

**KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN ALFALFA  
(*Medicago sativa* L.) HASIL INDUKSI MUTASI ORYZALIN  
SECARA *IN-VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**YUNITA DINUL ULA**  
**NIM. 16620091**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN ALFALFA  
(*Medicago sativa* L.) HASIL INDUKSI MUTASI ORYZALIN  
SECARA *IN-VITRO***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:  
YUNITA DINUL ULA  
NIM. 16620091**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN ALFALFA  
(*Medicago sativa* L.) HASIL INDUKSI MUTASI ORYZALIN SECARA *IN-  
VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh :

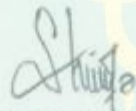
**YUNITA DINUL ULA**

**NIM. 16620091**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:

Tanggal 4 November 2020

Pembimbing I



Shinta, M. Si

NIP. 1988011020160801206

Pembimbing II



Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.

NIP. 197312121998031008

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.

NIP. 197410182003122002

**KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN ALFALFA (*Medicago sativa* L.) HASIL INDUKSI MUTASI ORYZALIN SECARA *IN-VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:

**YUNITA DINUL ULA**  
NIM. 16620091

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 30 November 2020

Penguji Utama : Dr. Evika Sandi Savitri, M. P  
NIP. 197410182003122002  
Ketua Penguji : Suyono, M.P  
NIP. 197106222003121002  
Sekretaris Penguji : Shinta, M.Si  
NIP. 19880110201608012064  
Anggota Penguji : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A  
NIP.197312121998031008

(.....)  
(.....)  
(.....)  
(.....)

Mengetahui,  
Ketua Jurusan



**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P**  
NIP. 197410182003122002

## HALAMAN PERSEMBAHAN

### Alhamdulillah

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas pelukan berkat, rahmat, ridho, dan segala kucuran keberkahan yang menjadikan saya manusia yang kuat, senantiasa berfikir, selalu ingin mencoba hal baru, dan sabar dalam menghadapi segala permasalahan. Semoga dengan terselesaikannya tugas ini, Engkau berikan keberkahan dalam setiap ilmu yang didapatkan. Senantiasa Engkau jadikan ini sebagai jembatan untuk mencapai hal-hal baik lainnya dikemudian hari.

Kupersembahkan karya yang jauh dari kata sempurna ini kepada orang-orang hebat yang selalu mengiringi penulis dalam tahapan, teruntuk:

1. Kedua orang tuaku, bapak Syaifuddin Zuhri dan ibu Niswatin terkasih. Telah menjadi mata air yang tak pernah surut untukku. Menjadi bagaskara yang tak pernah terbenam.
2. Sahabat risetku, Kak Lina Hidayatur R., Mbak Humayiroh, Safira Makhrusa Z., dan Kak Widya Maslahah yang selama ini selalu menemani dalam menghadapi setiap anca dari drama-drama kehidupan penelitian, selalu mengulurkan tangan dan senyuman. Dan tak ketinggalan kating Mak Lila Biarrohmah, yang dengan subtil memberikan dorongan semangat dan membantu menyelesaikan drama selama ini.
3. Teman-teman “Asisten’16” yang selalu telah memberikan banyak pengalaman luar biasa. Terkhusus, Zahra Maghfirotul H., dan Isnaeni Solika yang selalu sabar menghadapi jiwa ngeselinku. Rahmi dan Nisa’ yang selalu merekomendasikan tempat bakso enak di Malang, mengajak berdiskusi malam, dan selalu berkenan mengulurkan tangan menghadapi anca kehidupan mahasiswa.
4. Teman gaje mbak isma, mbak Qiqi, yang selalu kurepotin dan sering ngeselin.
5. Teman-teman angkatan ‘Gading Putih 16’. Terkhusus, ‘Biologi C’ yang telah memberikan berbagai warna kehidupan.

Atas dukungan, do'a, warna, pengalaman, dan segala cerita berkesan yang diberikan, semoga Allah membalas segala kebaikan yang telah diberikan. Semoga karya ini memberikan nilai manfaat bagi Saya dan orang lain. *AamiinYaa Robbal 'Alamiin.*



**Motto:**

*“All the broken hearts in the world still beat. Be Grateful”*



## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yunita Dinul Ula

NIM : 16620091

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Karakter Stomata dan Fenotipik Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)  
Hasil Induksi Mutasi Oryzalin secara *In-Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya sendiri bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 1 November 2020

Yang membuat pernyataan,



Yunita Dinul Ula

NIM. 16620091



## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutnya.



## ABSTRAK

**Ula, Yunita D. 2020. KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN ALFALFA (*Medicago sativa* L.) HASIL INDUKSI MUTASI ORYZALIN SECARA *IN-VITRO*.** Skripsi. Program Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Shinta M.Si; Pembimbing Agama: Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

---

*Kata kunci: Alfalfa (Medicago sativa L.), poliploidi, oryzalin, stomata, fenotipik/morfologi.*

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) merupakan tanaman fungsional yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia maupun pakan ternak karena memiliki kadar klorofil, protein, serta metabolit sekunder yang tinggi. Alfalfa memiliki prospek yang tinggi sebagai sumber pangan fungsional di Indonesia namun memiliki keanekaragaman yang rendah. Oryzalin efektif digunakan dalam konsentrasi yang sangat rendah ( $\mu\text{M}$ ) untuk poliploidi tanaman. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktorial, yaitu perlakuan konsentrasi 0  $\mu\text{M}$  (kontrol), 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$  sebanyak 5 kali ulangan. Parameter yang diamati yaitu karakter stomata meliputi panjang dan lebar stomata, kerapatan stomata, dan jumlah kloroplas, dan karakter fenotipik meliputi tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah nodus, jumlah daun, dan luas daun. Analisis pengujian dengan *One Way ANOVA*, dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikansi ( $p > 0.05$ ) menggunakan *software* SPSS 16.0. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan oryzalin berpengaruh nyata terhadap karakter stomata dan karakter fenotipik tanaman alfalfa. Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  dan 100  $\mu\text{M}$  memberikan pengaruh yang optimal terhadap karakter stomata, meliputi: panjang stomata sebesar 42,27  $\mu\text{m}$  dan 45,73  $\mu\text{m}$ , lebar stomata 38,58  $\mu\text{m}$  dan 45,69  $\mu\text{m}$ , kerapatan stomata 4,24  $\text{mm}^{-2}$  dan 4,03  $\text{mm}^{-2}$ , serta jumlah kloroplas 18,15 dan 20,27. Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  dan 100  $\mu\text{M}$  memberikan pengaruh yang optimal terhadap karakter fenotipik tunas, meliputi: tinggi tunas sebesar 4,1 cm dan 2,8 cm, jumlah tunas 6,4 dan 7, jumlah nodus 3,2 dan 4,6, jumlah daun 5,2 dan 5,4, serta luas daun 37,05  $\text{mm}^2$  dan 61,05  $\text{mm}^2$ .

## ABSTRACT

**Ula, Yunita D. 2020. THE CHARACTERS OF STOMATE AND PHENOTYPE OF ALFALFA PLANT (*Medicago sativa* L.) IN VITRO ORYZALIN INDUCTION RESULTS.** Thesis. Department of Biology. Faculty of Science and Technology. State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor of biology: Shinta, M.Si; Advisor of Religion: Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

---

Key words: *Alfalfa (Medicago sativa L.)*, *polyploidy*, *oryzalin*, *stomata*, *phenotype/morphology*.

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is a functional plant that has many benefits for human health and animal feed because it has high levels of chlorophyll, protein, and secondary metabolites. Alfalfa has high prospects as a source of functional food in Indonesia but has low diversity. Oryzalin is effectively used in very low concentrations ( $\mu\text{M}$ ) for plant polyploidy. This study used an experimental method with one factorial Completely Randomized Design (CRD), namely treatment concentrations of 0  $\mu\text{M}$  (control), 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , and 100  $\mu\text{M}$  with 5 replications. The parameters observed were stomata characters including: length and width of stomata, stomatal density, and number of chloroplasts, and phenotypic characters including: shoot height, number of shoots, number of nodes, number of leaves, and leaf area. Test analysis with One-Way ANOVA, followed by the Duncan Multiple Range Test (DMRT) with a significance level ( $p > 0.05$ ) using SPSS 16.0 software. The results showed that oryzalin treatment had a significant effect on the stomatal characters and phenotypic characters of alfalfa plants. Concentrations of 75  $\mu\text{M}$  and 100  $\mu\text{M}$  had an optimal effect on stomatal characters, including stomata length of 42.27  $\mu\text{m}$  and 45.73  $\mu\text{m}$ , stomata width 38.58  $\mu\text{m}$  and 45.69  $\mu\text{m}$ , stomatal density 4.24  $\text{mm}^{-2}$  and 4.03  $\text{mm}^{-2}$ , and the number of chloroplasts 18.15 and 20.27. Concentrations of 75  $\mu\text{M}$  and 100  $\mu\text{M}$  had an optimal effect on the phenotypic character of shoots, including shoot height of 4.1 cm and 2.8 cm, the number of shoots 6.4 and 7, the number of nodes 3.2 and 4.6, the number of leaves was 5.2 and 5.4, and the leaf area was 37.05  $\text{mm}^2$  and 61.05  $\text{mm}^2$ .

## مستخلص البحث

أولى، يونيتا د. خصائص الثغور والنمط الظاهري للبرسيم الحجازي (*Medicago Sativa L.*) ونتيجة تحريض طفرة الأوريزالين بطريقة الفيترو. بحث جامعي. قسم علم الأحياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. مستشار علم الأحياء: سينتا الماجستير؛ المستشار الديني: الدكتور الحاج أحمد بريزي الماجستير.

الكلمات الرئيسية: البرسيم الحجازي (*Medicago Sativa L.*)، تعدد الصيغ الصبغية، nilazyro، الثغور، النمط الظاهري/الشكل.

البرسيم الحجازي (*Medicago Sativa L.*) هو نبات وظيفي، وله فوائد عديدة لصحة الناس أو الأعلاف الحيوانية لأنه له محتويات الكلوروفيل، نسبة عالية من البروتين، والمستقبلات الثانوية العالية. كان للبرسيم الحجازي احتمال كبير لأن يكون مصدر الغذاء الوظيفي في إندونيسيا، ولكن لديها تنوع منخفض. يعتبر الأوريزالين فعالاً في تحريض تعدد الصيغ الصبغية يتم استخدامه بتركيزات منخفضة جداً ( $\mu\text{M}$ ) لتعدد الصيغ الصبغية النباتية. استخدمت هذه الدراسة الطريقة التجريبية ذات التصميم العشوائي  $0\mu\text{M}$ ،  $50\mu\text{M}$ ،  $75\mu\text{M}$  و  $100\mu\text{M}$  مع مكررات. كانت المتغيرات التي لوحظت هي خصائص الثغور التي تضمنت: طول و عرض الثغور، وكثافة الثغور، وعدد البلاستيدات الخضراء، والخصائص المظهرية بما في ذلك: ارتفاع النبات، و عدد البراعم، وعدد العقد، وعدد الأوراق، و مساحة الورقة. استخدم اختبار التحليل طريقة One Way ANOVA، باستخدام اختبار Duncan متعدد المدي (DMRT). بمستوى أهمية ( $p>0.05$ ) باستخدام برنامج SPSS. أظهرت النتائج أن معاملة الأوريزالين لها تأثير معنوي على الصفة الثغرية والطابع الظاهري لنبات البرسيم. كان لتركيزات  $75\mu\text{M}$  و  $100\mu\text{M}$  تأثير مثالي على الصفات الثغرية، بما في ذلك: طول الثغور  $42.27\mu\text{m}$  و  $45.73\mu\text{m}$ ، عرض الثغور  $38.58\mu\text{m}$  و  $45.69\mu\text{m}$ ، كثافة الثغو  $4.24\mu\text{m}$  و  $4.03\mu\text{m}$ ، وعدد البلاستيدات الخضراء  $18.15\text{mm}^{-2}$  و  $20.27\text{mm}^{-2}$ . تركيزات  $75\mu\text{M}$  و  $100\mu\text{M}$  كان لها التأثير الأمثل على الصفات المظهرية للبراعم، بما في ذلك: ارتفاع النبتة  $4.1\text{cm}$  و  $2.8\text{cm}$ ، عدد البراعم  $6.4$  و  $7$ ، عدد العقد  $3.2$  و  $4.6$ ، عدد الأوراق  $5.2$  و  $5.4$ ، و مساحة الورقة  $37.05\text{mm}^2$  و  $61.05\text{mm}^2$ .

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan pada kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Berkah, Rahmat dan Hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri M.P selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan selaku ketua penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran yang membangun.
4. Shinta, M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A selaku pembimbing skripsi dan pembimbing agama, yang telah banyak memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Suyono, M.P selaku dosen penguji utama yang telah memberikan banyak masukan dan saran yang membangun sehingga tugas akhir dapat terselesaikan.
6. Dr. Dwi Suheriyanto, M.P. selaku Dosen Wali yang telah memberikan dukungan dan semangat sehingga skripsi dapat terselesaikan
7. Kedua orangtua serta keluar yang senantiasa memberikan doa dan support kepada penulis dalam menuntut ilmu selama ini.
8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi pembaca dan penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Malang, 4 November 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>vi</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACK</b> .....	<b>x</b>
مستخلص البحث .....	<b>xi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Hipotesa penelitian .....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
1.6 Batasan Masalah.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>9</b>
2.1 Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L) .....	9
2.1.1 Tanaman Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.) dalam Perspektif Islam.....	9
2.1.2 Deskripsi dan Klasifikasi Alfafa ( <i>Medicago sativa</i> L.) .....	10
2.1.3 Kandungan dan Manfaat Tanaman .....	13
2.2 Kultur Jaringan Tanaman .....	15
2.3 Pemuliaan Tanaman dengan Poliploidisasi .....	17
2.4 Deteksi Poliploidi .....	18
2.5 Oryzalin C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S (19044-88-3) dalam Mempengaruhi Poliploidi .....	20
2.6 Pengaruh Oryzalin terhadap Karakter Stomata dan Karakter Fenotipik pada Berbagai Tanaman .....	21
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	<b>24</b>
3.1 Rancangan Percobaan.....	24
3.2 Variabel Penelitian .....	24
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	24
3.4 Alat dan Bahan .....	24
3.4.1 Alat.....	24
3.4.2 Bahan .....	25
3.5 Prosedur Kerja.....	25
3.5.1 Pembuatan Larutan Stok Oryzalin.....	25
3.5.2 Pembuatan Larutan Perlakuan Oryzalin .....	25
3.5.3 Pembuatan Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh.....	26

3.5.4 Pembuatan Media Perkecambahan .....	26
3.5.5 Pembuatan Media Induksi Pertumbuhan Tunas .....	26
3.5.6 Sterilisasi Media Perkecambahan dan Pertumbuhan Tunas .....	27
3.5.7 Sterilisasi Ruang .....	27
3.5.8 Sterilisasi Alat.....	27
3.5.9 Sterilisasi Eksplan.....	27
3.5.10 Tahap Inisiasi .....	28
3.5.11 Analisis Persentase Daya Hidup Kecambah.....	28
3.5.12 Analisis Karakter Fenotipik .....	29
3.5.13 Analisis Karakter Stomata .....	29
3.6 Analisis Data .....	30
3.7 Skema Kerja Penelitian .....	31
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>32</b>
4.1 Persentase Daya Hidup Kecambah Benih Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.) Hasil Induksi Mutasi Oryzalin.....	32
4.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Karakter Stomata Tanaman Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.).....	34
4.2.1 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Panjang dan Lebar Stomata.....	34
4.2.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Kerapatan Stomata.....	37
4.2.3 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Kloroplas.....	40
4.3 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Karakter Fenotipik Tanaman Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.).....	42
4.3.1 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Tinggi Tunas.....	42
4.3.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Tunas.....	44
4.3.3 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Nodus .....	46
4.3.4 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Daun .....	47
4.3.5 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Luas Daun.....	49
4.4 Tanaman Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.) dalam Perspektif Islam .....	51
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>54</b>
5.1 Kesimpulan.....	54
5.2 Saran .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>62</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> L.) .....	13
Gambar 2.2 Mekanisme poliploidisasi.....	17
Gambar 2.3 Struktur kimia oryzalin .....	20
Gambar 2.4 Mekanisme oryzalin menghambat pembentukan mikrotubul .....	21
Gambar 2.5 Perbedaan ukuran stomata antara diploid dan poliploid .....	22
Gambar 2.6 Perbedaan kerapatan stomata antara diploid dan poliploid .....	22
Gambar 2.7 Perbedaan jumlah kloroplas antara diploid dan poliploid .....	22
Gambar 3.1 Desain Penelitian .....	31
Gambar 4.1 Grafik persentase daya hidup kecambah tanaman alfalfa .....	32
Gambar 4.2 Perbedaan persentase daya hidup kecambah tanaman alfalfa.....	32
Gambar 4.3 Grafik panjang stomata tanaman alfalfa .....	35
Gambar 4.4 Grafik lebar stomata tanaman alfalfa .....	35
Gambar 4.5 Perbedaan ukuran stomata tanaman alfalfa .....	36
Gambar 4.6 Grafik kerapatan stomata tanaman alfalfa.....	37
Gambar 4.7 Perbedaan kerapatan stomata tanaman alfalfa .....	39
Gambar 4.8 Grafik jumlah kloroplas tanaman alfalfa .....	40
Gambar 4.9 Perbedaan jumlah kloroplas tanaman alfalfa .....	41
Gambar 4.10 Grafik tinggi tanaman alfalfa .....	43
Gambar 4.11 Perbedaan tinggi tanaman alfalfa .....	43
Gambar 4.12 Grafik jumlah tunas tanaman alfalfa .....	45
Gambar 4.13 Grafik jumlah nodus tanaman alfalfa .....	46
Gambar 4.14 Grafik jumlah daun tanaman alfalfa .....	48
Gambar 4.15 Grafik luas daun tanaman alfalfa .....	49
Gambar 4.16 Perbedaan ukuran luas daun tanaman alfalfa .....	50



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan .....	62
1. Karakter Stomata .....	62
2. Karakter Fenotipik .....	63
Lampiran 2. Data Hasil SPSS .....	65
1. Persentase daya hidup kecambah .....	65
2. Kerapatan stomata .....	65
3. Panjang stomata .....	66
4. Lebar stomata .....	67
5. Jumlah kloroplas .....	68
6. Tinggi tunas .....	69
7. Jumlah tunas .....	70
8. Jumlah nodus .....	71
9. Jumlah daun .....	72
10. Luas daun .....	73
Lampiran 3. Media Murashige and Skoog (MS) .....	74
Lampiran 4. Lembar Bukti Konsultasi .....	

