

ARTICLE

INDUKSI POLIPLOIDI TANAMAN TELANG (*Clitoria ternatea* L.) DENGAN KOLKISIN

[*Induction of Polyploidy in Butterfly Pea (Clitoria ternatea L.) by Colchicine*]

Fransiska¹, Ali Husni^{2*}, Reni Indrayanti¹

¹Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Negeri Jakarta (UNJ) Jl. Rawamangun Muka No.1, Rawamangun, Jakarta Timur 13220.

²Pusat Riset Peternakan. BRIN. Cibinong Science Center. Jl Raya Jakarta–Bogor, Cibinong Kabupaten Bogor 16915.

ABSTRAK

Tanaman telang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pakan ternak karena kandungan nutrisinya. Produktivitas tanaman telang dapat ditingkatkan dengan menginduksi tanaman poliploidi dengan kolkisin. Tanaman poliploidi mempunyai ukuran fenotipik yang besar daripada diploidnya yang berpengaruh terhadap produktivitas tanaman tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh jenis telang dan lama perendaman kolkisin terhadap kecambah, karakter fenotipik dan tingkat ploidi tanaman. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BSIP Biogen). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yaitu jenis telang (putih dan biru) dan lama perendaman kolkisin (0, 24, dan 48 jam). Data dianalisis secara statistik dengan ANAVA pada taraf nyata 5%. Telang biru dengan perendaman kolkisin selama 24 jam menghasilkan panjang daun, panjang stomata dan jumlah kloroplas tertinggi. Telang putih yang diberikan perlakuan perendaman kolkisin selama 24 jam menghasilkan tinggi kecambah dan lebar kotiledon yang paling tinggi dan perendaman kolkisin selama 48 jam menghasilkan karakter lebar daun, panjang dan lebar mahkota bunga terbesar. Telang biru dan putih dengan perlakuan perendaman kolkisin selama 24 dan 48 jam menghasilkan tanaman miksoploid (diploid dan tetraploid).

Kata kunci: kecambah, kolkisin, lama perendaman, stomata, flowsitometer

ABSTRACT

Butterfly pea can be used as an alternative animal feed because of their nutritional content. The productivity of butterfly pea plants can be increased by inducing polyploid plants with colchicine. Polyploid plants have a larger phenotypic size than their diploid, affecting their productivity. This research aimed to determine the effect of the type of butterfly pea and length colchicine soaking on the phenotypic characters and ploidy levels- This research was conducted) the Center for Standard Testing of Biotechnology Instruments and Agricultural Genetic Resources (BSIP Biogen). This study used a completely randomized design with two factors: the type of butterfly pea (blue and white) and the length of colchicine soaking (0, 24 and 48 hours). Data were analyzed statistically using ANOVA at a significance lever of 5%. Blue butterfly pea soaked in colchicine for 24 hours produced the highest leaf length, stomata length and number of chloroplasts. White butterfly pea treated with colchicine soaking time for 24 hours made the highest height and cotyledon width, and colchicine soaking for 48 hours produced the largest leaf width, length and flower crown width. Blue and white butterfly pea treated with colchicine soaking for 24 and 48 hours produced mixoploid (diploid and tetraploid) plants.

Keywords: *sprout, colchicine, soaking time, stomata, flowcytometry*

PENDAHULUAN

Telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan tanaman asli dari Afrika dan India. (ILDIS, 2016). Telang termasuk jenis tanaman budidaya (introduksi) di Asia, Australia, Amerika Selatan dan Indonesia (CABI, 2018). Tanaman telang dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami (Zussiva *et al.*, 2012), tanaman hias (Mohamed dan Rosna, 2011), tanaman obat (Kusrini *et al.*, 2017) serta tanaman pakan ternak (Sutedi, 2013).

Tanaman pakan ternak ruminansia berupa rumput memiliki kendala dalam ketersediaannya pada musim kemarau. Ketersediaan rumput sebagai hijauan mengalami penurunan pada musim kemarau sehingga ternak banyak mengkonsumsi rumput kering (*standing hay*) dengan kualitas dan kuantitas yang tidak mencukupi (Paga *et al.*, 2015). Upaya yang dapat dilakukan untuk menambah jumlah pakan ternak yaitu dengan pemberian pakan hijauan berupa kombinasi rumput dan legum/tanaman polong yang berguna untuk saling melengkapi unsur nutrisi yang diperlukan oleh ternak (Koten *et al.*, 2014).

Tanaman telang dapat dijadikan sebagai alternatif pakan ternak dikarenakan memiliki kandungan protein yang tinggi yaitu sebesar 21-29% (Gomez dan Kalamani, 2003; Prawiradiputra *et al.*, 2006; Nulik, 2009). Tanaman telang memiliki produksi bahan kering sekitar 30 ton/ha/tahun (Gomez dan Kalamani, 2003).

Peningkatan produktivitas tanaman telang dapat melalui induksi poliploid dengan mutagen kimia. Tanaman poliploid pada umumnya memiliki karakter morfologi yaitu tanaman menjadi lebih kekar dan bagian akar, batang, daun, bunga, serta buah bertambah lebih besar (Sulistianingsih, 2006). Induksi poliploid dengan mutagen kimia berupa kolkisin efektif diberikan pada sel-sel yang sedang aktif membelah (Rahayu *et al.*, 2015). Pembelahan sel dapat terjadi saat fase kecambah.

