



## Indikator Pengaruh Kolkisin pada Putatif Poliploid Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Berdasarkan Morfologi

Phubby Wilisaberta<sup>1</sup>, Darmawan Saptadi<sup>2</sup>, Budi Waluyo<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

<sup>2</sup>Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya  
Jalan Veteran, Ketawanggede, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang 65145

\*Korespondensi: [budiwaluyo@ub.ac.id](mailto:budiwaluyo@ub.ac.id)

### ABSTRACT

The butterfly pea, a native Indonesian plant, faces limitations in its development primarily due to the scarcity of seeds, resulting in a reduced number of flowers. To address this issue, the formation of triploid genotypes has been proposed as a solution. Triploids are created through the crossbreeding of a tetraploid parent [CT0V0 ( $2n = 4x$ )] and a diploid parent [P ( $2n = 2x = 16$ )]. The tetraploid parent is obtained by inducing colchicine, although successful indications of induction are currently limited to quantitative chromosomal duplication and cytogenetic analysis. The objective of the research is to detect the results of colchicine induction based on the morphological characteristics of stems and flowers. The study utilizes four accessions: CTE-56362-02 (single white petals), CTE-68483-01 (double white petals), CTE-69281-02 (single blue petals), and CTE-55891-03 (double blue petals) obtained from one-month-old seedlings, along with a 700 ppm colchicine solution. The treatments include groups that receive colchicine treatment and groups that do not. Observations are made regarding changes in stem and flower characteristics, followed by descriptive analysis. Among the 20 samples treated with colchicine, notable differences are observed in the swelling of the stem circumference compared to the 20 untreated samples. Putative polyploids also exhibit changes in flower color, with the single blue petals appearing darker than their diploid counterparts. These findings indicate that qualitative and straightforward observations prove more effective in determining the success of colchicine application.

**Keywords:** Butterfly pea, *Clitoria ternatea*, Putative Polyploid, Tetraploid

### ABSTRAK

Bunga telang merupakan tanaman asli Indonesia, yang perkembangannya masih terbatas. Terbatasnya hasil disebabkan kelimpahan biji yang menjadi masalah karena mengurangi jumlah bunga. Pembentukan genotipe triploid menjadi solusi dari permasalahan tersebut. Triploid dibentuk melalui persilangan tetra tetraploid [CT0V0 ( $2n = 4x$ )] dan tetra diploid [P ( $2n = 2x = 16$ )]. Pembentukan tetra tetraploid dilakukan dengan induksi kolkisin, namun indikasi induksi berhasil dilakukan terbatas pada perbandingan hasil penggandaan kromosom dengan diploid secara kuantitatif dan analisis cytogenetic. Tujuan penelitian adalah untuk mendeteksi hasil induksi kolkisin berdasarkan karakteristik morfologi batang dan bunga. Bahan yang digunakan ialah empat aksesori CTE-56362-02 (petal tunggal putih), CTE-68483-01 (petal ganda putih), CTE-69281-02 (petal tunggal biru) dan CTE-55891-03 9 (petal ganda biru) dari biji berumur 1 bulan dan larutan kolkisin 700 ppm. Perlakuan terdiri dari kelompok yang diberi perlakuan kolkisin dan tidak diberi perlakuan. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan batang dan bunga, dan dilakukan analisis secara deskriptif. Sebanyak 20 sampel diberi kolkisin dari menunjukkan bagian lingkaran batang membengkak yang berbeda dengan 20 sampel yang tidak diberi perlakuan. Pada putative poliploid terjadi perubahan warna bunga, yaitu petal tunggal biru memiliki warna yang lebih gelap dibandingkan diploidnya. Hal ini menunjukkan pengamatan kualitatif lebih efektif dan sederhana dalam mengindikasikan keberhasilan aplikasi kolkisin.

**Kata Kunci:** Butterfly pea, *Clitoria ternatea*, Putatif Poliploid, Tetraploid

### PENDAHULUAN

Bunga telang (*Clitoria ternatea*) merupakan tanaman asli Indonesia.