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan memiliki peranan penting bagi keberlangsungan hidup manusia dan hewan. Hal ini dikarenakan tumbuhan menjadi produsen utama dalam rantai makanan. Berbagai macam jenis tumbuhan tersebar di bumi. Jumlah jenis tumbuhan yang telah teridentifikasi di bumi sebanyak 374.000, terdiri dari tanaman berpembuluh sebanyak 308,312 spesies dan tanaman tidak berpembuluh sebanyak 65.688 spesies (Christenhusz & Byng, 2016). Setiap jenis tumbuhan tersebut memiliki karakteristik yang berbeda. Sebagaimana Allah S.W.T telah berfirman dalam Surah Al-An'am ayat 99 tentang berbagai macam jenis tumbuhan ciptaan-Nya.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ  
 حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ  
 مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuh-tumbuhankan maka Kami keluarkan dari tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak, dan dari mayang mengurai tangkai –tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-An'am:6/99).

Ayat diatas memaparkan tentang variasi tumbuh-tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT, setiap tumbuhan tersebut memiliki manfaat bagi manusia. Ahmad Musthafa Al-Maraghi dalam tafsirnya kitab tafsir Al-Maraghi (1993) menjelaskan bahwa Allah menurunkan air hujan dari awan, lalu dari air tersebut ditumbuhkan tumbuhan yang bervariasi bentuknya (نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ). Tumbuh-tumbuhan tersebut memiliki ciri khas, perbedaan, dan kelebihan dari segi manfaatnya untuk manusia. Tumbuhan yang hijau (خَضِرًا) tersebut dijadikan oleh

Allah biji-bijian yang melimpah. Al-Qurthubi dalam tafsirnya kitab Tafsir Al-Qurtubi (2008) menjelaskan pula bahwa Allah menumbuhkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan dari air hujan sebagai rezeki setiap binatang dan manusia. Kemudian tumbuh-tumbuhan tersebut menghijau, yaitu sayur-sayuran yang menghijau, termasuk didalamnya tanaman alfalfa.

Alfalfa (*Leguminosae*) merupakan tanaman herba parenial yang berasal dari Asia, tanaman ini dikenal sebagai ‘Ayah dari segala macam makanan’ (*al-fal-fa*) karena mengandung senyawa obat yang relatif tinggi untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Bora & Sharma, 2011). Keunggulan tanaman ini dibandingkan jenis herba *leguminosa* lainnya yakni umurnya yang lumayan panjang mencapai 12 tahun, kandungan unsur makro, mikro, vitamin, serta asam amino yang lebih banyak (Sajimin & Purwantari, 2017). Tanaman ini kaya akan protein serta klorofil yang menjadi daya tarik tersendiri (Raei *et al.*, 2017). Kandungan klorofil dalam alfalfa memiliki potensi sebagai antioksidan dan radioprotektif secara *in-vitro* maupun *in-vivo*. Klorofil memiliki aktivitas mampu menghalangi oksidasi protein, peroksidasi lemak, kerusakan DNA, serta kerusakan membran (Mishra *et al.*, 2011). Bora & Sharma (2011) menyatakan bahwa tanaman alfalfa juga mengandung berbagai macam fitokimia meliputi: saponin, flavonoid, fitoestrogen, kumarin, alkaloid, terpenoid, asam amino, fitosterol, vitamin, dan enzim digestif. Fitoestrogen dan saponin merupakan jenis metabolit sekunder terbesar di alfalfa. Alfalfa secara umum dimanfaatkan sebagai pakan ternak, karena kandungan gizinya yang cukup tinggi dari beberapa hal: abu, protein, lemak, dan serat kasar. Kandungan gizi yang utama adalah protein sebesar 48,70% berat berangkas kering (Sajimin, 2011). Seiring waktu, tanaman ini juga telah dimanfaatkan manusia sebagai tanaman obat dan sayuran. Tanaman ini memiliki prospek yang tinggi untuk dikembangkan di Indonesia sebagai sumber pangan fungsional (Sajimin, 2011).

Pengembangan produksi alfalfa di Indonesia sampai saat ini masih terkendala karena menggunakan perbanyakan dengan benih, sementara benih yang dihasilkan kurang fertil (Nurmaningrum *et al.*, 2017). Selain itu, tanaman alfalfa memerlukan perawatan intensif, tidak mampu berkompetisi dengan gulma, serta mudah terserang hama seperti: ulat penggulung daun, kutu daun dan

belalang (Sajimin, 2011). Maka perlu dilakukan perbanyakan tanaman alfalfa secara vegetatif dengan *in-vitro*.

Kultur jaringan tumbuhan *in-vitro* merupakan suatu teknik perbanyakan tumbuhan dari satu sel maupun jaringan tumbuhan pada suatu media tumbuh buatan dalam kondisi steril. Keberhasilan perbanyakan *in-vitro* tersebut berdasarkan pemilihan media dan zat pengatur tumbuh (Dwiyani, 2015). Hasil penelitian Li *et al.*, (2009) mengindikasikan bahwa jenis medium Murashige and skoog penuh (*full MS*) dengan konsentrasi zat pengatur tumbuh 0,025 TDZ  $\text{mg l}^{-1}$  merupakan konsentrasi efektif dalam induksi tunas tanaman alfalfa. Namun, perbanyakan tanaman menggunakan teknik vegetatif secara *in-vitro* secara terus-menerus menyebabkan penurunan potensi genetik tanaman alfalfa (Sajimin & Purwantari, 2017).

Peningkatan potensi genetik tanaman dapat dilakukan dengan pemuliaan tanaman. Upaya pemuliaan tanaman tingkat individu (*whole plant level*) dapat dilakukan dengan cara konvensional persilangan tanaman, fusi protoplas, dan mutasi (Messmer *et al.*, 2015). Tanaman alfalfa merupakan tanaman asli subtropis dan baru dikembangkan di Indonesia pada tahun 2004, sehingga memiliki variasi genetik yang rendah. Oleh karena itu pemuliaan tanaman dengan persilangan tidak dapat dilakukan (Sajimin, 2017; Sobrizal, 2017). Selain itu, pemuliaan tanaman alfalfa dapat dilakukan dengan fusi protoplas dan mutasi. Namun, upaya pemuliaan tanaman dengan fusi protoplas menghasilkan sifat gabungan antar spesies donor termasuk dengan sifat yang tidak diharapkan peneliti, kemudian menyebabkan regenerasi tanaman yang rendah karena protoplas menjadi polinuklear dan mengganggu pembelahan dinding sel (Belete, 2018). Upaya pemuliaan tanaman dengan mutasi dinilai sebagai upaya yang paling efektif dikarenakan menghasilkan karakter spesifik yang mengubah sedikit sifat tanaman tanpa merubah sifat tanaman yang disukai, waktu relatif lebih sedikit digunakan dalam perbaikan varietas tanaman, juga memungkinkan munculnya sifat baru sehingga meningkatkan keanekaragaman genetik tanaman (Sobrizal, 2017). Induksi mutasi dapat dilakukan menggunakan mutagen fisika atau kimia. Mutagen fisika yang biasa digunakan yaitu sinar gamma, sinar X, dan sinar UV. Mutagen kimia yang biasa digunakan yaitu senyawa antimetabolit

(Comai, 2005). Penggunaan mutagen kimia lebih disarankan karena mutagen fisika menyebabkan aberasi yang tinggi pada kromosom tanaman, adanya efek radiasi pengion yang tinggi menyertai peneliti. Selain itu, mutagen kimia lebih mudah dilakukan dalam laboratorium *basic* (Maluszynski *et al.*, 2009; Pathirana, 2011).

Poliploidisasi merupakan upaya pemuliaan tanaman dengan prinsip mutasi genom menggunakan mutagen kimia (antimitotik) untuk menggandakan jumlah kromosom tanaman tersebut (tanaman poliploid) (Messmer *et al.*, 2015). Hasil penelitian Wiendra *et al.*, (2011) didapatkan bahwa tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) diploid memiliki jumlah kromosom sebanyak  $2n = 2x = 12$ , kemudian setelah diinduksi poliploid tanaman menjadi tetraploid dengan jumlah kromosom  $2n = 2x = 24$ . Organisme poliploid menunjukkan kemampuan adaptasi lingkungan yang lebih luas dibandingkan tanaman diploid, seperti peningkatan fitur adaptif terhadap berbagai cekaman abiotik dan biotik (Zhu *et al.*, 2018). Kemudian terjadi pula peningkatan kerja fotosintetik (Zhang *et al.*, 2020), yang pada akhirnya akan meningkatkan kekuatan serta kecepatan pertumbuhan (Zahumenická *et al.*, 2018), kandungan protein dan vitamin pada tanaman (Talebi *et al.*, 2017; Viehmannová *et al.*, 2012), metabolit sekunder tumbuhan (Kim *et al.*, 2004), serta konsentrasi klorofil (Talebi *et al.*, 2017). Tanaman poliploid dari segi morfologi seringkali menunjukkan peningkatan ukuran organ, seperti daun yang lebih hijau tebal dan lebih lebar (Chambers *et al.*, 2013), diameter batang yang lebih besar (Jiang *et al.*, 2020), bunga lebih besar (Zhang *et al.*, 2016), dan buah yang lebih besar (Niu *et al.*, 2016).

Mutagen kimia yang umumnya digunakan untuk poliploidisasi yakni kolkisin dan oryzalin (Comai, 2005). Namun, penggunaan kolkisin memiliki kelemahan yakni penempelannya yang buruk pada tubulin sehingga memerlukan konsentrasi yang tinggi untuk induksi poliploid. Alternatif antimitotik oryzalin digunakan karena afinitas yang tinggi pada tubulin tanaman sehingga dapat digunakan dengan konsentrasi yang rendah, dan memiliki kadar toksisitas yang rendah sehingga mampu meningkatkan daya survival tanaman (Faleiro *et al.*, 2016). Oryzalin dapat menginduksi poliploidi hanya dengan konsentrasi mikromolar ( $\mu\text{M}$ ), dan lebih efisien dari penggunaan kolkisin dengan konsentrasi

milimolar (mM) (Tomé *et al.*, 2016). Hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian Viehmannová *et al.*, (2009) berhasil menginduksi poliploidi tanaman yacon (*Smallanthus sonchifolius*) menggunakan oryzalin 25  $\mu\text{M}$  dengan persentase efisiensi poliploidi 10% dan daya survival 65%, lebih banyak dibandingkan kolkisin 3 mM dengan persentase efisiensi poliploidi 2,5% dan daya survival 40%.

Oryzalin ( $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ ) merupakan senyawa herbisida dinitroanilin dengan aktivitas antimitotik tinggi yang mampu mengikat tubulin  $\alpha$ , menghambat polimerasi mikrotubul saat pembelahan sel, kemudian menuntun penggandaan kromosom (Švécarová *et al.*, 2019). Penanda poliploidi hasil induksi mutasi oryzalin dapat dilihat dari karakter stomata dan karakter fenotipik tanaman (Chimezie *et al.*, 2015; Handayani & Witjaksono, 2017; Talebi *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Talebi *et al.*, (2017) berhasil menginduksi poliploidi tanaman *Agastache foeniculum* L dengan oryzalin 100  $\mu\text{M}$ . Tanaman diploid memiliki panjang stomata  $24,05 \pm 0,55 \mu\text{m}$ , lebar stomata  $10,98 \pm 0,84 \mu\text{m}$ , dan kerapatan stomata  $35,50 \pm 5,16 \text{ mm}^{-2}$ . Sedangkan tanaman tetraploid dengan panjang stomata  $32,55 \pm 0,42 \mu\text{m}$ , lebar stomata sebesar  $16,95 \pm 0,34 \mu\text{m}$ , dan kerapatan stomata  $11,66 \pm 1,36 \text{ mm}^{-2}$ . Tanaman tetraploid memiliki jumlah kloroplas sebanyak  $20,16 \pm 3,18$  sedangkan tanaman diploid sebanyak  $11,16 \pm 0,98$ . Hasil penelitian Handayani *et al.*, (2017) perlakuan poliploid oryzalin secara *in-vitro* pada tanaman *Psidium guajava* memiliki jumlah tunas yang lebih banyak pada tanaman perlakuan kontrol. Perlakuan oryzalin sebanyak 60  $\mu\text{M}$  menghasilkan sejumlah rerata 20 tunas per eksplan sedangkan perlakuan kontrol menghasilkan rerata 5 tunas per eksplan. Hasil penelitian Švécarová, *et al.*, (2019) berhasil menginduksi poliploid pada tanaman *Humulus lupulus* L. klon 31 dengan oryzalin 20  $\mu\text{M}$ , menghasilkan jumlah nodus poliploid sebanyak 35 nodus sedangkan diploid sebanyak 25 nodus.

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Dabkevičienė *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa perendaman benih *T. pratense* pada larutan oryzalin 50  $\mu\text{M}$  selama 6 jam, mampu meregenerasi tanaman tetraploid 31.3 – 41.7%, dengan laju survival sebesar 29.2% secara *in-vitro*. Kemudian, telah dilakukan uji pendahuluan induksi mutasi oryzalin alfalfa menggunakan berbagai eksplan,

yaitu: benih, nodus kotiledon, hipokotil, dan epikotil. Berdasarkan hasil uji pendahuluan, perlakuan mutasi menggunakan eksplan benih memiliki daya survival lebih tinggi daripada bagian eksplan lain (nodus kotiledon, hipokotil, dan epikotil), dikarenakan induksi poliploidi dari eksplan nodus kotiledon, hipokotil, dan epikotil akan mengalami *browning* pada hari ke-7 setelah tanam, kemudian mengalami kematian. Sehingga poliploidisasi pada penelitian ini dilakukan menggunakan eksplan benih.

Berdasarkan pemaparan diatas induksi mutasi menggunakan senyawa oryzalin telah banyak dilakukan pada tanaman lain. Namun, penelitian terkait perlakuan induksi mutasi dengan oryzalin terhadap tanaman alfalfa secara *in-vitro* belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian perlakuan antimitotik oryzalin terhadap karakter stomata dan fenotipik tanaman alfalfa secara *in-vitro*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap karakter stomata tanaman alfalfa (*M. sativa* L.)?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap karakter fenotipik tanaman alfalfa (*M. sativa* L.)?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Menganalisis pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap karakter stomata tanaman alfalfa (*M. sativa* L.).
2. Menganalisis pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap karakter fenotipik tanaman alfalfa (*M. sativa* L.).