Induksi poliploid pada kecambah telang harus dilakukan pematangan dormansi pada biji telang terlebih dahulu (Makasana *et al.*, 2016). Upaya yang dapat dilakukan untuk mematahkan dormansi pada biji telang yaitu melalui kultur jaringan menggunakan media MS cair. Media MS cair memiliki unsur hara yang lebih banyak dibanding jenis media lain dan berperan dalam penyerapan nutrisi yang lebih cepat oleh eksplan dibandingkan media padat (Mehrotra *et al.*, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai pengaruh jenis telang dan lama perendaman kolkisin terhadap ukuran kecambah, karakter fenotipik dan tingkat ploidi tanaman telang.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan yaitu biji telang biru dan putih koleksi Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BSIP Biogen) Biji telang kemudian dikecambahkan menggunakan media MS0 cair dan selanjutnya dilakukan induksi poliploidi menggunakan kolkisin $C_{22}H_{25}O_6N$ (Sigma).

Induksi Mutasi Kecambah Telang

Induksi poliploidi dilakukan pada kecambah yang sudah berumur 4 hari dalam media MS0 cair yang kemudian direndam dalam kolkisin. Kecambah yang tumbuh dari hasil perlakuan kolkisin selanjutnya ditanam dalam campuran tanah dan pupuk kompos dengan perbandingan 1:1.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dua faktor berupa jenis warna telang dan lama perendaman menggunakan kolkisin 0,5mM. Jenis warna telang yang digunakan yaitu telang biru dan telang putih. Lama perendaman yang digunakan yaitu 0, 24 dan 48 jam. Terdapat 6 kombinasi perlakuan dengan 20 ulangan.

Parameter yang diamati yaitu tinggi kecambah dan panjang kotiledon, tinggi tanaman, jumlah daun, panjang dan lebar daun, panjang dan lebar mahkota bunga, umur berbunga, ukuran stomata, kerapatan stomata, jumlah kloroplas pada sel penjaga dan analisis ploidi dengan flowsitometer. Analisis stomata dan ploidi menggunakan 3 ulangan untuk setiap perlakuan.

Pengukuran Parameter

Tinggi kecambah dan lebar kotiledon

Pengukuran tinggi kecambah dimulai dari pangkal leher akar sampai dengan pangkal kotiledon. Pengukuran panjang salah satu kotiledon dimulai dari pangkal kotiledon sampai dengan ujung kotiledon.

Tinggi tanaman

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan dengan cara mengukur mulai dari permukaan tanah hingga ujung sulur tertinggi.

Diameter batang

Pengukuran diameter batang dilakukan pada batang dengan ketinggian 10 cm dari permukaan tanah.

Jumlah daun

Perhitungan jumlah daun dilakukan dengan cara menghitung daun yang telah terbuka sempurna.

Panjang dan lebar daun

Pengukuran panjang dan lebar daun dilakukan sebanyak satu kali. Panjang dan lebar daun diukur pada daun ke 6 dari batang bagian bawah.

Panjang dan lebar mahkota bunga

Pengukuran panjang dan lebar mahkota bunga dilakukan ketika bunga dalam keadaan mekar. Pengukuran pertama kali dimulai ketika sudah ada satu bunga yang mekar. Panjang mahkota bunga diukur dari pangkal ke ujung mahkota bunga secara vertikal dan lebar mahkota bunga diukur pada bagian terlebar secara horizontal.

Umur berbunga

Pengamatan umur berbunga dilakukan secara obyektif yaitu pada fase vegetatif berhenti yang ditandai dengan munculnya bunga. Tanaman yang pernah berbunga ditandai agar tidak terjadi pengambilan data ganda.

Analisis stomata

Panjang, lebar dan kerapatan stomata dilakukan dengan metode cetakan. Cara membuat preparat cetak dengan cara kuteks transparan dioleskan pada daun bagian abaksial dan didiamkan kira-kira 3-5 menit hingga kuteks kering dan setelah kuteks kering bagian tersebut ditempel dengan selotip bening. Selotip bening yang melekat pada lapisan kuteks kemudian ditarik dari daun dan ditempelkan pada kaca objek. Penghitungan kerapatan stomata, panjang dan lebar stomata dilakukan di bawah mikroskop binokuler (Olympus tipe BX51) dengan perbesaran 1000x. Kerapatan stomata dihitung dengan rumus (Lestari, 2006) yaitu dengan lima bidang pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x.

Kerapatan stomata = Jumlah stomata / luas bidang pandang

Keterangan luas bidang pandang = $p \times l = (0,35 \times 0,26) \text{ mm}^2 = 0,091 \text{ mm}^2$

Jumlah kloroplas diamati dengan menggunakan dengan pembuatan sayatan lapisan bawah daun dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Pengukuran secara digitasi dengan menggunakan software DP20 untuk panjang dan lebar stomata sedangkan jumlah kloroplas dalam sel penjaga dihitung secara manual.

Analisis ploidi dengan flowsitometer

Pengujian dilakukan dengan sampel berupa suspensi daun yang telah dicacah kemudian diuji dengan alat flowsitometer yang termediasi dengan komputer. Pengujian dilakukan dengan cara daun berukuran 0,5 - 1 cm² diletakkan pada cawan petru dan ditetesi dengan 250 µl cystain Nuclei extraction buffer (PartecGermany) dan dicacah menggunakan silet. Hasil cacahan daun disaring dengan saringan 30µm, filtrat dimasukkan dalam tabung cuvet dan ditambah dengan 1 ml larutan buffer cystain (cystain PI absolut, RNase stok solution dan staining buffer; Partec-Germany) dan dimasukkan ke dalam flowsitometer (Handayani *et al.*, 2017). Hasil yang didapat berupa *X-peak* yang terbentuk. Nilai mean perlakuan kolkisin dihitung kelipatannya dengan mean pada tanaman kontrol (diploid).

Analisis Statistika

Analisis statistika menggunakan analisis variansi (ANAVA) pada taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk mengetahui pengaruh beda antar perlakuan. Pengolahan data menggunakan program SPSS 22.0.

