbangun (*Plectranthus amboinicus*) pada sel epitel kelenjar susu manusia MCF-12A. J Ilmu Kefarmasian Indones 15: 17–24.
- Wang X, Wang H, Shi C, Zhang X, Duan K, Luo J (2015) Morphological, cytological and fertility consequences of a spontaneous tetraploid of the diploid pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) cultivar 'cuiguan'. Sci Hortic 189: 59–65. doi: 10.1016/j.scienta.2015.03.048
- Wibisono K (2019) Optimasi ekstraksi dan induksi mutasi dengan kolkisin pada Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour.) untuk meningkatkan keragaman genetik. Tesis, IPB University
- Wulansari A, Martin AF, Ermayanti TM (2016) Induksi tanaman poliploid talas (*Colacasia esculenta* L.) dengan perlakuan orizalin secara *in vitro*. J Biol Indones 12: 297–305. doi: 10.14203/jbi.v12i2.2898
- Zuyasna, Marliah A, Rahayu A, Hayati E, Husna R (2021) Pertumbuhan tanaman nilam MV1 varietas Lhokseumawe akibat konsentrasi dan lama perendaman kolkisin Agro Bali Agric J 4: 23–33. doi: 10.37637/ab.v4i1.683