Memiliki potensi sebagai pewarna alami makanan dan minuman, di zaman sekarang bunga telang baru-baru ini menarik banyak

minat karena memiliki aplikasi potensial baik dalam pengobatan modern dan pertanian, serta sebagai sumber pewarna makanan alami dan antioksidan (Oguis *et al.*, 2019). Pengembangan bunga telang masih terbatas di Indonesia karena hasil panen rendah dan berdasarkan pengalaman dari 1.000 pohon hanya dapat menghasilkan 5 kg bunga segar, dan jika dikeringkan menjadi 3 kg. Berlimpahnya biji menjadi masalah karena tidak diinginkan dan akan mengurangi jumlah bunga akibat populasi yang padat. Permasalahan tersebut dapat dipecahkan dengan merakit tanaman triploid, melalui persilangan tetraploid [CT0V0 ( $2n=4x$ )] x diploid [P ( $2n=2x=16$ )] atau induksi secara langsung. Kompatibilitas silang antara diploid dan tetraploid terinduksi akan sangat membantu untuk produksi buah tanpa biji atau kurang biji (Hassan *et al.*, 2020). Pembentukan tetra tetraploid dilakukan dengan induksi kolkisin. Induksi kolkisin berhasil melakukan penggandaan kromosom jika tanaman poliploidi dilakukan perbandingan perubahan bentuk karakteristik morfologi dengan diploidnya secara kuantitatif. Pendeteksian lain terhadap penggandaan kromosom dilakukan dengan analisis sitogenesis. Analisis tersebut memiliki beberapa kesulitan, yaitu jaringan yang diajukan untuk analisis sitogenetik harus segar (tidak dibekukan atau difiksasi dalam formalin) karena diperlukan sel yang hidup dan membelah (Bridge, 2008), selain itu kerugian dari teknik ini adalah sensitivitas pita terbatas, yang berarti bahwa kelainan struktural kecil atau

mutasi tidak terdiagnosis (Martin *et al.*, 2020).

Permasalahan sulitnya mendeteksi putatif tanaman poliploid secara cepat, efisien dan sederhana dapat diatasi melalui pengamatan secara kualitatif, yaitu dari pembengkakan organ dan perubahan warna bunga. Pembengkakan organ menjadi ciri khas morfologis terjadinya penggandaan kromosom akibat aplikasi kolkisin pada bunga telang diawal, sehingga secara pasti didapatkan tetra tetraploid sebagai bahan persilangan dan triploid dari induksi langsung. Hasil penelitian dari Barman *et al.* (2020) yang menggunakan aplikasi LAECI dan kolkisin untuk menginduksi c-metaphase yang menghasilkan efek pembengkakan ujung akar bawang merah (*Allium cepa*), sehingga dapat disimpulkan bahwa aplikasi kolkisin pada jaringan tanaman memberikan ciri bengkak pada organ tanaman yang diaplikasikan kolkisin. Bagian warna bunga telang ialah bagian tanaman yang paling dikenal dengan warna yang sangat menarik. Fitur yang paling jelas dari bunga telang adalah kelopak biru tua dengan tanda kuning (Chen *et al.*, 2018). Poliploid memiliki pengaruh pada perubahan secara morfologi yaitu pada warna tanaman khususnya bagian bunga. Hal ini mengingatkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Mendel pada kacang kapri dengan metode sederhana secara kualitatif, kacang kapri memiliki polimorfisme yang terlihat: Mendel berfokus pada tumbuhan yang bervariasi dalam warna biji (hijau atau kuning) dan morfologi biji (keriput atau halus) (Hoekstra dan Robinson, 2022).

Oleh karena, deteksi induksi kolkisin secara sederhana dapat dilakukan melalui pengamatan secara kualitatif sehingga ini akan menjadi informasi yang dimanfaatkan untuk memperkirakan tingkat keberhasilan aplikasi kolkisin untuk menggandakan jumlah kromosom.

## METODE

Penelitian dilaksanakan September 2021 hingga Januari 2022. Pelaksanaan berada di dua tempat, yaitu 1) Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan 2) Kebun Percobaan Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri 8 (delapan) perlakuan yang diulang sebanyak 5 (lima) kali sehingga diperoleh 40 petak percobaan. Delapan perlakuan tersebut terdiri dari A1 [petal tunggal putih (CTE-56362-02)], A2 [petal ganda putih (CTE-68483-01)], B1 [petal tunggal biru (CTE-69281-02)] dan B2 [petal ganda biru (CTE-55891-03)] sebagai P (2x), P (2x) ialah aksesi bunga telang dengan kromosom diploid, CT0 (cholchicine treatment generasi nol) sebagai genotipe putatif tetraploid (4x) dengan kode aksesi P1 [petal tunggal putih (CTE-56362-02)], P2 [petal ganda putih (CTE-68483-01)], P3 [petal tunggal biru (CTE-69281-02)] dan P4 [petal ganda biru (CTE-55891-03)].