## **1.4 Hipotesa penelitian**

Hipotesa penelitian ini meliputi:

1. Ada pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap karakter stomata tanaman alfalfa (*M. sativa* L.).

2. Ada pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap karakter fenotipik tanaman alfalfa (*M. sativa* L.).

### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi terkait optimasi konsentrasi penggunaan oryzalin dalam menginduksi poliploidi tanaman alfalfa (*M. sativa* L.).
2. Hasil penelitian memberikan informasi terkait optimasi penggunaan oryzalin dalam meningkatkan biomassa tanaman alfalfa (*M. sativa* L.).
3. Hasil penelitian dapat dijadikan rujukan untuk penelitian yang akan datang terkait poliploidi alfalfa maupun penelitian yang serupa.

### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Tanaman alfalfa yang digunakan berasal dari benih PT. Haira Seed Bogor.
2. Jenis alfalfa yang digunakan ialah *Medicago sativa* L.
3. Jenis eksplan yang diinduksi oryzalin ialah benih Alfalfa berukuran 2-3 mm.
4. Induksi oryzalin dilakukan dengan cara merendam eksplan dalam larutan oryzalin.
5. Konsentrasi oryzalin yang digunakan yaitu konsentrasi 0  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$  (berdasarkan hasil penelitian Dabkevičienė et al., (2016) konsentrasi oryzalin 50  $\mu\text{M}$ ).
6. Lama waktu inkubasi benih dalam larutan oryzalin yang digunakan yaitu 6 jam (Dabkevičienė et al., (2016)).
7. Media perkecambahan benih alfalfa ialah  $\frac{1}{2}$  Murashige dan skoog (MS).
8. Pengamatan daya hidup kecambah dilakukan setelah 2 minggu perkecambahan.
9. Bagian alfalfa yang digunakan sebagai eksplan multiplikasi induksi tunas yaitu bagian nodus kotiledon hasil perkecambahan benih alfalfa yang tidak *browning*.
10. Nodus kotiledon alfalfa berukuran panjang 1 cm.



11. Media induksi tunas dan regenerasi tunas yang digunakan yaitu Murashige dan skoog (MS) dengan penambahan zat pengatur tumbuh TDZ 0,025 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> (hasil penelitian Li *et al.*, (2009)).
12. Pengamatan dilakukan selama 6 minggu dengan 3 kali subkultur (hasil penelitian Li *et al.*, (2009)).
13. Karakter stomata yang diamati yaitu panjang stomata, lebar stomata, kerapatan stomata, dan jumlah kloroplas.
14. Karakter fenotipik yang diamati yaitu tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah nodus, jumlah daun, dan luas daun.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

#### 2.1.1 Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dalam Perspektif Islam

Allah SWT memastikan terpenuhinya setiap kebutuhan makhluk di Bumi. Allah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan untuk mencukupi segala keperluan hamba-Nya yang tunduk serta bersyukur atas pemberian-Nya, termasuk salah satunya tanaman alfalfa. Gomathi *et al.*, (2016) menjelaskan hampir seluruh bagian tanaman alfalfa telah banyak dimanfaatkan oleh manusia, mulai dari akar, batang, daun, hingga biji. Pokok pertumbuhan serta perkembangan alfalfa (*M. sativa*) yang memiliki banyak manfaat untuk manusia telah terkandung dalam Q.S An-Naba' ayat 14 – 16 berikut.

وَأَنْزَلْنَا مِنَ الْمُعْصِرَاتِ مَاءً ثَجَّاجًا ۖ لِنُخْرِجَ بِهِ حَبًّا وَنَبَاتًا ۖ وَجَنَّاتٍ أَلْفَافًا ﴿١٤﴾

Artinya:” Dan telah Kami curahkan dari awan air yang melimpah. Supaya kami tumbuhkan dari air itu biji-bijian, dan tumbuh-tumbuhan. Dan kebun-kebun yang lebat”(QS. An-Naba’:78/14-16).

Ayat diatas memaparkan bahwa Allah S.W.T. telah menciptakan berbagai variasi tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia, serta memberikan bukti bahwa Allah maha kuasa atas segala sesuatu. Seperti halnya penjelasan dalam tafsir Katsir (2004) bahwa dalam firman Allah “Supaya Kami tumbuhkan dari air itu biji-bijian, tumbuhan, serta kebun yang lebat”, berarti bahwa Allah menjadikan air bermanfaat untuk menumbuhkan (حَبًّا) ‘biji-bijian’ yang disimpan dalam tanah untuk keperluan manusia serta binatang ternak. Berdasarkan konteks biologi air sangat dibutuhkan biji untuk berkecambah, hingga pertumbuhan serta perkembangan tumbuhan setelah perkecambahan. Bhatla & Lal, (2018) menjelaskan pula fungsi air sebagai faktor utama pemecahan dormansi biji. Selain itu, peranan air bagi keberlangsungan hidup tumbuhan meliputi: pelarut, transportasi fotosintat, menjaga turgiditas sel, serta penyusun utama protoplas.

Kata (تَبَاتًا) memiliki arti tumbuh-tumbuhan, yang berarti dijadikannya tumbuhan yang hijau dari biji yang bisa dimakan saat masih basah. Kemudian diperkuat penjelasan Al-Qarni Aidh dalam kitab tafsir Al-Muyassar (Aidh, 2007), terkait ayat diatas berarti ditumbuhkan biji-biji tersebut sebagai makanan bagi manusia, rumput-rumputan untuk pakan ternak, dan kebun-kebun yang bertautan sama lain karena bercabang-cabang dahannya. Jenis spesies tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk dikonsumsi manusia maupun pakan ternak adalah alfalfa. Gomathi *et al.*, (2016) menyatakan bahwa kecambah alfalfa digunakan sebagai sayuran, daun serta akarnya digunakan sebagai obat antikolesterol, sedangkan bijinya ditumbuk untuk suplemen nutrisi. Selain itu, tanaman alfalfa di menjadi Hay sebagai pakan ternak yang kaya akan serat dan protein. Lalu kata (الْفَأْفَاءُ) yang berarti ‘kebun-kebun’ yakni kebun berisikan tanaman dan saling bertautan. alfalfa memiliki karakteristik batang bergerombol dan sehingga terlihat saling bertautan satu sama lain.

### 2.1.2 Deskripsi dan Klasifikasi Alfafa (*Medicago sativa* L.)

Tanaman alfalfa dianggap berasal dari dekat pusat timur Vavilov, yang meliputi Asia Kecil, Transcaucasia, Iran, dan dataran tinggi Turkmenistan (Bolton, 1962; Hanson, 1972). Klinkowski (1933) menganggap alfalfa berasal dari Meditarenia, bagian barat laut modern Persia. Sinskaya (1950) menyatakan bahwa alfalfa memiliki dua pusat asal, yaitu wilayah pegunungan Transcaucasia dan Asia Tengah. Namun, Iran paling sering dianggap sebagai tempat asal alfalfa (Bagavathiannan & Van Acker, 2009).

Persebaran tanaman alfalfa di berbagai lokasi menjadi penyebab perubahan serta perbedaan karakterisasi dari segi morfologi, fisiologi, hingga variasi genetik. Perubahan genetik tersebut mengakibatkan tanaman alfalfa mempunyai sifat alogami dan terjadi autotetraploidi (Sajimin, 2011). *Medicago sativa* spp. sativa terbagi menjadi tanaman diploid ( $2n = 2 \times = 16$ ) dan tetraploid ( $2n = 2 \times = 32$ ) subspecies. Subspecies tetraploid *M. sativa* ssp. sativa L., merupakan jenis tanaman leguminosa hijau umumnya di berbagai belahan dunia. Sedangkan subspecies diploid *M. sativa* ssp. caerulea (Less. ex Ledeb.) Schmalh memiliki morfologi yang mirip dengan bunga violet serta memiliki polong

melingkar. Umumnya benih tetraploid alfalfa lebih vigor daripada diploid sehingga alfalfa tetraploid dibudidayakan oleh manusia (Yu *et al.*, 2017).

Tanaman alfalfa berasal dari kawasan subtropis, sehingga bila dibudidayakan di daerah tropik perlu adaptasi serta perlakuan khusus. Pertumbuhan alfalfa subtropis memerlukan cahaya serta kadar kapur pada tanah yang cukup tinggi. Alfalfa sub tropis memiliki ketahanan terhadap temperatur tinggi, namun sangat rentan terhadap kelembaban tinggi. Tanah untuk memproduksi alfalfa harus memiliki pH 6,5 atau lebih (Widyati-Slamet *et al.*, 2014). Alfalfa memiliki tingkat toleransi terhadap garam serta kandungan alkalin yang tinggi (Bagavathiannan & Van Acker, 2009). Namun, tanaman alfalfa sangat rentan terhadap serangan hama dan sulit berkompetisi dengan gulma. Selain itu alfalfa sub tropis tidak dapat menghasilkan benih fertil di Indonesia (Sajimin, 2011).

Indonesia pertama kali membudidayakan alfalfa pada tahun 2003, tepatnya di Boyolali hingga ke BPTU-Baturaden sampai tahun 2005. Pada tahun 2007, alfalfa mulai dikembangkan menjadi koleksi tanaman pakan di Ciawi (Sajimin, 2011). Upaya budidaya alfalfa untuk tujuan komersial di Indonesia relatif masih baru. Dr. Nugroho Wasmadi, tenaga ahli pada Agrowisata Selo Pass mulai melakukan riset pengembangan alfalfa pada tahun 2000. Riset dilanjutkan bersama Indonesia Alfalfa Centre (IAC) yang berada di bawah Lembaga Penelitian Universitas Wahid Hasyim Semarang. Penelitian dilanjutkan dengan kerjasama perusahaan Taiwan pada tahun 2005. Kemudian pada tahun 2007, alfalfa hasil petani binaan IAC mulai diekspor ke Taiwan (Pakanternak.fapet.ugm.ac.id. 2017).

IAC telah berhasil mengembangkan alfalfa tropika (alfata) melalui sistem keseimbangan *interflow*, yakni mengkondisikan iklim mikro bawah tanah agar biji alfalfa dari daerah subtropik bisa tumbuh baik dan menghasilkan alfalfa dengan kandungan nutrisi tetap tinggi. Dalam beberapa aspek alfata dinyatakan bahkan lebih unggul dari alfalfa tropis, seperti: panen bisa sekali dalam 21 hari (subtropik 2 bulan sekali), kandungan protein 32% (dibanding 21%), usia produksi 3 tahun (dibanding 1 tahun), produksi 15 ton/ha (dibanding 10 ton/ha, media tanam segala

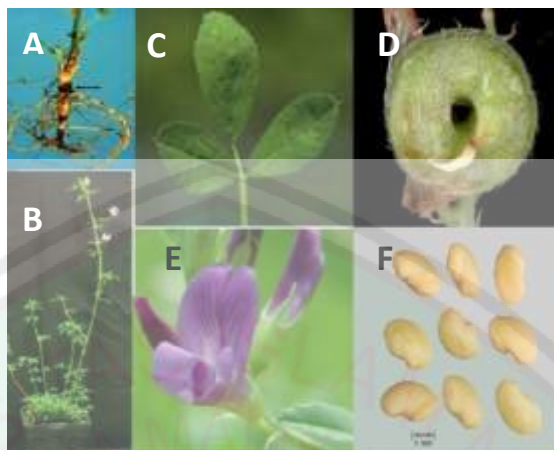
jenis tanah termasuk lahan tidak produktif, dibanding tanah gromosol) (Pakanternak.fapet.ugm.ac.id. 2017).

Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada (UGM) telah menemukan cara pembenihan alfalfa untuk mendorong terwujudnya pembenihan alfalfa tropika (Alfata) di Indonesia. Hasil penelitiannya mencatat hasil produksi segar alfalfa mencapai 6-8 ton per hektar (ha). Selain itu, juga alfata mengandung 22 – 29% protein, dan mampu menghasilkan biji fertil yang bisa tumbuh jika ditanam dengan daya viabilitas hingga 67% (Fapet.ugm.ac.id. 2018). Secara morfologi alfalta sama dengan alfalfa pada umumnya.

Alfalfa memiliki sistem perakaran tunggang yang mampu menembus kedalam tanah hingga kedalaman 6 meter (Gambar 2.1A) (Bora & Sharma, 2011). Akar alfalfa juga membentuk rhizoma. Alfalfa memiliki batang mendatar, menanjak, sampai tegak dengan bagian dasar batang utama berkayu (Widyati-Slamet *et al.*, 2014). Beberapa jenis batang alfalfa terbentuk saat perkembangannya, terdapat tunas aksilar dibawah ketiak daun yang menjadi batang tegak (batang utama) setelah mahkota (*crown*) sedangkan tunas aksilar diatas tanah akan membentuk percabangan. Mahkota memiliki aktivitas meristem yang memproduksi tunas untuk berkembang menjadi batang (Bora & Sharma, 2011). Batang utama dapat tumbuh dengan panjang sekitar satu meter setelah *crown* (Bagavathiannan & Van Acker, 2009). Setiap *crown* mampu membentuk 5-25 batang (Gambar 2.1B) (Doss *et al.*, 2011).

Daun alfalfa berbentuk *trifoliolate* pada setiap tangkainya (Gambar 2.1C). Daun alfalfa berbentuk *obovate-oblong* sampai oval dengan tepi daun bergerigi. Daun alfalfa umumnya memiliki panjang 10 – 45 mm dan lebar 3 – 10 mm. Bagian bawah daun serta tangkai daun memiliki bulu atau trikoma (Doss *et al.*, 2011). Bunga alfalfa merupakan tipe bunga tandan (*racemes*) aksilar. Setiap tandan berisikan 10 – 35 bunga (Widyati-Slamet *et al.*, 2014). Kelopak bunga alfalfa berbentuk tabular dengan korola berwarna kuning, biru, atau ungu. Bunga umumnya memiliki panjang sekitar 6 – 15 mm (Gambar 2.1D). Bunga alfalfa akan membentuk polong biji berbentuk spiral setelah polinasi (Gambar 2.1E) (Bora & Sharma, 2011). Setiap polong mampu membentuk 2 – 3 spiral dengan permukaan gundul, polong berdiameter 3 – 9 mm. Setiap polong berisi 6 – 8 biji

alfalfa (Doss *et al.*, 2011). Biji alfalfa berbentuk seperti ginjal dan berwarna coklat dengan diameter 1 – 2 mm (Gambar 2.1F) (Bagavathiannan & Van Acker, 2009).



Gambar 2.1 Morfologi Alfalfa (A) akar tanaman alfalfa, (B) tanaman alfalfa dengan bunganya (O'Rourke *et al.*, 2015), (C) daun *trifoliata* alfalfa (Casler & Undersander, 2019), (D) spiral polong alfalfa, (E) bunga alfalfa (O'Rourke *et al.*, 2015), dan (F) biji alfalfa (Casler & Undersander, 2019)

Alfalfa merupakan salah satu tanaman leguminosa perennial dengan klasifikasi berasal dari Kingdom Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Subkelas Rosidae, Ordo Fabales, Famili Fabaceae, Genus *Medicago*, dan Species *Medicago sativa* L. (Bagavathiannan & Van Acker, 2009).

### 2.1.3 Kandungan dan Manfaat Tanaman

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) terkenal dengan nama lainnya, *Queen of Forages* sebagai sumber makanan ternak. Tanaman ini dikenal sebagai tanaman yang palatable, bergizi, kaya protein, vitamin, dan mineral untuk memenuhi kebutuhan hidup ternak karena mempunyai serat kasar dan protein kasar yang tinggi (Widyati-Slamet *et al.*, 2014). Tanaman alfalfa banyak digunakan sebagai pakan ternak karena kandungan gizinya yang tinggi dari aspek abu, protein, lemak, dan serat kasar. Kandungan gizi yang utama yaitu protein sebesar 48,70% berat kering.

Tepung alfalfa juga dapat digunakan sebagai pelengkap ransum unggas. Hal ini dikarenakan kandungan tepung alfalfa memiliki kandungan gizi serta asam

amino tinggi untuk meningkatkan kualitas telur yang dihasilkan unggas. Ransum pakan ternak meningkatkan berbagai kualitas telur meliputi: kualitas kulit telur, kualitas kuning telur, derajat albumin, nilai gizi untuk kepentingan konsumsi, dan meningkatkan ukuran besar telur (Subantoro, 2009).