HASIL

Induksi Poliploidi pada Kecambah Telang

Kecambah telang yang diberikan perlakuan perendaman kolkisin (0, 24 dan 48 jam) pada telang biru dan putih dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis data menunjukkan bahwa tinggi kecambah dan lebar kotiledon dipengaruhi oleh interaksi antara jenis telang dan lama perendaman kolkisin. Interaksi kecambah telang putih dengan perendaman kolkisin selama 24 jam menghasilkan tinggi kecambah tertinggi dengan rata-rata $3,6 \pm 0,63$ cm dan lebar kotiledon tertinggi dengan rata-rata $1,2 \pm 0,07$ cm.

Tabel 1. Nilai rata-rata tinggi kecambah dan panjang kotiledon telang hasil perlakuan kolkisin (*Average values of sprout height and cotyledon length of butterfly pea resulting from colchicine treatment*)

| Jenis Telang (Types of Telang) | Lama Perendaman (Immersion time) (hours) | Tinggi Kecambah (Sprout height) (cm) | Lebar Kotiledon (Cotyledon length) (cm) |
|-----------------------------------|---|--|---|
| Telang biru | 0 | 2,5 ± 0,29 ^a | 0,8 ± 0,10 ^a |
| Telang biru | 24 | 2,8 ± 0,40 ^b | 1,0 ± 0,08 ^{bc} |
| Telang biru | 48 | 2,7 ± 0,37 ^{ab} | 0,9 ± 0,13 ^b |
| Telang putih | 0 | 3,4 ± 0,18 ^{cd} | 1,1 ± 0,07 ^{cd} |
| Telang putih | 24 | 3,6 ± 0,63 ^d | 1,2 ± 0,07 ^d |
| Telang putih | 48 | 3,1 ± 0,50 ^e | 1,0 ± 0,27 ^a |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. (Notes: The numbers followed by the same letter in the same column did not differ significantly based on the 5% DMRT test).

Pertumbuhan Tanaman Telang Hasil Induksi Poliploid

Pertumbuhan tanaman telang hasil induksi poliploid meliputi beberapa karakter pada batang, daun dan bunga. Interaksi antara jenis telang dengan lama perendaman kolkisin pada tinggi dan diameter batang (Tabel 2). Perlakuan telang biru perendaman kolkisin 0 jam tidak berbeda nyata dengan telang putih perendaman kolkisin 0 jam terhadap tinggi tanaman. Namun perlakuan telang putih perendaman kolkisin 0 jam memiliki diameter batang yang paling besar dibandingkan perlakuan lainnya.

Tabel 2. Nilai rata-rata tinggi tanaman dan diameter batang tanaman telang hasil perlakuan kolkisin pada 9 MST (*Average values of plant height and stem diameter of butterfly pea plants resulting from colchicine treatment at 9 WAP*)

| Jenis Telang (Types of Telang) | Lama Perendaman (Immersion time) (hours) | Tinggi Tanaman (Plant height) (cm) | Diameter Batang (Diameter of stem) (mm) |
|-----------------------------------|--|--|---|
| Telang biru | 0 | 79,6 ± 8,24 ^d | 2,02 ± 0,69 ^{bc} |
| Telang biru | 24 | 48,5 ± 6,58 ^c | 1,77 ± 0,21 ^b |
| Telang biru | 48 | 9,8 ± 1,44 ^a | 0,80 ± 0,18 ^a |
| Telang putih | 0 | 77,1 ± 5,01 ^d | 2,22 ± 0,32 ^c |
| Telang putih | 24 | 38,8 ± 9,24 ^b | 1,77 ± 0,43 ^b |
| Telang putih | 48 | 36,2 ± 5,67 ^b | 1,76 ± 0,43 ^b |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Rerata ± SD. (Notes: Numbers followed by the same letter in the same column did not differ significantly based on the 5% DMRT test. The average ± SD).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa jumlah daun, panjang dan lebar daun dipengaruhi oleh interaksi antara jenis telang dan lama perendaman kolkisin (Tabel 3). Interaksi telang putih dengan perendaman kolkisin 0 jam memiliki jumlah daun tertinggi dengan rata-rata 296 ± 58,7. Panjang daun tertinggi dihasilkan dari interaksi antara perlakuan telang biru dengan perendaman kolkisin selama 24 jam dengan rata-rata 4,9 ± 0,22 cm. Lebar daun terbesar dengan rata-rata 3,4 ± 0,16 cm dihasilkan dari interaksi antara telang putih dengan perendaman kolkisin selama 48 jam (Gambar 1).

Parameter ukuran mahkota bunga dan umur berbunga dipengaruhi oleh interaksi antara jenis telang dengan lama perendaman dengan kolkisin (Tabel 4). Interaksi antara telang putih dengan perendaman kolkisin selama 48 jam menghasilkan panjang dan lebar mahkota terbesar. Umur berbunga tercepat dihasilkan dari perlakuan telang putih dengan perendaman kolkisin 0 jam dengan

rata-rata $39 \pm 6,5$ hari. Umur berbunga tanaman telang dari hasil perlakuan berkisar antara 39 sampai 79 hari.