Penggandaan kromosom (pembentukan tetraploid) dilakukan dengan perkecambahan biji bunga telang pada polibag uk. 5 x 8 cm yang diisi dengan media tanam. Perkecambahan dilakukan selama  $\pm$  1 bulan hingga muncul

$\pm$  3 helai daun. Terdapat 4 aksesi (perlakuan) bunga telang yang nantinya masing-masing aksesi membutuhkan 5 sampel sehingga terdapat 20 sampel percobaan yang dikecambahkan. Tahap kedua, dilakukan pembuatan larutan kolkisin untuk penggandaan kromosom. Penggandaan kromosom untuk pembentukan tetraploid sebagai tetua menggunakan kolkisin dengan konsentrasi 700 ppm. Penggandaan kromosom dilakukan dengan pembuatan larutan kolkisin terlebih dahulu, yaitu dengan cara bubuk kolkisin dilarutkan kedalam aquades didalam gelas beaker. Larutan kolkisin dengan konsentrasi 700 ppm dibuat dengan cara mencampurkan 0,7 g bubuk kolkisin kedalam 100 mL aquades. Setelah nantinya benih sudah mencapai umur  $\pm$  30 HST, dilakukan pengaplikasian pemberian kolkisin yang sudah dibuat dengan cara mencelupkan larutan kolkisin kemudian ditutup dengan plastik klip pada titik tumbuh sebanyak  $\pm$  5 ml selama 1 x 24 jam kemudian ditunggu 24 jam (posisi pencelupan melintang). Berikutnya diberikan kembali larutan kolkisin dengan proses yang sama ditunggu selama 1 x 24 jam kemudian ditanam pada polibag. Selanjutnya data yang diperoleh dari karakter kualitatif dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi untuk mengindikasikan aplikasi larutan kolkisin berhasil dilakukan, dengan mengamati batang kecambah dari bunga telang. Pada 20 sampel dari 4 aksesi bunga telang diamati secara visual disetiap petak percobaan mengalami bengkok pada lingkaran batang



(titik tumbuh awal) dalam pengamatan 2 bulan (Gambar 1). Perbandingan aksesi yang diberi kolkisin untuk membentuk poliploidi dengan yang tidak (diploid) berbeda (Gambar 2). Pengamatan lingkaran batang yang bengkak menunjukkan aplikasi kolkisin berhasil dilakukan pada penelitian. Sifat toksik pada kolkisin dapat mengganggu aktivitas metabolisme sel meskipun tidak menyebabkan kematian, sehingga mematikan daun dan buku-buku daun untuk tempat keluarnya sulur di

bagian bawah dari titik tumbuh, sehingga yang tumbuh hanya bagian batang yang diatas titik tumbuh (diatas bagian bengkak). Penyebab dari bengkak tersebut ialah kolkisin menginduksi metaphase pada tanaman. Ketika mikrotubulus gagal terhubung ke satu atau lebih kinetokor, komponen tempat pemeriksaan terus menghasilkan sinyal yang menunda transisi metafase ke anafase (Kundu & Ray, 2017).

**Tabel 1. Warna Bunga Pada Bunga Telang**

No	JP	SK	No	JP	SK	No	JP	SK	No	JP	SK
1	P1U1	w	11	P2U1	w	21	P3U1	p	31	P4U1	p
2	P1U2	w	12	P2U2	w	22	P3U2	p	32	P4U2	p
3	P1U3	w	13	P2U3	w	23	P3U3	p	33	P4U3	p
4	P1U4	w	14	P2U4	w	24	P3U4	p	34	P4U4	p
5	P1U5	w	15	P2U5	w	25	P3U5	p	35	P4U5	p
6	A1U1	w	16	A2U1	w	26	B1U1	pb	36	B2U1	p
7	A1U2	w	17	A2U2	w	27	B1U2	pb	37	B2U2	p
8	A1U3	w	18	A2U3	w	28	B1U3	pb	38	B2U3	p
9	A1U4	w	19	A2U4	w	29	B1U4	pb	39	B2U4	p
10	A1U5	w	20	A2U5	w	30	B1U5	pb	40	B2U5	p

Keterangan: JP = jenis perlakuan, SW = skala warna, w = white, b = blue dan pb = purple blue

Kolkisin selama ini dianggap obat anti-mitosis yaitu memblokir aktivitas sel mitosis di bagian fase metafase dari siklus sel, sehingga kolkisin berikatan dengan tubulin, membentuk kompleks yang berikatan dengan mikrotubulus. Kejadian tersebut menghentikan perpanjangan mikrotubulus.