Alfalfa merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang kaya akan mineral, protein, dan vitamin sehingga banyak digunakan masyarakat. Kecambah alfalfa sering dimanfaatkan manusia sebagai salad sayur. Sedangkan daun, batang, akar, serta bijinya ditumbuk menjadi bubuk herbal, kapsul, atau tablet untuk suplemen nutrisi. (Gomathi *et al.*, 2016). Daun dan batang alfalfa sering digunakan dalam berbagai macam pengobatan, baik pengobatan medis maupun tradisional, seperti: agen anti bakteri, stimulator laktasi (suplai ASI), dan sebagai tonik restoratif untuk pencernaan. Selain itu, kandungan antioksidan dalam tanaman ini juga mampu mencegah kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Hanif *et al.*, 2015). Gomathi *et al.*, (2016) menyatakan pula bahwa ekstrak kecambah alfalfa, daun, dan akar mampu menurunkan kolesterol baik dalam studi kasus hewan maupun manusia.

Alfalfa dikenal sebagai tanaman yang kaya akan klorofil (Raei *et al.*, 2017). Mishra *et al.*, (2011) menyatakan bahwa terdapat beberapa macam potensi mekanisme aksi klorofil serta derivatnya sebagai bahan kegunaan medis, meliputi: (1) aktivitas antioksidan; (2) pemodifikasi efek genotoksik; (3) inhibisi enzim sitokrom P450; (4) induksi fase II enzim; (5) meningkatkan level dari glutathion S-transferase; (6) diferensiasi sel, *cell arrest* dan apoptosis. Sehingga, didapatkan efek klorofil dalam menghalangi oksidasi protein, peroksidasi lemak, kerusakan DNA, serta kerusakan membran. Saat ini, bidang kedokteran telah menggunakan klorofil sebagai obat dan diagnostik. Molekul klorofil digunakan dalam farmasi sebagai fotosensitizer untuk terapi kanker.

Bora & Sharma (2011) menyatakan bahwa tanaman alfalfa mengandung berbagai macam fitokimia meliputi: saponin, flavonoid, fitoestrogen, kumarin, alkaloid, terpenoid, asam amino, fitosterol, vitamin, dan enzim digestif. Doss *et al.*, (2011) menyatakan bahwa berbagai macam metabolit sekunder bernilai obat bagi manusia karena terdapat zat kimia yang mampu menghasilkan aksi fisiologis yang pasti pada tubuh manusia. Fitoestrogen dan saponin merupakan jenis

metabolit sekunder terbesar di tanaman alfalfa. Keduanya menawarkan prospek pengobatan serta nutrisi yang menarik (Bora & Sharma, 2011). Fitoestrogen, terutama koumestrol, genin api, dan kuersetin menunjukkan aktivitas estrogenik yang kuat serta berpotensi sebagai obat kanker terkait hormon. Kandungan saponin pada daun alfalfa mencapai 2 – 3%. Saponin alfalfa jika dihidrolisis akan menghasilkan aglikon asam medikagenik, soyasapogenols, dan hederagenin dan glukosa glikon, arabinosa, xilosa, rhamnosa, galaktosa, dan asam glukuronat (Shankar *et al.*, 2010). Saponin hasil isolasi dari alfalfa dapat digunakan sebagai antibakteri berbagai jenis bakteri gram-positif, seperti: *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus faecalis*. Aktivitas antifungi diskrit juga diamati, terutama terhadap *Saccharomyces cerevisiae*. Pada alfalfa terdapat pula kandungan asam medikagenik yang memiliki aktivitas antimikroba (Avato *et al.*, 2006).

## 2.2 Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan tanaman merupakan suatu teknik perbanyakan tanaman dari bagian sel, jaringan ataupun irisan organ tanaman di laboratorium pada suatu media buatan yang mengandung nutrisi dengan kondisi aseptik. Metode perbanyakan dengan kultur jaringan tanaman termasuk dalam metode perbanyakan tanaman secara vegetatif, sehingga tanaman hasil proses kultur jaringan tanaman memiliki sifat yang identik dengan induknya (Dwiyani, 2015). Kultur jaringan tanaman dilakukan berdasarkan teori totipotensi sel (*cellular totipotency*). Teori totopotensi sel menyatakan bahwa setiap sel tanaman mampu beregenerasi menjadi tanaman secara utuh (George *et al.*, 2008).

Keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in-vitro* ditentukan oleh beberapa faktor, seperti: jenis eksplan, jenis media tumbuh, sterilisasi, dan zat pengatur tumbuh yang digunakan. Regenerasi tanaman secara langsung pada dasarnya dibagi menjadi dua macam, yakni organogenesis secara langsung dari eksplan yang memiliki primordia tunas dan organogenesis secara langsung dari eksplan yang tidak memiliki primordia tunas. Teknik organogenesis secara langsung dari eksplan yang memiliki primordia tunas jika jaringan eksplan yang digunakan memiliki bakal tunas (*pre-existing shoots*), menghasilkan tunas aksilar. Eksplan



yang digunakan pada metode ini berupa tunas apikal (*apical buds*), tunas lateral (*laterally buds*), dan nodus pada batang (*nodal segment*). Organogenesis secara langsung dari eksplan yang tidak memiliki bakal tunas terjadi jika tunas muncul secara langsung misalnya dari eksplan daun dan eksplan kotiledon, menghasilkan tunas adventif (Dwiyani, 2015).

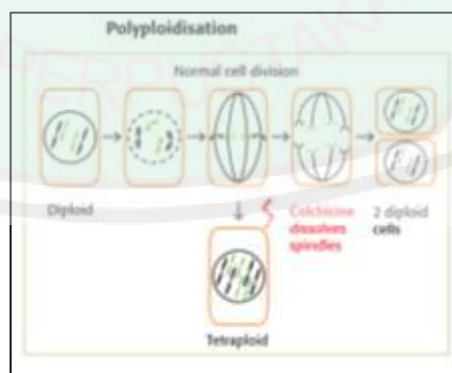
Media buatan mengandung komponen hara makro dan hara mikro untuk mendukung terjadinya morfogenesis serta pertumbuhan eksplan. Hara makro adalah unsur hara esensial yang dibutuhkan dalam jumlah banyak oleh tanaman, yaitu: nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg), dan sulfur (S). Hara mikro adalah unsur hara esensial yang dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit oleh tanaman, yaitu: besi (Fe), mangan (Mn), seng (Zn), kobalt (Co), tembaga (Cu), dan molibdenum (Mo) (Dwiyani, 2015). Terdapat berbagai macam media basal untuk kultur jaringan tumbuhan, yaitu: Murashige and Skoog (MS), B5, *Vacint and Went* (VW), *Nitsch and Nitsch* (NN), *Schenk dan Hildebrandt* (SH), *Woody Plant Medium* (WPM), dan media N6 (Dwiyani, 2015). Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk  $\text{NO}_3$  dan 29 mM dalam bentuk  $\text{NH}_4^+$ . Konsentrasi ini lebih besar dibandingkan dengan media-media lainnya. Komposisi media MS ini mampu mendukung kultur jaringan tanaman lain (George *et al.*, 2008). Penggunaan media MS untuk menginduksi tunas langsung pada alfalfa hingga regenerasi telah banyak digunakan oleh peneliti (J. J. Li *et al.*, 2009; Orcen, 2013). Sehingga, penelitian ini menggunakan media MS.

Pemilihan jenis zat pengatur tumbuh dalam kultur *in-vitro* disesuaikan dengan tujuan peneliti. Eksplan akan membentuk akar jika rasio auksin yang lebih tinggi dari sitokinin. Jika rasio sitokinin lebih tinggi dari auksin akan menginduksi terbentuknya tunas. Berdasarkan teori jika rasio konsentrasi auksin dan sitokinin pada sama maka eksplan akan membentuk kalus (Lestari, 2011). Namun, terdapat interaksi khusus antara ZPT dengan faktor genetik tanaman yang dikulturkan, sehingga kebutuhan akan jenis serta konsentrasi sitokinin dan auksin sebagai stimulator dalam arah morfogenesis tanaman pun bersifat *species-specific* (Satyavathi *et al.*, 2004). Thidiazuron (TDZ) merupakan jenis sitokinin paling aktif daripada jenis sitokinin lainnya untuk induksi tunas *in-vitro* dan proliferasi tunas (Khawar *et al.*, 2004). Telah banyak hasil penelitian yang menegaskan

bahwa TDZ optimum dalam meningkatkan rasio induksi serta regenerasi tunas pada tanaman legum (Band *et al.*, 2011; Hnatuszko-Konka *et al.*, 2019; Hosseini-Nasr & Rashid, 2003; J. J. Li *et al.*, 2009). Hasil penelitian Li *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa konsentrasi TDZ 0,025 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> memiliki efektivitas yang optimum bagi regenerasi tunas *M. sativa* L.

### 2.3 Pemuliaan Tanaman dengan Poliploidisasi

Pemuliaan tanaman merupakan kegiatan mengubah susunan genetik individu maupun populasi tanaman untuk suatu tujuan sehingga diperoleh tanaman yang lebih bermanfaat. Pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan persilangan tanaman, mutasi, dan rekayasa genetika (Sobrizal, 2017). Pemuliaan tanaman dengan metode mutasi memiliki banyak kelebihan daripada metode lain, yakni menghasilkan karakter spesifik yang mengubah sedikit sifat tanaman tanpa merubah sifat tanaman yang disukai, waktu relatif lebih sedikit digunakan dalam perbaikan varietas tanaman, juga memungkinkan munculnya sifat baru (Sobrizal, 2017). Salah satu jenis prosedur pemuliaan tanaman berdasarkan prinsip mutasi ialah teknik poliploidisasi. Poliploidisasi ialah suatu metode manipulasi kromosom dari diploid (2n) menjadi jumlah kromosom yang lebih tinggi triploid, tetraploid, pentaploid dan seterusnya (Kadi, 2007). Penggandaan kromosom akibat proses poliploidi mempengaruhi semua gen sehingga disebut mutasi genom (Gambar 2.2) (Messmer *et al.*, 2015).



Gambar 2.2 Mekanisme proses poliploidisasi dalam menggandakan kromosom sel tumbuhan (Messmer *et al.*, 2015)

Poliploidii terbentuk dalam dua kelompok. Kelompok pertama, autopoliploidii merupakan penggandaan ploidi melalui penggabungan genom-genom yang sama, misalnya kentang tetraploid AAAA. Kelompok kedua, alopoliploidii ialah penggandaan kromosom yang terjadi melalui penggabungan genom-genom yang berbeda, misalnya gandum hexaploid, yang memiliki tiga genom berbeda AABBDD. Manipulasi ini banyak dilakukan pada tanaman, dari dua jenis tanaman berbeda digabungkan, keduanya menghasilkan organisme alopoliploid dengan jumlah kromosom  $2x + 2y$  (Kadi, 2007; Messmer *et al.*, 2015). Messmer *et al.*, (2015) menyatakan bahwa poliploidii dapat terjadi secara spontan atau diinduksi dengan bahan kimia. Bahan kimia yang paling banyak digunakan sebagai agen poliploidisasi yaitu senyawa antimitotik kolkisin dan oryzalin.

Penelitian ini menggunakan oryzalin sebagai senyawa antimitotik poliploidisasi. Hal ini merujuk pada hasil penelitian Bartels and Hilton (1973) bahwa oryzalin dapat digunakan sebagai alternatif agen poliploidisasi tanaman. Barandalla *et al.*, (2006) menyatakan pula bahwa hasil determinasi *flowcytometric* dari konten DNA nuklear pada sel interfase serta jumlah kromosom pada sel mitosis menunjukkan bahwa oryzalin memiliki efisiensi yang tinggi sebagai agen penggandaan kromosom.

Induksi mutasi poliploid dapat dilakukan secara *in-vitro* dan *ex-vitro* (lapangan) (Dabkevičienė *et al.*, 2016). Mutasi secara *in-vitro* dibandingkan dengan *ex-vitro* memiliki beberapa kelebihan seperti lingkungan tumbuh yang dapat dikontrol dengan baik (Messmer *et al.*, 2015) sehingga dimungkinkan mampu mengabaikan pembentukan kimera, serta dihasilkan sel mixoploid yang relatif sedikit. Mixoploid (kimera) hasil *in-vitro* dapat dihilangkan dengan subkultur planlet berulang sampai diperoleh poliploid yang solid (Handayani & Witjaksono, 2017).

#### 2.4 Deteksi Poliploidii

Deteksi poliploid dapat dilakukan secara karakter fenotipik, sitologi, stomata, maupun konten klorofil (Dar *et al.*, 2017). Karakter fenotipik dapat dilakukan dengan cara mengamati adanya perubahan ukuran organ atau bagian dari tanaman

hasil induksi poliploidisasi, misalnya: ukuran daun, diameter petiola, ketebalan daun, diameter batang, tinggi tanaman, dan ukuran bunga. Karakter fenotipik dapat dilihat pula dari jumlah organ tanaman, misalnya jumlah daun dalam satu tangkai, jumlah nodus dalam satu batang, serta jumlah biji yang dihasilkan dalam satu individu tanaman (Chambers *et al.*, 2013). Niu *et al.*, (2016) menyatakan bahwa seiring bertambahnya tingkat poliploid tanaman *Jatropha curcas* hasil induksi poliploidisasi menjadikan daun lebih tipis. Hasil penelitian (Talebi *et al.*, 2017) menyatakan bahwa tanaman *Agastache foeniculum* tetraploid memiliki daun yang lebih lebar ( $46.14 \pm 0.90$  mm), daun lebih panjang ( $57.23 \pm 0.43$  mm) daripada tanaman diploid dengan panjang daun ( $45.14 \pm 0.72$ ) dan lebar daun ( $40.45 \pm 1.01$ ).

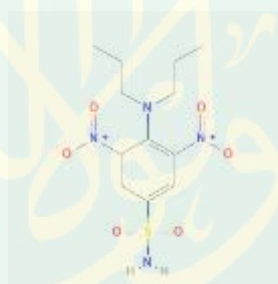
Karakter sitologi dilakukan dengan teknik *karyotyping* jumlah kromosom pada saat pembelahan mitosis maupun meiosis tanaman. Hasil penelitian M. Li *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa hasil induksi poliploid pada tanaman *Bletilla striata* menjadikan tanaman diploid ( $2n = 2x = 32$ ) tetraploid menjadi tanaman tetraploid ( $2n = 4x = 64$ ). Selain itu, dapat pula dilakukan dengan pengamatan ukuran sel stomata, kerapatan stomata, diameter serbuk sari dan jumlah kloroplas dalam sel penjaga (Mostafa & Alhamd, 2016).

Hasil penelitian Omidbaigi *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa panjang stomata tanaman basil tetraploid  $16.45 \pm 0.97$   $\mu\text{m}$  lebih panjang daripada tanaman diploid  $8.70 \pm 0.47$   $\mu\text{m}$ , selain itu lebar stomata tanaman tetraploid  $11.99 \pm 0.93$   $\mu\text{m}$  lebih lebar dibandingkan tanaman diploid  $2.97 \pm 0.17$   $\mu\text{m}$ . Hasil penelitian Tulay & Unal (2010) didapatkan bahwa tanaman *Vicia villosa* poliploid memiliki daun yang lebih gelap dikarenakan kandungan klorofil yang lebih tinggi ukuran stomata yang lebih besar tetapi jumlah stomata per area lebih sedikit dibandingkan tanaman diploid. Kerapatan stomata tanaman poliploid lebih rendah dibandingkan tanaman diploid, dikarenakan bertambahnya ukuran sel tanaman poliploid. Selain itu, tanaman poliploid juga memiliki rerata jumlah kloroplas yang meningkat seiring meningkatnya derajat poliploid. Tanaman diploid *Ocimum basilicum* L. memiliki kerapatan stomata sebesar  $20,80 \pm 0,61$   $\text{mm}^{-2}$  dengan jumlah kloroplas  $12,80 \pm 0,28$ , sementara tanaman tetraploid memiliki kerapatan stomata sebesar  $7,58 \pm 0,22$   $\text{mm}^{-2}$  dengan jumlah kloroplas  $25,8 \pm 0,33$  (Omidbaigi *et al.*, 2010).