Tabel 3. Nilai rata-rata karakter daun tanaman telang hasil perlakuan kolkisin pada 9 MST (*Average values of leaf characteristics of butterfly pea plants resulting from colchicine treatment at 9 WAP*)

| Jenis Telang (Types of Telang) | Lama Perendaman (Immersion time) (hours) | Jumlah Daun (Number of leaves) | Panjang Daun (Leaf length) (cm) | Lebar Daun (Leaf width) (cm) |
|-----------------------------------|--|-----------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| Telang biru | 0 | $235 \pm 58,7^c$ | $3,2 \pm 1,05^b$ | $1,9 \pm 0,57^b$ |
| Telang biru | 24 | $40 \pm 7,2^{ab}$ | $4,9 \pm 0,22^e$ | $1,8 \pm 0,21^b$ |
| Telang biru | 48 | $17 \pm 3,1^a$ | $2,1 \pm 0,07^a$ | $1,5 \pm 0,07^a$ |
| Telang putih | 0 | $296 \pm 58,7^d$ | $4,2 \pm 0,39^d$ | $3,1 \pm 0,35^d$ |
| Telang putih | 24 | $53 \pm 7,2^b$ | $4,0 \pm 0,79^{cd}$ | $2,5 \pm 0,51^c$ |
| Telang putih | 48 | $35 \pm 3,1^{ab}$ | $3,6 \pm 0,11^c$ | $3,4 \pm 0,16^e$ |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. (*Note: Numbers followed by the same letter in the same column do not differ significantly based on the 5% DMRT test*)



Gambar 1. Perbandingan besar daun ke enam tanaman telang pada 9 MST dengan perlakuan perendaman kolkisin (A) telang biru perendaman 0 jam; (B) telang biru perendaman 24 jam; (C) telang biru perendaman 48 jam; (D) telang putih perendaman 0 jam; (E) telang putih perendaman 24 jam; (F) telang putih perendaman 48 jam (*Comparison of the size of the sixth leaves at 9 WAP with colchicine soaking treatment for (A) blue pea - 0 hour; (B) blue pea 24 hours; (C) blue pea - 48 hours; (D) white pea - 0 hour; (E) white pea 24 hours; (F) white pea - 48 hours*).

Tabel 4. Nilai rata-rata karakter bunga tanaman telang hasil perlakuan kolkisin pada 9 MST (*Average value of flower characteristics of butterfly pea plants resulting from colchicine treatment at 9 WAP*)

| Jenis Telang (Types of Telang) | Lama Perendaman (Immersion time) (hours) | Panjang mahkota bunga (Petal length) (cm) | Lebar mahkota bunga (Petal width) (cm) | Umur berbunga (Flowering time) (days) |
|--------------------------------------|--|--|---|---|
| Telang biru | 0 | 3,0 ± 0,30 ^c | 2,9 ± 0,34 ^c | 52 ± 12,2 ^b |
| Telang biru | 24 | 2,3 ± 0,11 ^b | 2,5 ± 0,08 ^b | 62 ± 4,14 ^c |
| Telang biru | 48 | 1,4 ± 0,01 ^a | 1,7 ± 0,05 ^a | 79 ± 2,1 ^d |
| Telang putih | 0 | 3,3 ± 0,23 ^d | 3,2 ± 0,26 ^d | 39 ± 6,5 ^a |
| Telang putih | 24 | 3,1 ± 0,10 ^c | 3,0 ± 0,10 ^c | 55 ± 5,6 ^b |
| Telang putih | 48 | 3,5 ± 0,33 ^e | 3,5 ± 1,45 ^e | 54 ± 3,4 ^b |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. (Notes: The numbers followed by the same letter in the same column did not differ significantly based on the 5% DMRT test)

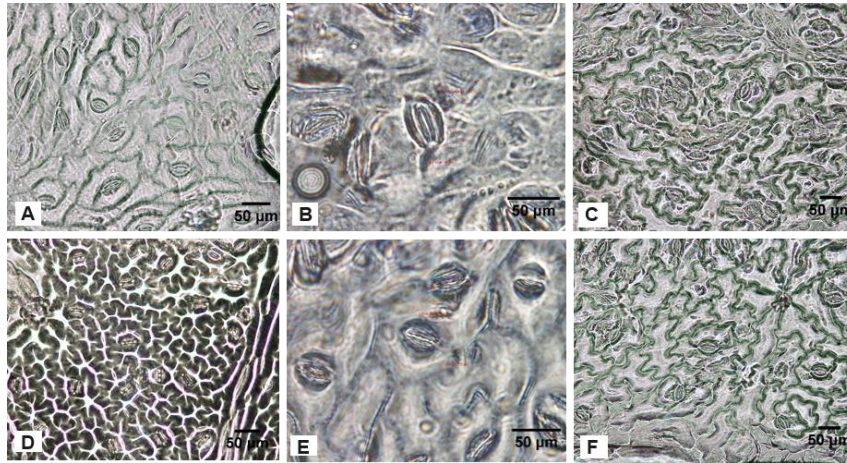
Identifikasi Tingkat Ploidi Tanaman Telang Berdasarkan Analisis Stomata

Tingkat ploidi tanaman dapat diidentifikasi menggunakan analisis stomata. Hasil analisis stomata dapat dilihat pada Tabel 5. Interaksi antara jenis telang dan lama perendaman kolkisin berpengaruh nyata terhadap panjang stomata, kerapatan stomata dan jumlah kloroplas pada sel penjaga. Interaksi antara telang biru dengan perendaman kolkisin selama 24 jam menghasilkan panjang stomata dengan rata-rata $57,0 \pm 5,2 \mu\text{m}$ dan jumlah kloroplas tertinggi dengan rata-rata $25,7 \pm 6,42$. Telang biru dengan perendaman kolkisin selama 24 jam memiliki kerapatan stomata yang terendah yang disebabkan oleh besarnya ukuran stomata yang dimilikinya (Gambar 2).