Deteksi untuk mengindikasikan aplikasi larutan kolkisin berhasil dilakukan dapat diamati dengan warna bunga. Skala warna menunjukkan kadar antosianin, yaitu adanya perbedaan tingkat kebiruan warna bunga (Tabel 1). Pada data tabel skala warna menunjukkan bahwa hasil penggandaan kromosom sebagai bahan tetua menghasilkan warna lebih gelap. Hal

ini membuktikan terdapatnya perubahan genetik sehingga menghasilkan karakteristik yang berbeda sebelum dilakukan penggandaan kromosom terlihat pada CT0 dari P3 (petal tunggal biru) dibandingkan aksesi lain yang tidak terdapat respon yang berbeda. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dari Alexander (2017) pada tanaman *Hydrangea macrophylla* bahwa nilai L\*, yang mewakili kecerahan relatif (0 = hitam; 100 = putih), menunjukkan bahwa tetraploid MAK20 lebih gelap daripada diploid, parameter a\* CIELAB adalah

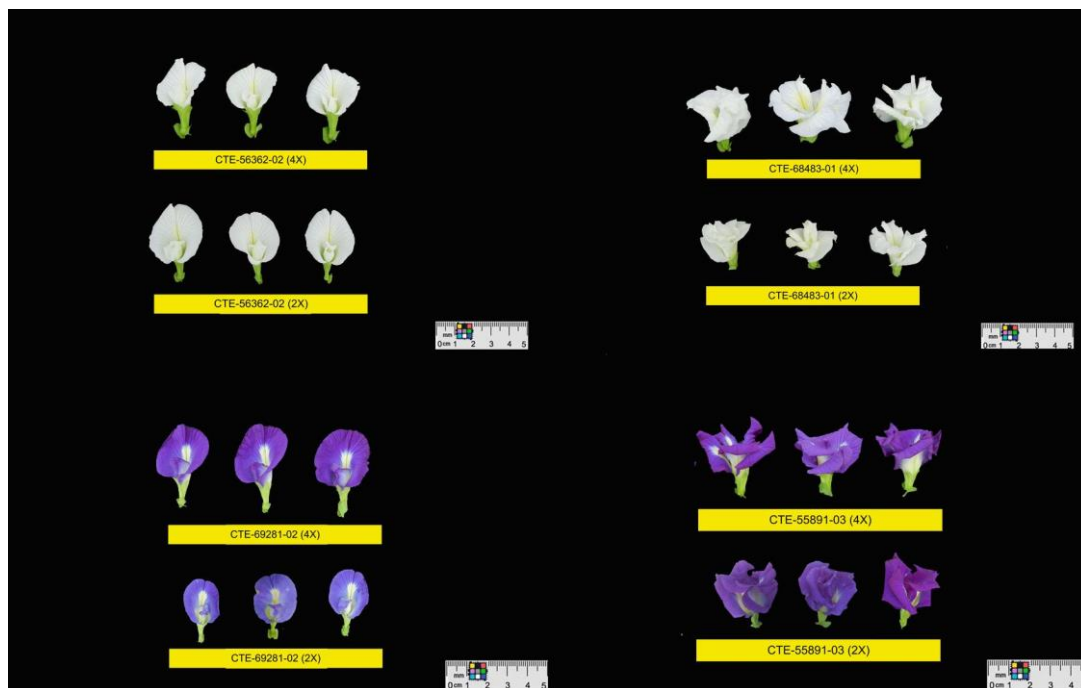
sumbu merah/hijau (0 abu-abu netral, dengan nilai positif mewakili kemerahan relatif dan nilai negatif mewakili kehijauan relatif), bergeser ke arah merah untuk tetraploid MAK20 dan Robert. Pergeseran ke arah bunga yang sedikit lebih gelap dan lebih merah ini mungkin disebabkan oleh peningkatan antosianin (Deans *et al.*, 2021). Oleh karenanya, terjadinya poliploid telah memainkan peran yang sangat penting dalam penampilan dan diversifikasi gen pengatur, yang menekankan perannya dalam evolusi tanaman (Moreyra *et al.*, 2021).