Konten klorofil merupakan karakter yang dapat dijadikan sebagai deteksi poliploidi. Konsentrasi klorofil berhubungan dengan tingkat ploidi tanaman, Konsentrasi klorofil umumnya bertambah secara signifikan berdasarkan fungsi kuadratik dari tetraploid ke heksaploid ke oktaploid sampai ke dekaploid, dengan maksimal konten klorofil pada oktaploid (Vyas *et al.*, 2007). Hasil penelitian Beck *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa jumlah klorofil pada kloroplas *Acacia maerensii* tetraploid lebih banyak dibandingkan dengan diploid.

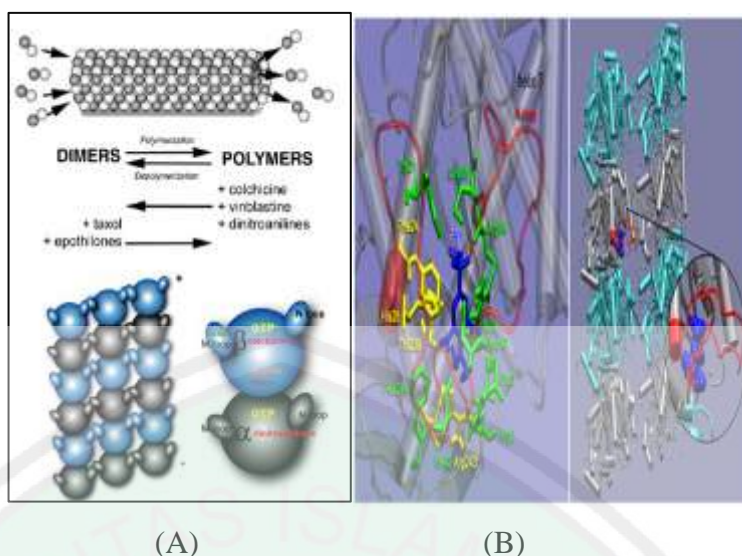
### 2.5 Oryzalin C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S (19044-88-3) dalam Mempengaruhi Poliploidi

Oryzalin merupakan senyawa herbisida yang memiliki rumus kimia C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S (Gambar 2.3). Oryzalin (3,5-dinitro-N4N4-dipropylsulfanilamide) termasuk herbisida dinitroanilin turunan dari keluarga kimia toluidine (Dow AgroSciences, USA). Oryzalin memiliki nama lain (sinonim) meliputi Surflan, Dirimal, 4-(Dipropylamino)-3,5-dinitrobenzene sulfonamide, Ryzelan, Dirimal Extra, Ryzelan, Rycelon, 3,5-Dinitro-N4, 3,5-Dinitro-N4, N4-dipropyl sulphanylamide, N4-Dipropyl-3,5-dinitro sulfanylamide (Pubchem.ncbi).



Gambar 2.3 Struktur kimia oryzalin (Pubchem.ncbi)

Perbedaan aktivitas oryzalin dalam menginduksi poliploid dengan senyawa antimetabolik kolkisin terletak pada situs penempelannya, kolkisin menempel pada dimer tubulin  $\beta$  sementara oryzalin menempel pada dimer tubulin  $\alpha$  (Gambar 2.4A). Oryzalin memiliki aktivitas mampu menghambat pembentukan mikrotubula sel. Proses oryzalin dalam menghambat pembentukan mikrotubula sel diawali oleh berikatan dengan *loop* N sehingga menghambat interaksi *loop* N dengan *loop* M. *Loop* N dan *loop* M berfungsi untuk stabilitas mikrotubulus. Berdasarkan hasil *docking* titik mutasi oryzalin pada tubulin  $\alpha$  berada di wilayah inti antara *loop* N dan *loop* M (Gambar 2.4B) (Morrisette *et al.*, 2003).



Gambar 2.4 Mekanisme oryzalin dalam menghambat pembentukan mikrotubul sel tanaman. A) Oryzalin berikatan dengan dimer tubulin  $\alpha$  (ditandai dengan warna perak), B) Oryzalin ditandai dengan warna biru. *Loop* N ditandai warna merah. (Kiri) oryzalin memiliki struktur yang berikatan ke tubulin. Situs pengikatan termasuk residu Phe24, His28, Thr239, dan Arg 242. Situs pengikatan berada di bawah *loop* N. (Kanan) dua protofilamen, masing-masing terdiri dari dua heterodimer a dan b (Morrissette *et al.*, (2003))

Berikatannya oryzalin dengan dimer tubulin  $\alpha$  sehingga gagal membentuk protofilamen. Protofilamen tersebut merupakan penyusun mikrotubula singlet, mikrotubula singlet penyusun mikrotubula duplet, dan *spindle* tersusun dari mikrotubula duplet (Alberts *et al.*, 2002). Mekanisme oryzalin dalam poliploidisasi berhubungan dengan aktivitasnya dalam menghambat pembentukan mikrotubula sel, sehingga proses mitosis terganggu dan proses pemisahan kromosom pada fase metafase pun ikut terganggu. Sementara proses replikasi DNA akan tetap berada dalam satu sel, sehingga setiap sel memiliki kromosom dua kali lipat dari jumlah awal (Strachan & Hess, 1983).

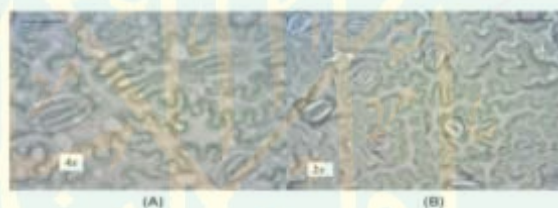
## 2.6 Pengaruh Oryzalin terhadap Karakter Stomata dan Karakter Fenotipik pada Berbagai Tanaman

Dar *et al.*, (2017) menjelaskan bahwa pengaruh poliploidisasi dapat dilihat dari karakter stomata tanaman meliputi ukuran sel stomata, kerapatan stomata, jumlah kloroplas dalam sel penjaga. Hasil penelitian Talebi *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa tanaman *Agastache foeniculum* L. berhasil diinduksi

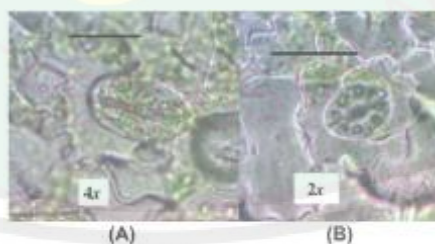
poliploid dengan oryzalin 100  $\mu\text{M}$ . Tanaman diploid memiliki panjang stomata  $24,05 \pm 0,55 \mu\text{m}$ , lebar stomata  $10,98 \pm 0,84 \mu\text{m}$ . Sedangkan tanaman tetraploid dengan panjang stomata  $32,55 \pm 0,42 \mu\text{m}$ , lebar stomata sebesar  $16,95 \pm 0,34 \mu\text{m}$  (Gambar 2.5). Bertambahnya ukuran stomata secara langsung akan berdampak pada berkurangnya kerapatan stomata tanaman. Tanaman tetraploid dengan kerapatan stomata sebanyak  $11,66 \pm 1,36 \text{ mm}^{-2}$ . Sedangkan kerapatan stomata tanaman diploid sebanyak  $35,50 \pm 5,16 \text{ mm}^{-2}$  (Gambar 2.6). Tanaman tetraploid memiliki jumlah kloroplas sebanyak  $20,16 \pm 3,18$  lebih tinggi dibandingkan dengan diploid dengan jumlah kloroplas  $11,16 \pm 0,98$  (Gambar 2.7).



Gambar 2.5 Perbedaan ukuran stomata antara diploid dan tetraploid pada tanaman *A. foeniculum* L. hasil induksi oryzalin (Talebi *et al.*, 2017)



Gambar 2.6 Perbedaan kerapatan stomata antara diploid dan tetraploid pada tanaman *A. foeniculum* L. hasil induksi oryzalin. A) Tanaman tetraploid, B) Tanaman diploid (Talebi *et al.*, 2017)



Gambar 2.7 Perbedaan jumlah kloroplas antara tanaman diploid dan tetraploid pada tanaman *A. feoniculum* L. hasil induksi oryzalin. A) Tanaman tetraploid, B) Tanaman diploid (Talebi *et al.*, 2017)

Pengaruh oryzalin dapat pula dilihat dari karakter fenotipik penampakan morfologi tanaman (Chambers *et al.*, 2013). Penelitian Sukamto *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa pada tanaman garut (*Maranta arundinacea* L.) diinduksi oryzalin 40  $\mu\text{M}$  didapatkan tanaman poliploid yang memiliki penampakan daun

yang lebih hijau, lebih tebal, lebih bulat, dan permukaannya lebih menggelombang dari kontrol. Begitu pula hasil penelitian Allum *et al.*, (2007) menunjukkan terjadinya penambahan lebar daun pada tanaman *Rosa rugosa* secara signifikan akibat terjadinya poliploidi. Hasil pengamatan pada tanaman talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan perlakuan oryzalin secara *in-vitro* menunjukkan semakin tinggi tingkat ploidi menyebabkan morfologi tunas abnormal. Penampakan tunas diploid dan tetraploid hampir sama, namun sangat berbeda dengan morfologi tunas heksaploid dan oktaploid. Tunas heksaploid dan oktaploid memiliki petiol dan helaian daun lebih berwarna hijau gelap, lebih pendek, dan lebih tebal dibandingkan dengan tunas diploid dan tetraploid. Oryzalin (Wulansari *et al.*, 2016).

Tanaman poliploidi umumnya memiliki tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah nodus, serta jumlah daun yang berbeda dari tanaman diploid. Hasil penelitian Viehmannová *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa rerata tinggi tunas *Ullucus tuberosum* oktaploid hasil induksi oryzalin sebesar  $7,32 \pm 3,23$  cm per plantlet, lebih rendah dibandingkan tinggi tunas diploid sebesar  $12,69 \pm 1,11$  cm per plantlet. Kemudian diperkuat pula dengan hasil penelitian Revatipadale *et al.*, (2019) poliploidisasi pada tanaman *Psidium guava* L. dengan konsentrasi oryzalin sebesar  $60 \mu\text{M}$  menyebabkan jumlah tunas tanaman yang lebih banyak (20 tunas per eksplan) dibandingkan dengan hasil perlakuan kontrol (5 tunas per eksplan). Umumnya, jumlah daun berbanding lurus dengan tingkat derajat poliploid tanaman. Tanaman garut diploid memiliki rata-rata jumlah daun 5,22 per tanaman, kemudian meningkat pada tanaman tetraploid hasil induksi oryzalin sebesar 5,94 per tanaman (Sukamto *et al.*, 2015).



## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Rancangan Percobaan**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktorial yang terdiri dari 5 perlakuan oryzalin, yaitu konsentrasi 0  $\mu\text{M}$  (kontrol), 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ . Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali ulangan.

### **3.2 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian ini terdiri dari variabel bebas, terikat, dan terkendali. Variabel bebas yaitu konsentrasi oryzalin. Sedangkan variabel terikat terdiri dari karakter stomata dan karakter fenotipik pada alfalfa. Variabel terkendali terdiri dari jenis media tumbuh, pH media tumbuh, suhu ruangan, dan cahaya.

### **3.3 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan Agustus – Oktober 2020. Perlakuan oryzalin, penanaman eksplan alfalfa, dan pengamatan karakter fenotipik dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan. Analisis dan pengamatan karakter stomata dilakukan di Laboratorium Optik, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### **3.4 Alat dan Bahan**

#### **3.4.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas beaker, gelas ukur, cawan petri, botol vial, botol infus, gelas jam, labu ukur, Erlenmeyer, spatula, neraca analitik, pipet ukur dan bola karet pipet ukur, pipet tetes, mikropipet 2 – 20  $\mu\text{l}$  dan mikropipet 1000  $\mu\text{l}$ , tip mikropipet, alat diseksi, pH indikator, plastik tahan panas, karet, *hotplate*, stirrer, bunsen, korek api, cover glass dan objek glass, penggaris, oven, autoklaf, *laminar air flow* (LAF), dan mikroskop digital binokuler bersama PC.

### 3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuades, agar, gula, media tumbuh Murashige and Skoog (MS), Zat pengatur tumbuh thidiazuron (TDZ), akuades, oryzalin (ID: 19004-88-3), DMSO 5%, alkohol 70%, alkohol 96%, spirtus, natrium hipoklorit komersil (bayclin), dan eksplan berupa benih alfalfa (*M. sativa* L.).

### 3.5 Prosedur Kerja

Prosedur kerja dalam penelitian ini sebagai berikut.

#### 3.5.1 Pembuatan Larutan Stok Oryzalin

Larutan stok oryzalin menggunakan pelarut DMSO 5%. Larutan stok oryzalin 10 mM disiapkan dengan cara melarutkan oryzalin sebanyak 17,318 mg dalam 5 mL pelarut DMSO 5%. Jumlah oryzalin untuk stok larutan oryzalin 10 mM berasal dari perhitungan berikut.

$$0,01 \text{ M} = \frac{\text{g}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{5 \text{ ml}}$$

$$0,01 \text{ M} = \frac{\text{g}}{346,36} \times 200$$

$$200 \text{ g} = 346,36 \times 0,01$$

$$\text{g} = 0,017318$$

#### 3.5.2 Pembuatan Larutan Perlakuan Oryzalin

Larutan perlakuan oryzalin yang digunakan yakni konsentrasi: 0  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ , dibuat sebanyak 10 mL untuk tiap perlakuan. Larutan perlakuan oryzalin 0  $\mu\text{M}$  menggunakan larutan akuades steril. Kemudian larutan perlakuan lain dibuat dengan cara melarutkan larutan stok oryzalin 10 mM dalam akuades steril, larutan stok oryzalin diambil sesuai perhitungan berikut.

a) Perlakuan Oryzalin 25  $\mu\text{M}$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$0,01 \times V1 = 0,000025 \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,025 \text{ mL}$$

$$V1 = 2,5 \mu\text{L}$$

b) Perlakuan Oryzalin 50  $\mu\text{M}$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$0,01 \times V1 = 0,00005 \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,05 \text{ mL}$$

$$V1 = 5 \mu\text{L}$$

c) Perlakuan Oryzalin 75  $\mu\text{M}$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$0,01 \times V1 = 0,000075 \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,075 \text{ mL}$$

$$V1 = 7,5 \mu\text{L}$$

d) Perlakuan Oryzalin 100  $\mu\text{M}$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$0,01 \times V1 = 0,000100 \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,1 \text{ mL}$$

$$V1 = 10 \mu\text{L}$$

### 3.5.3 Pembuatan Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh

Larutan stok zat pengatur tumbuh dibuat untuk memudahkan peneliti saat pembuatan media tumbuh. Stok zat pengatur tumbuh yang dibuat yakni Thidiazuron (TDZ) sebanyak 100  $\text{mg l}^{-1}$  dalam 100 mL. Pertama, zat pengatur tumbuh TDZ ditimbang sebanyak 10 gram, kemudian diletakkan dalam gelas ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sebanyak 50 mL, lalu diaduk hingga larut. Larutan TDZ kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas, lalu dihomogenkan.

### 3.5.4 Pembuatan Media Perkecambahan

Media dasar yang digunakan untuk media perkecambahan yaitu media Murashige dan skoog (MS) tanpa zat pengatur tumbuh. Langkah pertama, larutan stok MS dibuat dengan dilarutkan sesuai takaran untuk 1/2MS dalam se-liter akuades tanpa zat pengatur tumbuh. Kemudian gula 30 g/L ditambahkan dalam larutan, lalu dihomogenkan dengan stirrer dan diukur pH media (5,7 – 5,8), setelah itu ditambahkan agar 8 g/L dan dipanaskan diatas *hotplate* sampai mendidih. Media yang telah mendidih dituangkan pada botol (masing-masing botol  $\pm 10$  mL/botol) lalu botol ditutup dengan plastik tahan panas yang ditali dengan karet tahan panas, dan diberi label.

### 3.5.5 Pembuatan Media Induksi Pertumbuhan Tunas

Media induksi tunas dibuat dengan media basal MS dengan zat pengatur tumbuh TDZ 0,025  $\text{mg l}^{-1}$ . Langkah pertama yakni mencampur semua bahan larutan stok MS sesuai takaran untuk MS full. Kemudian, zat pengatur tumbuh TDZ 0,025  $\text{mg l}^{-1}$  dan akuades ditambahkan sampai volum yang dibutuhkan, gula 30 g/L ditambahkan dalam larutan, lalu dihomogenkan dengan stirrer, dan diukur pH media (5,7 – 5,8). Kemudian, agar 8 g/L ditambahkan dan dipanaskan diatas

*hotplate* sampai mendidih. Media yang telah mendidih dimasukkan kedalam botol masing-masing  $\pm 10$  mL/botol, kemudian botol ditutup dengan plastik tahan panas, lalu ditali dengan karet tahan panas, dan diberi label.