Tabel 5. Ukuran stomata, kerapatan stomata dan jumlah kloroplas pada tanaman telang hasil perlakuan kolkisin pada 16 MST (*Stomata size, stomata density and number of chloroplasts in butterfly pea plants resulting from colchicine treatment at 16 WAP*)

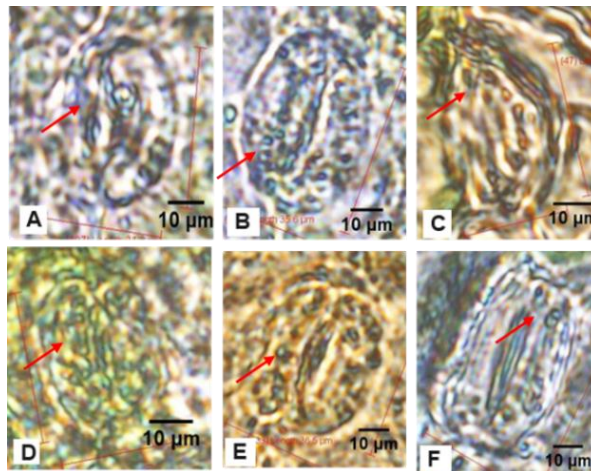
| Jenis Telang (Types of Telang) | Lama perendaman (Immersion time) (hours) | Panjang Stomata (Stomatal length) (μm) | Lebar Stomata (Stomatal width) (μm) | Kerapatan Stomata (Stomatal density) (part /mm ²) | Jumlah Kloroplas/ Sepasang Sel Penjaga (Number of chloroplasts/ pair of guard cell) |
|--------------------------------------|--|---|--|---|--|
| Telang biru | 0 | 39,4 ± 4,20 ^{ab} | 29,9 ± 2,83 ^{tn} | 305,1 ± 3,34 ^f | 12,7 ± 1,52 |
| Telang biru | 24 | 57,0 ± 5,2 ^c | 33,9 ± 7,49 ^{tn} | 133,0 ± 2,91 ^a | 25,7 ± 6,42 |
| Telang biru | 48 | 42,2 ± 4,88 ^{ab} | 32,2 ± 1,33 ^{tn} | 247,0 ± 1,68 ^d | 14,3 ± 2,08 |
| Telang putih | 0 | 38,9 ± 6,30 ^a | 31,3 ± 4,39 ^{tn} | 277,7 ± 4,57 ^e | 13,0 ± 2,64 |
| Telang putih | 24 | 51,1 ± 6,91 ^{bc} | 35,7 ± 6,73 ^{tn} | 165,1 ± 6,10 ^b | 21,6 ± 6,42 |
| Telang putih | 48 | 46,2 ± 8,45 ^{abc} | 29,4 ± 4,63 ^{tn} | 180,9 ± 3,38 ^c | 23,6 ± 2,08 |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%. Rerata ± SD. (Notes: Numbers followed by the same letter in the same column do not differ significantly based on the 5% DMRT test. Average ± SD)



Gambar 2. Kerapatan stomata pada daun telang dengan perlakuan perendaman kolkisin (A) telang biru perendaman 0 jam; (B) telang biru perendaman 24 jam; (C) telang biru perendaman 48 jam; (D) telang putih perendaman 0 jam; (E) telang putih perendaman 24 jam; (F) telang putih perendaman 48 jam (*Stomata on butterfly pea leaves with colchicine soaking treatment for (A) blue pea - 0 hour; (B) blue pea - 24 hours; (C) blue pea - 48 hours; (D) white pea - 0 hour; (E) white pea - 24 hours; (F) white pea - 48 hours*).

Jumlah kloroplas dalam sel penjaga dapat mengidentifikasi tanaman diploid dan tetraploid (Gambar 3). Kloroplas dalam sel penjaga pada telang biru dan telang putih dengan perendaman kolkisin 0 jam (kontrol) berjumlah 12-13. Interaksi antara telang biru dengan perendaman kolkisin selama 24 jam memiliki jumlah kloroplas sebanyak 25,7 dimana jumlah ini adalah dua kali lipat yang menandakan adanya tanaman poliploidi. Hal ini kemudian diverifikasi menggunakan uji flowsitometer.

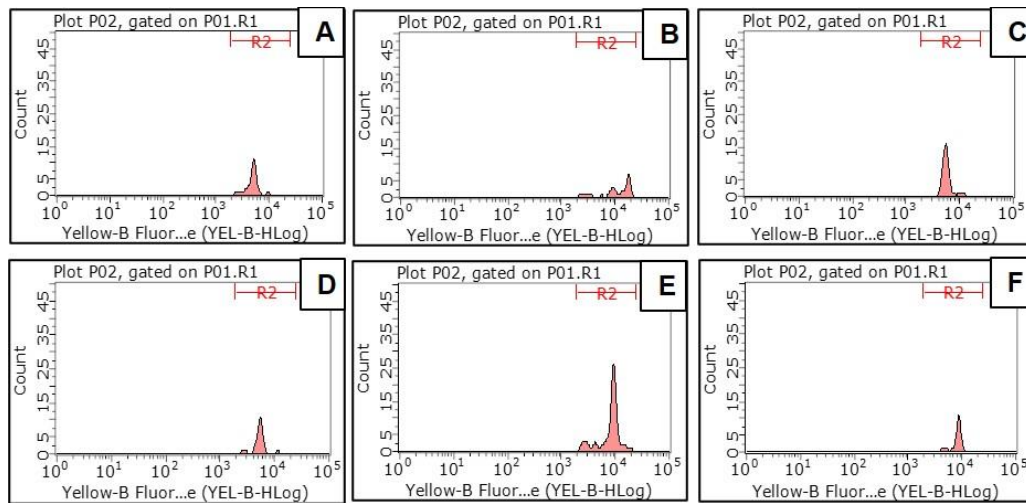


Gambar 3. Jumlah kloroplas pada sel penjaga stomata dengan perlakuan perendaman kolkisin (A) telang biru perendaman 0 jam; (B) telang biru perendaman 24 jam; (C) telang biru perendaman 48 jam; (D) telang putih perendaman 0 jam; (E) telang putih perendaman 24 jam; (F) telang putih perendaman 48 jam. Tanda panah merah: kloroplas (*Number of chloroplasts in stomata guard cells with colchicine soaking treatment for (A) blue pea - 0 hour; (B) blue pea - 24 hours; (C) blue pea - 48 hours; (D) white pea - 0 hour; (E) white pea - 24 hours; (F) white pea - 48 hours. Red arrows: chloroplasts*).