Gambar 1. Aplikasi Kolkisin Nampak Bengkak pada 4 Aksesi Bunga Telang



**Gambar 2. Perbandingan Lingkar Batang Bunga Telang (a) Buku-Buku Daun Untuk Tempat Keluarnya Sulur Dibagian Bawah dari Titik Tumbuh Mati, (b) Aplikasi Kolkisin pada Petal Tunggal Biru Nampak Bengkak dan (c) Tanpa Aplikasi Kolkisin pada Petal Tunggal**



**Gambar 3. Perbandingan Warna Bunga pada 4 Aksesori Bunga Telang yang Diberi Perlakuan Kolkisin dan Tidak Diberi Perlakuan Kolkisin**

**KESIMPULAN**

Indikasi induksi kolkisin pada 4 aksesori bunga telang dari 20 sampel yang diberi

perlakuan kolkisin memiliki perbedaan bentuk morfologi dengan 20 sampel yang tidak diberi perlakuan kolkisin. Perbedaan tersebut terdapat perubahan yang terjadi

pada batang dan bunga. Lingkar batang menunjukkan 20 sampel memiliki ciri bengkak dan buku tempat keluarnya sulur yang mati, sedangkan pada perubahan warna bunga terlihat menjadi lebih gelap. Penelitian ini menjadi metode baru dalam indikasi induksi kolkisin berdasarkan morfologi tanaman yang nampak lebih sederhana dan cepat.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Hibah Penelitian Dosen Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Tahun Anggaran 2021 dengan ketua peneliti Dr. Budi Waluyo, S.P., M.P.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, L. (2017). Production of triploid *Hydrangea macrophylla* via unreduced gamete breeding. *Hort Science*, 52(2), 221–224. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11358-16>
- Barman, M., Roy, S., & Ray, S. (2020). Colchicine like metaphase and cell cycle delay inducing effects of leaf aqueous extract of *Clerodendrum inerme* (L.) gaertn in *Allium cepa* root apical meristem cells. *Cytologia*, 85(3), 197–201. <https://doi.org/10.1508/cytologia.85.197>
- Bridge, J. A. (2008). Advantages and limitations of cytogenetic, molecular cytogenetic, and molecular diagnostic testing in mesenchymal neoplasms. *Journal of Orthopaedic Science*, 13(3), 273–282. <https://doi.org/10.1007/s00776-007-1215-1>
- Chen, L. H., Chen, I. C., Chen, P. Y., & Huang, P. H. (2018). Application of butterfly pea flower extract in mask development. *Scientia Pharmaceutica*, 86(4), 1–9. <https://doi.org/10.3390/scipharm86040053>
- Deans, L. E., Palmer, I. E., Touchell, D. H., & Ranney, T. G. (2021). In vitro induction and characterization of polyploid *Hydrangea macrophylla* and *H. serrata*. *Hort Science*, 56(6), 709–715. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI15783-21>
- Hassan, J., Miyajima, I., Ozaki, Y., Mizunoe, Y., Sakai, K., & Zaland, W. (2020). Tetraploid induction by colchicine treatment and crossing with a diploid reveals less-seeded fruit production in pointed gourd (*Trichosanthes dioica* Roxb.). *Plants*, 9(370), 1–16. <https://doi.org/10.3390/plants9030370>
- Hoekstra, H. E., & Robinson, G. E. (2022). Behavioral genetics and genomics: Mendel's peas, mice, and bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(30), 1–19. <https://doi.org/10.1073/pnas.2122154119>
- Kundu, L. M., & Ray, S. (2017). Mitotic abnormalities and micronuclei inducing potentials of colchicine and leaf aqueous extracts of *Clerodendrum viscosum* Vent. in *Allium cepa* root apical meristem cells. *Caryologia*, 70(1), 7–14. <https://doi.org/10.1080/00087114.2016.1254452>
- Martin, R. J., Fanaroff, A. A., & Walsh, M. C. (2020). Neonatal-perinatal



- medicine. In A. A. Fanaroff, M. C. Walsh, & R. J. Martin (Ed.), *Genetic aspects of perinatal disease and prenatal diagnosis* (Eleventh E, Vol. 2). Elsevier Inc.
- Moreyra, L. D., Marquez, F., Susanna, A., Jacas, N. G., Vazquez, F. M., & Pujol, J. L. (2021). Genesis, evolution and genetic diversity of the hexaploid, narrow endemic *Centaurea tentudaica*. *Diversity*, *13*(2), 1–18. <https://doi.org/10.3390/d13020072>
- Oguis, G. K., Gilding, E. K., Jackson, M. A., & Craik, D. J. (2019). Butterfly pea (*Clitoria ternatea*), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine. *Frontiers in Plant Science*, *10*(5), 1–23. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.0064>