### **3.5.6 Sterilisasi Media Perkecambahan dan Pertumbuhan Tunas**

Sterilisasi media tumbuh menggunakan autoklaf dengan cara botol berisi media dimasukkan *tray*, lalu *tray* tersebut dimasukkan kedalam autoklaf. Langkah selanjutnya, autoklaf diset pada suhu  $120^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

### **3.5.7 Sterilisasi Ruang**

Sterilisasi ruang diawali dengan menyemprotkan alkohol 70% pada bagian meja dan dinding *laminar air flow* (LAF) kemudian dilap dengan kertas tisu. Penyemprotan dengan alkohol 70 % bertujuan untuk membunuh kontaminan bakteri dan jamur. Kemudian, semua alat dan bahan dimasukkan ke dalam LAF kecuali eksplan yang akan digunakan, kemudian lampu UV LAF dinyalakan selama satu jam, setelah itu sinar UV dimatikan dan blower serta lampu LAF dihidupkan.

### **3.5.8 Sterilisasi Alat**

Sterilisasi alat dilakukan dengan dua cara, yakni oven dan autoklaf. Pertama, peralatan kultur dicuci dengan sabun cair lalu dibilas dengan air bersih dan dikeringkan, peralatan lalu disterilisasi dengan oven pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama dua jam. Khusus peralatan diseksi dibungkus dengan *aluminium foil* terlebih dahulu, lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

### **3.5.9 Sterilisasi Eksplan**

Seluruh tahap sterilisasi eksplan dilakukan didalam LAF. Sterilisasi eksplan diawali dengan benih alfalfa direndam dalam alkohol 70% selama satu menit, lalu direndam dalam larutan natrium hipoklorit komersil (bayclin) 10% selama 10 menit, kemudian benih dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali.

### 3.5.10 Tahap Inisiasi

#### 3.5.10.1 Perlakuan Oryzalin terhadap Benih Alfalfa

Benih alfalfa yang telah steril sebanyak 75 benih direndam pada masing-masing larutan oryzalin (0  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ ) selama 6 jam di dalam LAF.

#### 3.5.10.2 Proses Perkecambahan Benih Alfalfa

Benih alfalfa yang telah diberi perlakuan oryzalin dicuci dengan akuades steril sebanyak tiga kali, kemudian dikecambahkan dalam media perkecambahan. Setiap botol media perkecambahan diisi sebanyak 15 benih, lalu benih diletakkan dalam tempat gelap hingga pecah benih, setelah itu diletakkan di tempat terang.

#### 3.5.10.3 Penanaman Eksplan Pada Media Induksi Pertumbuhan Tunas

Kecambah yang telah berumur dua minggu perlakuan oryzalin dipilih untuk dijadikan eksplan induksi tunas dengan kriteria tidak *browning*, kemudian dipotong pada daerah nodus kotiledon sepanjang 1 cm. Eksplan nodus ditanam dalam media induksi tunas secara vertikal, setiap botol kultur berisikan satu eksplan. Media yang telah berisikan eksplan diinkubasi dalam ruang suhu 21°C.

#### 3.5.10.4 Subkultur Tunas

Subkultur pertama kali dilakukan setelah eksplan diinkubasi pada media induksi tunas selama dua minggu. Subkultur tunas dilakukan setiap dua minggu sekali sebanyak tiga kali pada media yang sama (media induksi tunas MS full + TDZ 0,025  $\text{mg l}^{-1}$ ).

### 3.5.11 Analisis Persentase Daya Hidup Kecambah

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah kecambah yang hidup dan yang mati pada dua minggu setelah perkecambahan benih hasil perlakuan oryzalin. Kemudian dihitung persentase daya hidup kecambah.

$$\text{Persentase Daya Hidup Kecambah} = \frac{\text{Jumlah Kecambah yang hidup}}{\text{Jumlah Seluruh Kecambah}} \times 100\%$$

### 3.5.12 Analisis Karakter Fenotipik

Karakter fenotipik yang diamati meliputi tinggi tunas per eksplan, jumlah tunas per eksplan, jumlah nodus per eksplan, jumlah daun per eksplan, serta luas daun per eksplan. Pengamatan karakter fenotipik dilakukan setelah subkultur tunas ketiga (6 minggu setelah tanam pada media induksi tunas).

#### a. Tinggi Tunas Per Eksplan

Pengamatan dilakukan dengan mengukur ujung tunas sampai pangkal tunas dengan benang yang kemudian disejajarkan dengan penggaris.

#### b. Jumlah Tunas Per Eksplan

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah tunas yang muncul setelah 6 minggu setelah tanam di media induksi tunas.

#### c. Jumlah Nodus Per Eksplan

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah nodus yang tumbuh setelah 6 minggu setelah tanam di media induksi tunas.

#### d. Jumlah Daun Per Eksplan

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah daun yang tumbuh setelah 6 minggu setelah tanam di media induksi tunas.

#### e. Luas Daun Per Eksplan

Pengamatan luas daun dilakukan dengan cara memilih daun terpanjang dan terlebar dalam setiap tunas. Panjang daun diukur dari pangkal daun hingga ujung daun dengan benang, kemudian benang disejajarkan dengan penggaris. Lebar daun diukur dari kedua tepi daun yang lain dengan benang, kemudian benang disejajarkan dengan penggaris. Luas daun didapatkan dari panjang  $\times$  lebar daun.

### 3.5.13 Analisis Karakter Stomata

Analisis karakter stomata diawali dengan pembuatan preparat anatomi stomata menurut Haryanti (2010). Langkah pertama, daun terlebar di nodus pertama diambil dari masing-masing perlakuan oryzalin pada pukul 09.00 WIB (Haryanti & Meirina, 2009). Daun kemudian diberi label sesuai perlakuan. Setiap

daun ditemplei dengan isolasi bening, kemudian daun digesek pelan, isolasi dikelupas lalu ditempelkan pada objek glass. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop binokuler *optilab advance* perbesaran 400X. Setiap ulangan diambil tiga kali bidang pandang, lalu gambar diamati beberapa parameter stomata berikut.

**a. Panjang Stomata**

Panjang stomata diukur menggunakan aplikasi *image raster* dengan cara menarik garis dari ujung stomata ke ujung stomata lain.

**b. Lebar Stomata**

Lebar stomata diukur menggunakan aplikasi *image raster* dengan cara menarik garis dari ujung stomata ke ujung stomata lain.

**c. Kerapatan Stomata**

Pengamatan kerapatan stomata dihitung menurut rumus Willmer (1983) berikut.

$$\text{kerapatan} = \frac{\text{jumlah stomata}}{\text{luas bidang pandang}} \dots (2)$$

keterangan: Luas bidang pandang =  $\pi.r^2$

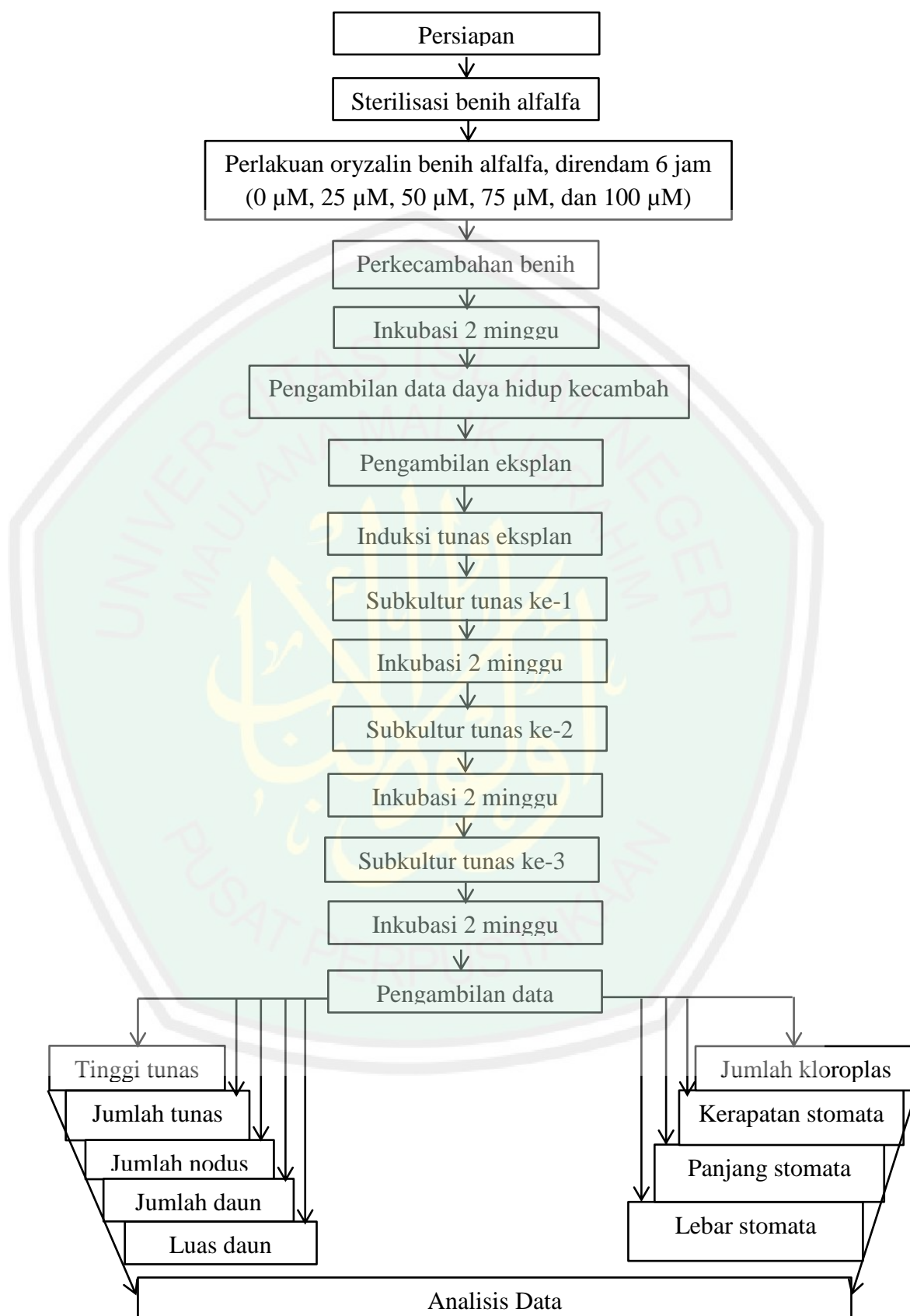
**d. Jumlah Kloroplas**

Pengamatan dilakukan di dengan cara menghitung jumlah kloroplas terbanyak di sel penjaga stomata.

**3.6 Analisis Data**

Data hasil pengamatan tergolong dalam data kuantitatif. Data kuantitatif tersebut meliputi panjang stomata, lebar stomata, kerapatan stomata, jumlah kloroplas, tinggi tunas, jumlah tunas, jumlah nodus, jumlah daun, dan luas daun. Analisis data kuantitatif menggunakan uji statistik *One Way ANOVA (Analysis of varian)*. Jika terdapat perbedaan nyata dilakukan uji analisis lanjut. Nilai Koefisien Keragaman (KK) yang didapatkan pada penelitian ini lebih dari 10%, sehingga menggunakan Uji *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* dengan taraf signifikansi  $p > 0,05$ . Data diolah menggunakan *software* berupa SPSS 16.0.

### 3.7 Skema Kerja Penelitian



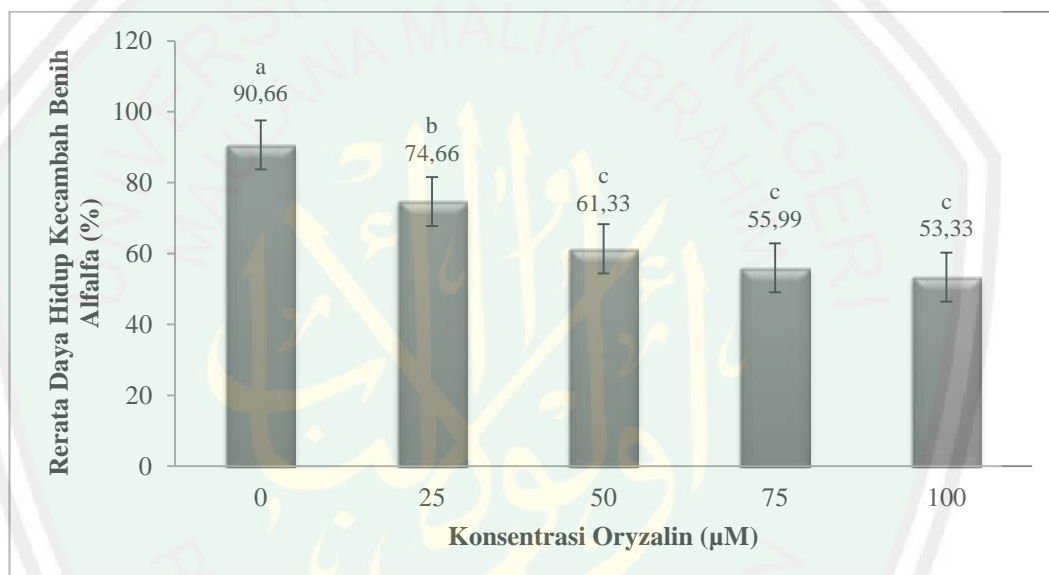
Gambar 3.1 Desain Penelitian



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Persentase Daya Hidup Kecambah Benih Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Hasil Induksi Mutasi Oryzalin

Rerata persentase daya hidup kecambah dapat dilihat setelah 14 hari setelah tanam (14 HST). Konsentrasi oryzalin berpengaruh secara nyata terhadap daya hidup kecambah. Persentase daya hidup kecambah tertinggi didapatkan pada perlakuan kontrol sebanyak 90,66%. Persentase daya hidup kecambah terendah didapatkan pada perlakuan 100  $\mu\text{M}$ , sebanyak 53,33% (Gambar 4.1).

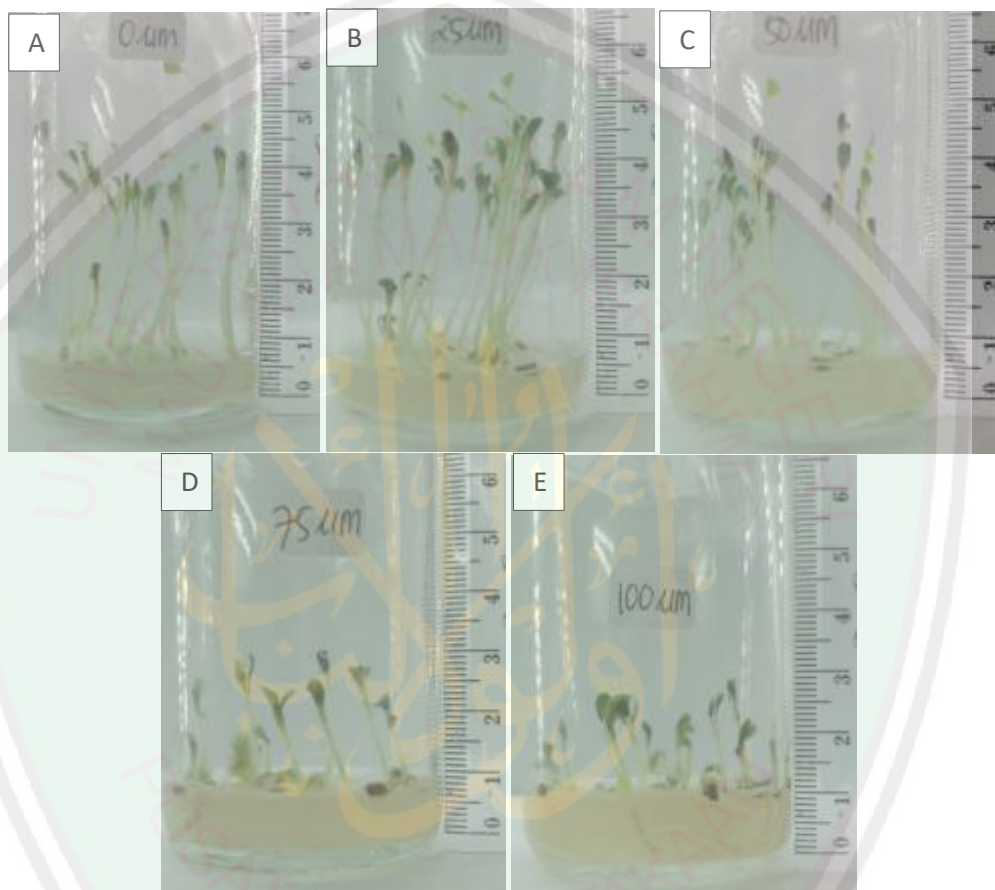


Gambar 4.1 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata persentase daya hidup kecambah tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p > 0,05$ )

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang semakin tinggi, semakin banyak benih gagal berkecambah. Pada konsentrasi yang tinggi terdapat beberapa kecambah yang *browning* kemudian mati (Gambar 4.2). Larutan oryzalin bersifat toksik pada tanaman sehingga menyebabkan kematian sel. Semakin tinggi konsentrasi oryzalin maka semakin tinggi pula derajat kematian sel tanaman. Konsentrasi sebanding dengan keberhasilan induksi poliploid, semakin banyak konsentrasi hingga batas maksimum toleran tanaman akan meningkatkan induksi poliploid namun mengurangi laju survival tanaman.