Verifikasi Tingkat Ploidi Tanaman Telang dengan *Flow cytometry*

Tingkat ploidi dapat diverifikasi menggunakan *flowsitometer*. Tunas kontrol (perendaman 0 jam) dan tunas perlakuan kolkisin 24 dan 48 jam yang dianalisis masing-masing sebanyak 3 tunas. Analisis ploidi dengan menggunakan *flowsitometer* menunjukkan bahwa tidak semua perlakuan kolkisin menghasilkan tanaman poliploidi. Perlakuan telang biru maupun telang putih dengan perendaman kolkisin selama 24 jam dan 48 jam menghasilkan seluruh tanaman yang mikroploid (diploid dan tetraploid). Hasil analisis *flowsitometer* ditampilkan dalam bentuk histogram (Gambar 4). Gambar 4A dan 4D mewakili profil tunas diploid yang diperoleh dari tunas kontrol. Gambar 4B,

4C, 4E dan 4F menunjukkan profil tunas miksploid yang merupakan chimera dimana tunas tersebut memiliki 2 macam set kromosom yaitu diploid dan tetraploid.



Gambar 4. Histogram hasil flowsitometer pada tanaman dengan perlakuan perendaman kolkisin (A) telang biru perendaman 0 jam (diploid); (B) telang biru perendaman 24 jam; (C) telang biru perendaman 48 jam; (D) telang putih perendaman 0 jam (diploid) ; (E) telang putih perendaman 24 jam; (F) telang putih perendaman 48 jam (*Histogram of flowcytometry results on plants with colchicine soaking treatment (A) blue pea - 0 hour (diploid); (B)blue pea - 24 hours; (C) blue pea - 48 hours; (D) white pea - 0 hour (diploid); (E) white pea - 24 hours; (F) white pea - 48 hours).*

PEMBAHASAN

Perkecambahan biji dengan menggunakan media MS cair telah dilakukan sebelumnya oleh Reddy *et al.* (2011) pada biji kapas kultivar Narashima (*Gossypium hirsutum* L.). dan Kaveri dan Srinath (2015) pada biji *Nothapodytes foetida* dengan perlakuan kertas saring yang berisikan media MS cair. Kecambah telang biru dan telang putih yang telah berumur 4 hari diberikan perlakuan induksi poliploid menggunakan kolkisin 0,5 mM. Kolkisin mempengaruhi pertumbuhan tinggi kecambah dan besar kotiledon telang. Percobaan ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Aryani dan Made (2015) yaitu sel-sel yang sedang aktif membelah akan peka terhadap kolkisin sedangkan sel-sel yang telah terdiferensiasi kurang peka terhadap mutagen ini.

Telang putih yang diberi perlakuan kolkisin selama 24 jam memiliki tinggi kecambah dan panjang kotiledon yang lebih besar dibandingkan dengan perendaman 0 jam (kontrol). Hal ini berbeda dengan penelitian Mattilla (1961) pada tanaman hibrid (*Populus trernula*) x (*Populus trernuloides*) kontrol memiliki tinggi kecambah yang lebih tinggi daripada perlakuan kolkisin namun kotiledon pada kecambah perlakuan kolkisin memiliki kotiledon yang lebih hijau dan lebih tebal dibanding kontrol. Menurut Permadi *et al.* (1991) menyatakan bahwa mutagen dapat menghambat pertumbuhan tanaman tetapi juga dapat meningkatkan morfologi tanaman bila pada konsentrasi dan lama perlakuan yang tepat.

Tanaman telang biru dan telang putih hasil perlakuan kolkisin memiliki jumlah daun yang lebih sedikit dibandingkan pemberian kolkisin selama 0 jam. Hal ini dikarenakan tanaman tersebut mengalami keterlambatan pembentukan daun. Daun telang perlakuan kolkisin tidak ada yang tumbuh sampai pada pengukuran 3 MST dan selanjutnya hanya terjadi peningkatan jumlah daun yang sedikit. Sinaga *et al.* (2014) menyatakan pada tanaman kacang hijau yang diberikan perlakuan kolkisin berpotensi menurunkan jumlah daun pada taraf 0,16% sebesar 5,75 tangkai dibanding dengan kontrolnya sebesar 11,75 tangkai. Perlakuan perendaman dengan kolkisin dapat meningkatkan ukuran panjang dan lebar mahkota bunga namun memperpanjang umur berbunga. Kolkisin menghasilkan bunga *Salvia coccinea* cv. Coral Nymph yang berukuran besar namun umur berbunga tertunda hingga 10-30 hari (Kobayash *et al.*, 2008).

Panjang stomata dapat menjadi indikator tingkat ploidi dan telah digunakan pada beberapa jenis tanaman untuk menentukan tingkat ploidi. Ukuran stomata tanaman poliploidi lebih besar dibandingkan tanaman diploid. Perbesaran ukuran stomata terjadi karena penggandaan kromosom menyebabkan perbesaran pada sel-sel tanaman. Hal ini sesuai dengan penelitian Yanhong *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa tanaman *Tagetes erecta* poliploidi memiliki ukuran stomata yang secara signifikan lebih besar dari tanaman diploid dengan jumlah stomata yang rendah. Oleh sebab itu jumlah stomata yang sedikit menyebabkan ukuran stomata yang didapatkan semakin besar, maka menghasilkan jumlah kloroplas yang semakin banyak bila dibandingkan dengan kontrolnya. Jumlah kloroplas telang biru dengan perlakuan kolkisin selama 24 jam menunjukkan peningkatan jumlah kloroplas dibandingkan dengan kontrolnya. Hasil tersebut sesuai menurut Thao *et al.* (2003) menyatakan bahwa induksi poliploidi pada tanaman *Alocasia* dengan perlakuan kolkisin menyebabkan peningkatan jumlah kloroplas pada sel penjaga stomata dibandingkan kontrolnya. Yulianti *et al.* (2015) menyatakan penggunaan kolkisin 0,1% hingga 0,3% pada tunas jeruk siam madu (*Citrus nobilis* Lour.) menghasilkan tanaman tetraploid yang memiliki jumlah kloroplas dua kali lebih banyak dibandingkan tanaman diploidnya.

Ukuran stomata dan jumlah kloroplas menurut Nurwanti (2010) memiliki hubungan erat dengan jumlah kromosomnya untuk dapat menentukan tingkat ploidi pada tanaman. Analisis tingkat ploidi dapat dilakukan menggunakan flowsitometer yang dapat memberikan hasil yang lebih akurat dan lebih cepat (Tang *et al.* 2010). Indikator penentuan ploidi pada tanaman dapat dilakukan dengan menganalisis kandungan total DNA di dalam inti sel. Kandungan total DNA pada poliploidisasi akan meningkat seiring dengan terjadinya penggandaan kromosom (Moghbel *et al.* 2015). Pada penelitian ini dikonfirmasi semua tanaman miksoptoid sebagai hasil perlakuan perendaman dengan kolkisin. Tanaman miksoptoid memiliki dua set kromosom yang dideteksi yaitu diploid dan tetraploid. Adanya variasi jumlah kromosom dapat mengindikasikan sifat genetik yang tidak stabil. Sifat genetik yang tidak stabil dapat diatasi dengan dilakukan skrining tunas untuk memisahkan antara sel diploid dan tetraploid. Tanaman poliploidi yang terbentuk dapat menghasilkan tanaman mutan yang stabil secara genetik (*solid mutant*) yaitu tampilan konsisten dari karakter genetik pada berbagai lingkungan dan waktu. Tanaman mutan yang stabil didapatkan melalui beberapa proses seleksi minimal sampai generasi ke 4 atau ke 5 yaitu tanaman M4 untuk tanaman yang diperbanyak secara generatif atau MV5 untuk tanaman yang diperbanyak secara vegetatif yang didasarkan pada karakter fenotipik (Datta, 2001).

KESIMPULAN

Telang biru dengan perendaman kolkisin selama 24 jam menghasilkan panjang daun, panjang stomata dan jumlah kloroplas tertinggi. Telang putih yang diberikan perlakuan perendaman kolkisin selama 24 jam menghasilkan tinggi kecambah dan lebar kotiledon yang paling tinggi sementara perlakuan kolkisin selama 48 jam menghasilkan karakter lebar daun, panjang dan lebar mahkota bunga terbesar. Analisis ploidi dengan flowsitometer menunjukkan bahwa telang biru dan putih dengan perlakuan perendaman kolkisin selama 24 dan 48 jam menghasilkan tanaman miksoptoid (diploid dan tetraploid).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BSIP Biogen) yang telah memberikan pendanaan untuk melaksanakan penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

Semua penulis sebagai kontributor utama. FR: mengumpulkan data, mengelola data penelitian, membuat draft artikel; AH: membuat konsep penelitian, membuat desain dan rancangan penelitian, membuat draft artikel; RI: membuat desain dan rancangan penelitian, merevisi naskah akhir.