Jika konsentrasi oryzalin terlalu tinggi maka menyebabkan kematian tanaman (Lam et al., 2014; Talebi et al., 2017). Hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian Talebi et al., (2017) didapatkan tanaman *Agastache foeniculum* L. perlakuan kontrol memiliki daya survival benih 100%, sementara tanaman dengan perlakuan oryzalin 100  $\mu\text{M}$  menghasilkan tanaman tetraploid dengan daya survival 56%.



Gambar 4.2 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap persentase daya hidup kecambah tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.). Keterangan: A) Konsentrasi 0  $\mu\text{M}$ , B) Konsentrasi 25  $\mu\text{M}$ , C) Konsentrasi 50  $\mu\text{M}$ , D) Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$ , E) Konsentrasi 100  $\mu\text{M}$  (Keterangan: Eksplan usia 6 minggu HST)

Oryzalin memiliki sifat toksik pada sel tanaman. Terdapat dua mekanisme oryzalin dalam merusak sel tanaman. Pertama, mekanisme oryzalin dalam merusak sel tanaman diawali dengan berikatan atau penempelan oryzalin pada

komponen lipid di membran selular. Berikatannya oryzalin pada komponen lipid membran selular mengganggu permeabilitas membran sel, yang kemudian dapat menyebabkan kerusakan sel. Namun mekanisme perusakan lipid oleh oryzalin hanya berkontribusi sedikit dalam menyebabkan kerusakan sel (Upadhyaya & Nooden, 1980). Kedua, oryzalin merupakan salah satu jenis herbisida famili dinitroanilin yang memiliki aktivitas antimitosisnya dalam mengikat tubulin sehingga mengganggu pembelahan sel. Situs pengikatan oryzalin berada pada permukaan kontak longitudinal antara sub-unit tubulin yang mengandung residu asam amino diamida dengan gugus nitril dinitroanilin. Penghambatan pembelahan menyebabkan perubahan morfologi pada aparatus sel, diantaranya retikulum endoplasma dan badan golgi (Gregory, 2018).

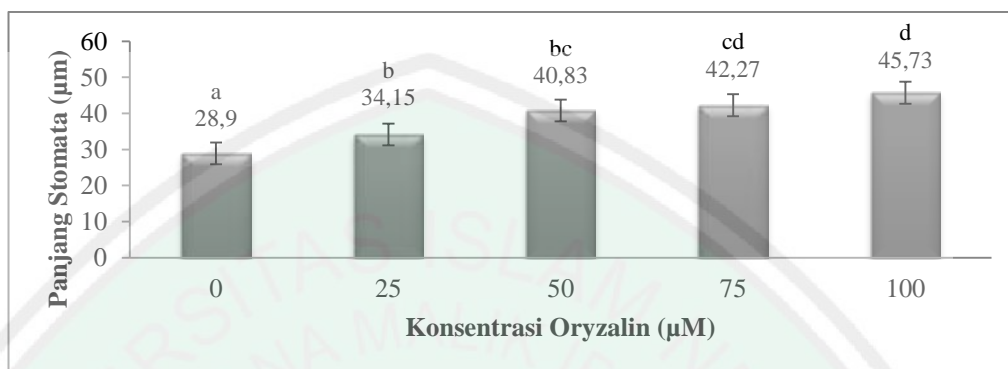
#### **4.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Karakter Stomata Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

Pengamatan karakter stomata pada penelitian ini dilakukan setelah tiga kali subkultur (42 HST atau 6 minggu HST). Karakter stomata yang diamati berupa panjang dan lebar stomata, kerapatan stomata, dan jumlah kloroplas. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi oryzalin berpengaruh nyata terhadap semua karakter stomata. Pengamatan stomata pada induksi poliploidi penting dilakukan karena dapat mewakili adanya pembesaran sel akibat poliplodisasi, mudah diamati, dan berhubungan dengan laju fotosintesis tanaman sehingga mempengaruhi laju metabolismenya (Dar *et al.*, 2017).

##### **4.2.1 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Panjang dan Lebar Stomata Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

Pemberian oryzalin berbagai variasi konsentrasi ( $\mu\text{M}$ ) dengan waktu perendaman 6 jam pada benih terhadap ukuran stomata berpengaruh secara nyata berdasarkan hasil analisis. Panjang stomata bertambah sejalan dengan bertambahnya konsentrasi yang diberikan (Gambar 4.3). Panjang stomata perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan oryzalin 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ . Hasil perlakuan oryzalin 25  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata dengan perlakuan oryzalin 50  $\mu\text{M}$ . Hasil perlakuan oryzalin 50  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata dengan perlakuan oryzalin 75  $\mu\text{M}$  namun berbeda nyata dengan oryzalin 100  $\mu\text{M}$ .

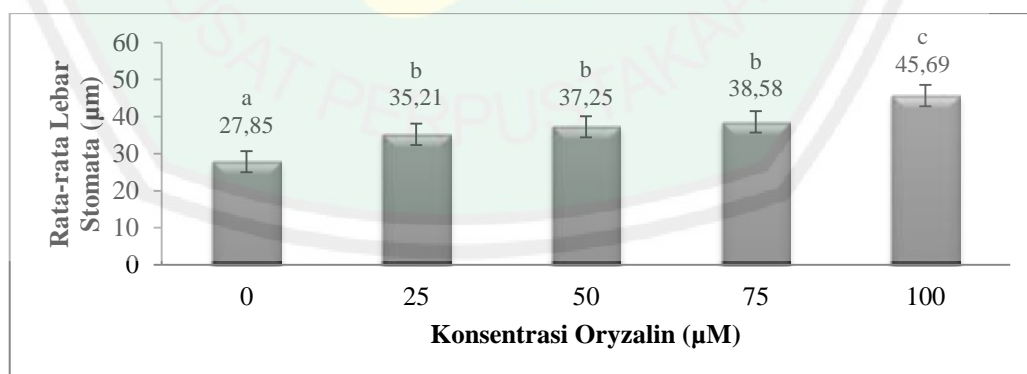
Hasil perlakuan oryzalin 75  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata dengan perlakuan oryzalin 100  $\mu\text{M}$ . Hasil perlakuan oryzalin 100  $\mu\text{M}$  memiliki hasil rerata panjang stomata terpanjang yaitu 45,73  $\mu\text{m}$ . Sedangkan hasil perlakuan kontrol memiliki rerata panjang stomata terpendek yaitu 28,9  $\mu\text{m}$ .



Gambar 4.3 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata panjang stomata tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan nyata berdasarkan DMRT  $p>0,05$ )

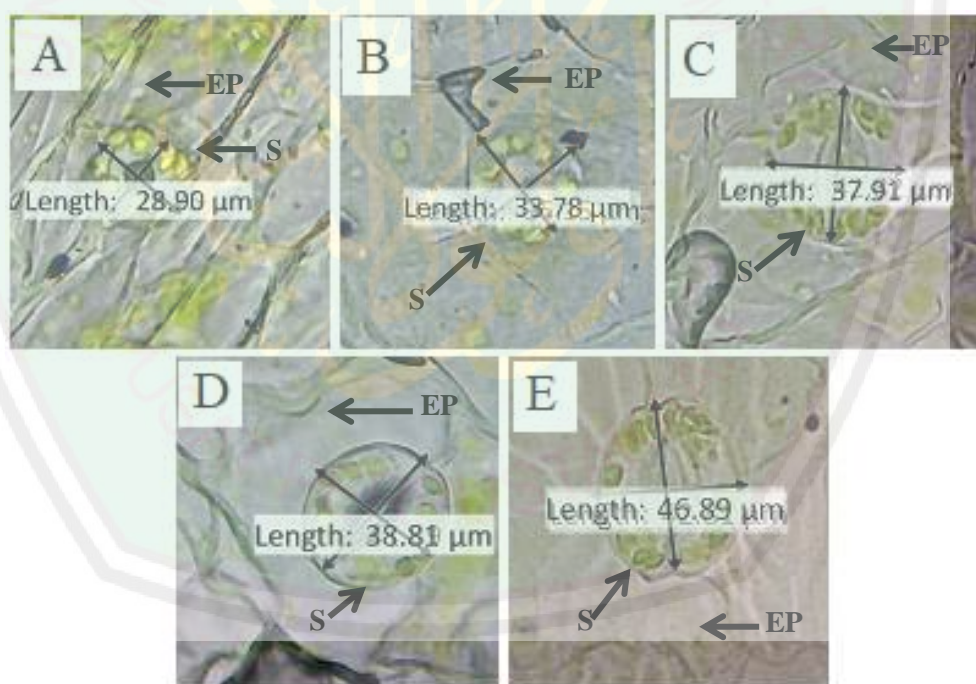
Lebar stomata bertambah berbanding lurus dengan penambahan panjang stomata. Lebar stomata perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan oryzalin 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ . Lebar stomata perlakuan 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , dan 75  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata (Gambar 4.4). Hasil perlakuan oryzalin 100  $\mu\text{M}$  memiliki rerata lebar stomata tertinggi yaitu 45,69  $\mu\text{m}$ . Hasil perlakuan kontrol memiliki rerata lebar stomata terendah yaitu 27,85  $\mu\text{m}$ .



Gambar 4.4 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata lebar stomata tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan nyata berdasarkan DMRT  $p>0,05$ )

Penambahan ukuran stomata setelah perlakuan oryzalin berkaitan dengan menggandanya jumlah kromosom pada tanaman poliploid (Gambar 4.5). Tanaman poliploid memiliki ukuran sel stomata lebih besar daripada tanaman diploid. Hasil ini sejalan dengan penelitian Rahman *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa klon tanaman *Artemisia annua* L. hasil poliploidi dengan oryzalin konsentrasi 60  $\mu\text{M}$  memiliki ukuran stomata yang lebih besar dibandingkan diploid. Tanaman diploid memiliki rerata panjang stomata 28,9  $\mu\text{m}$  dan rerata lebar stomata 17,7  $\mu\text{m}$ . Sedangkan, tetraploid memiliki rerata panjang stomata 58,14  $\mu\text{m}$  dan rerata lebar stomata 34,82  $\mu\text{m}$ . Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Chimezie *et al.*, (2015), membuktikan bahwa tanaman *Zehneria capillacea* hasil poliploidi oryzalin 150  $\mu\text{M}$  berbeda nyata dengan kontrol. Tanaman tetraploid memiliki rerata panjang stomata  $13,38 \pm 0,11$   $\mu\text{m}$  dan rerata lebar stomata  $15,56 \pm 0,14$   $\mu\text{m}$ . Tanaman diploid memiliki rerata panjang stomata  $9,50 \pm 0,12$   $\mu\text{m}$  dan rerata lebar stomata  $11,13 \pm 0,11$   $\mu\text{m}$ .

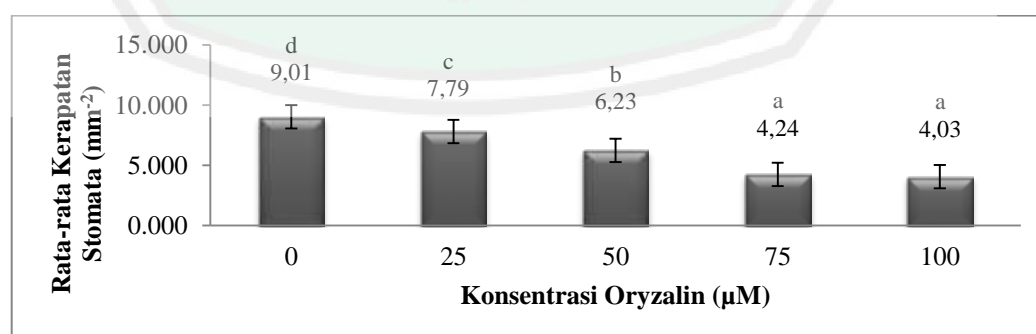


Gambar 4.5 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap ukuran stomata tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.) perbesaran 400X. Keterangan: A) Kontrol, B) Konsentrasi 25  $\mu\text{M}$ , C) Konsentrasi 50  $\mu\text{M}$ , D) Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$ , E) Konsentrasi 100  $\mu\text{M}$   
(Ket: S=Stomata, EP=Sel epidermis)

Stomata merupakan penjaga gerbang yang berfungsi sebagai penanggung jawab untuk semua difusi gas, hal ini berhubungan dengan proses transpirasi dan fotosintesis tanaman (Lawson & Blatt, 2014). Ukuran stomata yang lebih besar dari tanaman poliploid memungkinkan tanaman poliploid memiliki kapasitas transpirasi dan fotosintesis yang lebih tinggi daripada tanaman diploid (Niu et al., 2016). Ukuran stomata yang lebih besar pada tanaman poliploid dikarenakan penggandaan kromosom menyebabkan meningkatnya ekspresi protein, hormon, serta enzim guna pembesaran sel. Maka dari itu ukuran stomata dapat dijadikan sebagai salah satu parameter dalam keberhasilan poliploidisasi (Chimezie et al., 2015; He et al., 2016; Niu et al., 2016).