REFERENSI

- Aryani, P.U., Made P. 2015. Pengamatan Morfologi dan Anatomi Bibit Kamboja Jepang (*Adenium* sp.) Akibat Perendaman Biji dengan Kolkisin. *Jurnal Symbiosis*, III(1), pp. 322–325.
- CABI. Centre in Agricultural and Biological Institute. 2018. *Clitoria ternatea* (Butterfly pea). London (UK). 102, pp. 213–220. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9724-6>.
- Datta, S.K. Mutation Studies on Garden *Chrysanthemum*. A Review. *Sci. Hort*, 7, pp. 159–199.
- Gomez, S.M., Kalamani A. 2003. Butterfly Pea (*Clitoria ternatea*): A Nutritive Multipurpose Forage Legume for the Tropics: An Overview. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(6), pp. 374–379.
- Handayani, T., Witjaksono, K. Utami. 2017. Induksi Tetraploid Pada Tanaman Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.) secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia*, 13(2), pp. 271–278.
- ILDIS. 2016. International Legume Database and Information Service. Reading, UK: School of Plant Sciences. <http://www.ildis.org/>
- Kaveri, Srinath R. 2015. In vitro germination and Embryo Culture in *Nothapodytes foetida* (Wight) Sleumer. *International Letters of Natural Sciences*, 48, pp. 23–31.
- Kobayashi, N., Yamashita, S., Ohta, K., Hosoki T. 2008. Morphological characteristics and their inheritance in colchicine-induced salvia polyploids. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci*, 77, pp. 186–191. doi: 10.2503/jjshs1.77.186.
- Koten, B.B., Wea, R., Soetrisno, R.D., Ngadiyono, N., Soewignyo, B. 2014. Konsumsi nutrisi ternak kambing yang mendapatkan hijauan hasil tumpang sari arbila (*Phaseolus lunatus*) dengan sorghum sebagai tanaman sela pada jarak tanam arbila dan jumlah baris sorgum yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak*, 1(8), pp. 38–45.
- Lestari, E.G. 2006. Hubungan antara Stomata dengan Ketahanan Kekeringan pada Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti, dan IR 64. *Biodiversitas*. 7(1), pp. 44–48.
- Kusrini, E., Dewi T., Ni'matul I. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Sebagai Agen Anti-Katarak. *Jurnal Jamu Indonesia*, 2(1), pp. 30–36.
- Makasana, J., Vipul P., Anjali S., Bharatkumar Z.D., Narendra A.G., Raju S. 2016. Effect of seed treatment on germination and flavonoids diversity in accession of butterfly pea (*Clitoria ternatea*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 86(12), pp. 1553–1558.
- Mattila, R.E. 1961. On the production of the tetraploid hybrid aspen by colchicine treatment. *Hereditas (Lund)*, 47, pp. 631–640.
- Mehrotra, S., Manoj K., Arun K., Bhartendu N. 2007. Efficiency of liquid culture systems over conventional micropropagation: A progress towards commercialization. *African Journal of Biotechnology*, 6(13), pp. 1484–1492.
- Moghbel, N., Borujeni, M.K., Bernard, F. 2015. Colchicine effect on the DNA content and stomata size of *Glycyrrhiza glabra* var. glandulifera and *Carthamus tinctorius* L. cultured in vitro. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13, pp. 13–16.
- Mohamed, N., Rosna M.T. 2011. Plant regeneration of *Clitoria ternatea* from leaf explants cultured in vitro. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9(3&4), pp. 268–270.
- Nulik, J. 2009. Kacang Kupu (*Clitoria ternatea*) Leguminosa Herba Alternatif untuk Sistem Usaha Tani Intergrasi Sapi dan Jagung di Pulau Timor. *Wartazoa*, 19(1), pp. 43–51.
- Nurwanti, L. 2010. Induksi Mutasi Kromosom dengan Kolkisin pada *Anthurium Wave of Love* (*Anthurium plowmanii* Croat.) secara *In Vitro*. Skripsi. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
- Paga, A., Bernadete B., Theresia N. 2015. Pemanfaatan Wafer Leguminosa Sebagai Pakan Ternak Alternatif Ternak Kambing Di Daerah Lahan Kering. *Partner*, 2, pp. 185–191.
- Permadi, A.H., Cahyani, R., Syarif, S. 1991. Cara Pembelahan Umbi, Lama Perendaman Dan Konsentrasi Colchicine Pada Poliploidisasi Bawang Merah Sumenep. *Zuriat*, 2(1), pp. 17–26.
- Prawiradiputra, B.R., Purwantari N.D., Herdiawan I. 2006. *Hijauan pakan ternak di Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.

- Rahayu, E., Dewi S., M. Syukur, Irawati. (2015). Induksi Poliploidi *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume dan *Phalaenopsis amboinensis* J. J. Smith dengan Kolkisin dalam Kultur In Vitro. *Jurnal Agron. Indonesia*, 43(3), pp. 219–226.
- Reddy, P., Krishna, M.P.R., Jaime, A., Bheem, R., Rhavicharan, A., Sokkareddy, S., Sivaramakrishnan, S. 2011. Efficient In Vitro Plant Regeneration of Cotton Cultivar Narashima (*Gossypium hirsutum* L.). *International Journal of Plant Development Biology*, 5(1), pp. 58–62.
- Reddy, P., Krishna M.P.R., Jaime A., Bheem R., Rhavicharan A., Sokkareddy S., Sivaramakrishnan S. 2011. Efficient In Vitro Plant Regeneration of Cotton Cultivar Narashima (*Gossypium hirsutum* L.). *International Journal of Plant Development Biology*, 5(1), pp. 58–62.
- Sinaga, E.J., Eva, S.B., Hasmawi, H. 2014. Pengaruh Konsentrasi Kolkisin Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 2(3), pp. 1238–1244.
- Sulistianingsih, R. 2006. Peningkatan Kualitas Anggrek Dendrobium Hibrida dengan Pemberian Kolkisin. <http://www.agrisci.ugm.ac.id/abdi/10/klinik> (diakses 10 Februari 2020)
- Sutedi, E. 2013. Potensi Kembang Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Tanaman Pakan Ternak. *Wartazoa*, 23(2), pp. 51–62.
- Tang, Z.Q., Chen, D.L., Song, Z.J., He, Y.C., Cai, D.T. 2010. In vitro induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 102, pp. 213–220
- Thao, N.T.P., Ureshino, K., Miyajima, I., Ozaki, Y., Okubo, H. 2003. Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 72, pp. 19–25.
- Yanhong, H., Yalin, S., Zheng, R., Ye, A., Zhe, C., Manzhu, B. 2016. Induction of tetraploid male sterile tagetes erecta by colchicine treatment and its application for interspecific hybridization. *Horticultural Plant Journal*, 2 (5), pp. 284–292.
- Yulianti, F., Agus, P., Ali, H., Diny, D. 2015. Induksi Tetraploid Tunas Pucuk Jeruk Siam Simadu (*Citrus nobilis* Lour) Menggunakan Kolkisin secara In Vitro. *Jurnal Agron. Indonesia*, 43(1), pp. 66–71.
- Zussiva, A., Bertha, K.C. Sri, B. 2012. Ekstraksi dan Analisis Zat Warna Biru (Anthosianin) dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Pewarna Alami. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 1(1), pp. 356–365.