#### 4.2.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Kerapatan Stomata Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

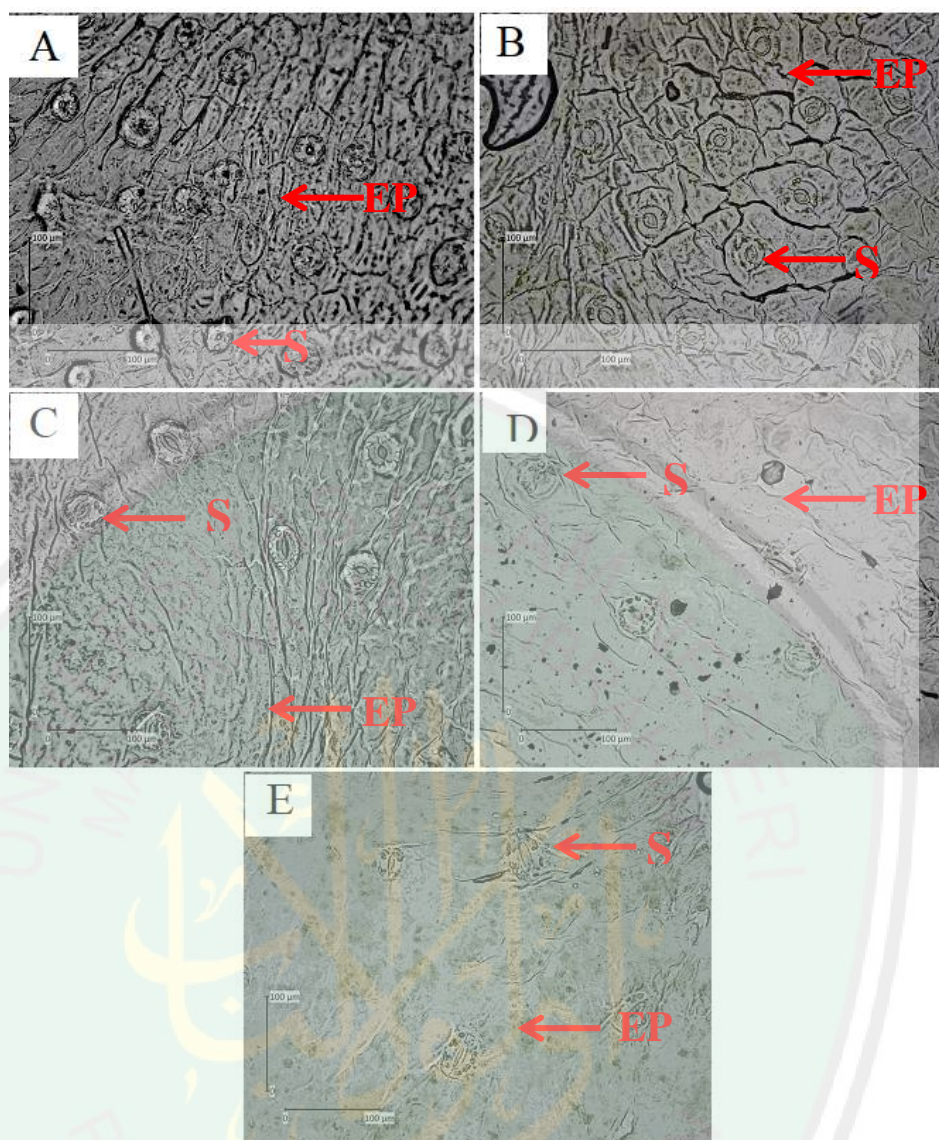
Pengamatan terhadap kerapatan stomata hasil induksi oryzalin menunjukkan adanya penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi oryzalin yang diberikan dengan waktu perendaman 6 jam pada benih. Berdasarkan hasil analisis didapatkan bahwa variasi konsentrasi oryzalin berpengaruh nyata terhadap kerapatan stomata. Kerapatan stomata perlakuan kontrol berbeda nyata dengan perlakuan oryzalin 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ . Kerapatan stomata perlakuan 25  $\mu\text{M}$ , berbeda nyata dengan 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ . Perlakuan oryzalin 75  $\mu\text{M}$  dan 100  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata (Gambar 4.6). Kerapatan stomata tertinggi didapati pada perlakuan kontrol, sebesar 9,01  $\text{mm}^{-2}$ . Kerapatan stomata terendah terdapat pada perlakuan oryzalin 100  $\mu\text{M}$ , sebesar 4,03  $\text{mm}^{-2}$  (Gambar 4.7)



Gambar 4.6 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap kerapatan stomata tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p > 0,05$ )

Kerapatan stomata di kontrol oleh kontrol gen. Poliploidisasi merupakan fenomena umum dalam evolusi tanaman terkait dengan perubahan kepadatan stomata (Wang *et al.*, 2007). Kerapatan stomata berbanding terbalik dengan ukuran stomata, semakin besar ukuran stomata maka semakin rendah kerapatannya (Anitha *et al.*, 2017; Chimezie *et al.*, 2015; Rahayu *et al.*, 2016; Talebi *et al.*, 2017; Tomé *et al.*, 2016). Hasil penelitian sejalan dengan pendapat Zhang *et al.*, (2020) bahwa tanaman *Caladium x hortulanum* hasil induksi oryzalin menghasilkan tanaman tetraploid dengan kerapatan stomata sebanyak  $138,95 \pm 30,08 \text{ mm}^{-2}$ . Sedangkan kerapatan stomata tanaman diploid lebih tinggi dibandingkan tanaman tetraploid, yaitu sebanyak  $246,32 \pm 38,5 \text{ mm}^{-2}$ . Hal serupa ditunjukkan pada tanaman *Solanum commersonii* spp. hasil induksi poliploid oryzalin  $100 \mu\text{M}$ . Tanaman diploid memiliki kerapatan stomata sebanyak  $148.74 \text{ mm}^{-2}$  lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman tetraploid  $127.28 \text{ mm}^{-2}$  (Tomé *et al.*, 2016).



Gambar 4.7 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap kerapatan stomata tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.) perbesaran 400X. Keterangan: A) Kontrol, B) Konsentrasi 25  $\mu$ M, C) Konsentrasi 50  $\mu$ M, D) Konsentrasi 75  $\mu$ M, E) Konsentrasi 100  $\mu$ M (Ket. S=Stomata, EP=Sel epidermis)

Parameter kerapatan stomata berfungsi untuk rapid pre-skrining dari tanaman poliploid yang solid, serta untuk mereduksi ukuran populasi tanaman yang akan dirawat di setelah *in-vitro*. Hal ini dikarenakan parameter kerapatan stomata tidak dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti temperatur ruang dan konten air saat *in-vitro* (Silva *et al.*, 2000). Kerapatan stomata tanaman yang rendah memiliki efek yang baik bagi metabolisme tanaman. Penurunan kerapatan stomata berefek pada peningkatan konduktansi stomata ke uap air dan tingkat

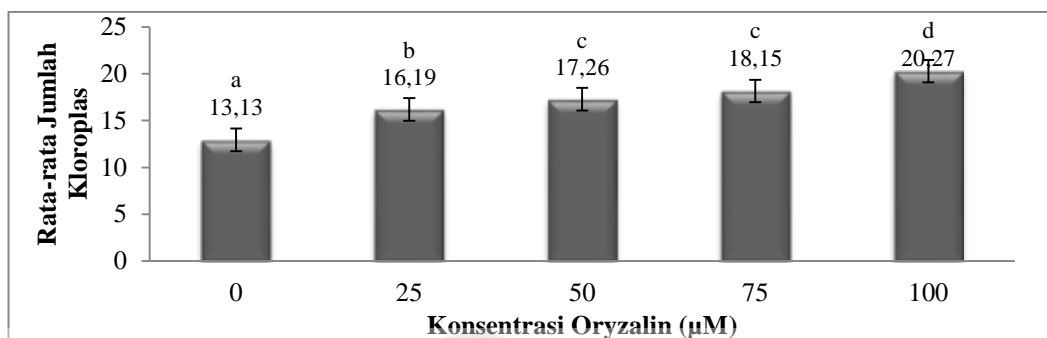


asimilasi CO<sup>2</sup> bersih ke daun (Xu & Zhou, 2008). Kerapatan stomata juga berhubungan dengan ketahanan kekeringan pada tanaman. Tanaman tidak mudah layu saat berada pada kondisi tercekam dikarenakan rendahnya laju transpirasi (Aili *et al.*, 2016).

Penghematan air hayati (*Bio-saving water*) digunakan tanaman untuk meningkatkan efisiensi penggunaan air. Efisiensi penggunaan air pada tanaman ditentukan laju fotosintesis dan respirasi. *Fluks* air dan CO<sup>2</sup> pada stomata ditentukan oleh perilaku dan kepadatan stomata. Penurunan kerapatan stomata secara tidak langsung berdampak positif pada fotosintesis. Penurunan kerapatan stomata akan berakibat pada peningkatan indeks stomata dan konduktansi stomata. Peningkatan konduktansi stomata akan berakibat peningkatan fotosintesis dan pula penurunan transpirasi (Wang *et al.*, 2007).

#### **4.2.3 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Kloroplas Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

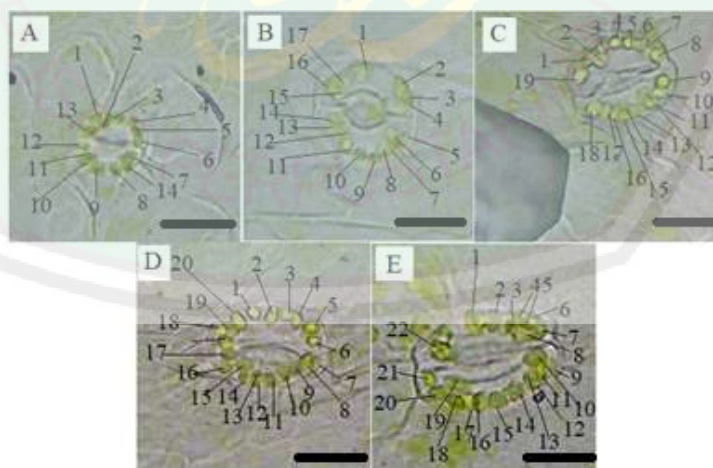
Hasil analisis menunjukkan bahwa jumlah kloroplas cenderung bertambah seiring bertambahnya konsentrasi oryzalin dengan waktu perendaman 6 jam pada benih (Gambar 4.8). Hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh variasi pemberian oryzalin terhadap jumlah kloroplas secara nyata. Perlakuan konsentrasi kontrol berbeda secara nyata terhadap konsentrasi 25 µM, 50 µM, 75 µM, 100 µM. Perlakuan konsentrasi 25 µM berbeda nyata terhadap konsentrasi 50 µM, 75 µM, 100 µM. Perlakuan konsentrasi 50 µM tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 75 µM. Terakhir, perlakuan konsentrasi 100 µM berbeda nyata dari konsentrasi kontrol, 25 µM, 50 µM, dan 75 µM. Rerata jumlah kloroplas tertinggi terdapat pada tanaman dengan perlakuan 100 µM oryzalin, yaitu sebanyak 20,27. Rerata jumlah kloroplas terendah terdapat pada tanaman kontrol, sebanyak 13,13 (Gambar 4.9)



Gambar 4.8 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata jumlah kloroplas tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Keterangan : Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p>0,05$ )

Jumlah kloroplas merupakan salah satu parameter keberhasilan poliploidisasi yang telah dibuktikan oleh peneliti terdahulu. Tanaman poliploid akan menghasilkan penambahan jumlah kloroplas dikarenakan adanya penggandaan kromosom (He *et al.*, 2016; Omidbaigi *et al.*, 2010; Talebi *et al.*, 2017; Q. Zhang *et al.*, 2016). Hasil pengamatan sesuai dengan hasil penelitian Talebi *et al.*, (2017) yang mendapatkan tanaman tetraploid *A. foeniculum* L. hasil induksi poliploid oryzalin 100 µM memiliki jumlah kloroplas lebih banyak daripada tanaman diploid. Rerata kloroplas tetraploid sebanyak  $20,16 \pm 3,18$  sedangkan rerata kloroplas diploid sebanyak  $11,16 \pm 0,98$ . Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah kloroplas bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi oryzalin (Gambar 4.9).



Gambar 4.9 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap jumlah kloroplas tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.) perbesaran 400X. Keterangan: A) Kontrol, B) Konsentrasi 25 µM, C) Konsentrasi 50 µM, D) Konsentrasi 75 µM, E) Konsentrasi 100 µM

Manipulasi poliploidi menambah laju fotosintesis karena peningkatan jumlah kloroplas secara langsung (Omidbaigi *et al.*, 2010, 2010; Talebi *et al.*, 2017). Kloroplas bukan hanya pemegang kunci dalam proses fotosintesis, namun kloroplas juga memegang peranan penting dalam biosintesis asam amino, asam lemak, porfirin, isoprenoid, dan metabolit sekunder yang mengadakan jalur biosintesis paralel dalam sitosol (Sabater, 2018). Alfalfa merupakan tanaman yang digunakan masyarakat sebagai tanaman obat karena kandungan klorofil serta metabolit sekunder yang tinggi. Hasil induksi oryzalin diharapkan dapat memicu peningkatan kadar klorofil serta metabolit sekunder pada alfalfa.

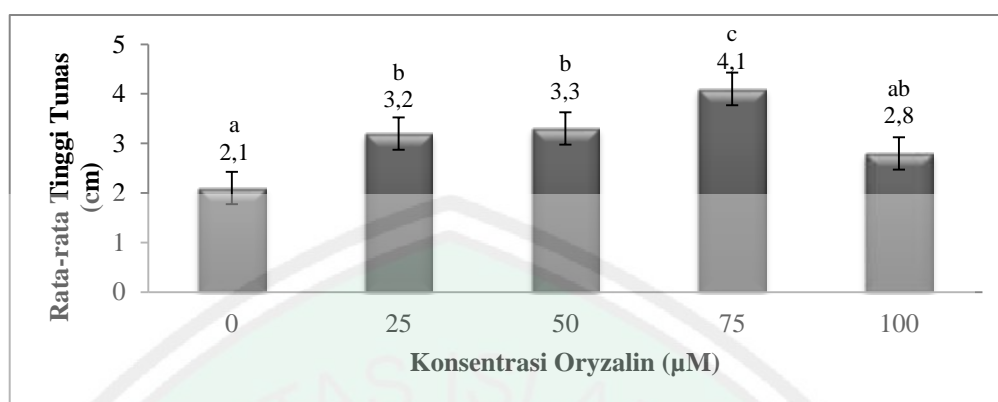
#### **4.3 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Karakter Fenotipik Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

Pengamatan karakter fenotipik pada penelitian ini dilakukan setelah 3 kali subkultur (42 HST atau 6 minggu HST). Karakter fenotipik yang diamati berupa tinggi tunas eksplan, jumlah tunas eksplan, jumlah nodus eksplan, jumlah daun eksplan, dan luas daun eksplan. Hasil analisis ANOVA menunjukkan konsentrasi oryzalin berpengaruh nyata terhadap semua karakter fenotipik eksplan tanaman alfalfa. Pengamatan fenotipik pada induksi poliploidi penting dilakukan karena sebagai salah satu parameter keberhasilan poliplodisasi, mudah diamati, dan berhubungan secara langsung dengan biomassa tanaman (Comai, 2005). Karakter fenotipik tanaman hasil induksi mutasi oryzalin lebih meningkat pada beberapa parameter sehingga didapatkan peningkatan biomassa pada tanaman poliploid.

##### **4.3.1 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Tinggi Tunas Eksplan Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

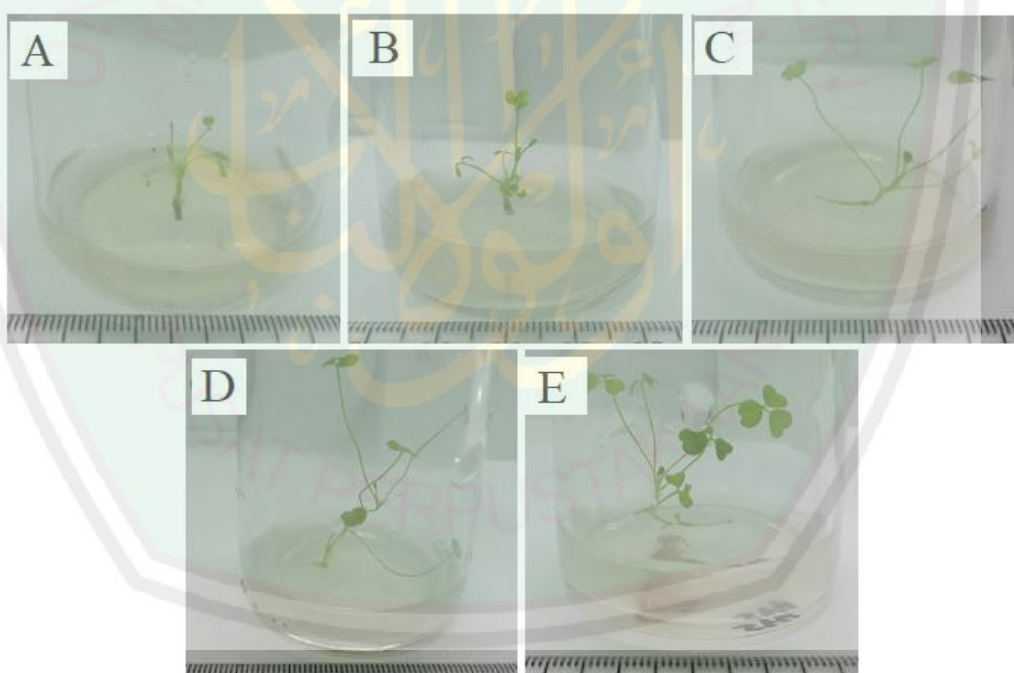
Rerata tinggi tunas merupakan salah satu karakter morfologi tanda keberhasilan induksi tanaman poliploid. Perlakuan konsentrasi kontrol dan konsentrasi 100  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata. Konsentrasi 25  $\mu\text{M}$  dan 50  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata. Sementara konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  berbeda nyata dari yang lainnya (Gambar 4.10). Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan bahwa tinggi tunas bertambah sebanding dengan penambahan konsentrasi, namun kemudian tinggi tunas memendek dan fokus pada perbanyak tunas (Gambar 4.11). Rerata tinggi

tunas terpanjang didapati pada perlakuan 75  $\mu\text{M}$ , sebesar 4,1 cm. Sementara, rerata tinggi tunas terpendek didapati pada perlakuan 0  $\mu\text{M}$ , sebesar 2,1 cm.



Gambar 4.10 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata tinggi tunas tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Keterangan : Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p>0,05$ )



Gambar 4.11 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap tinggi tunas tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.). Keterangan: A) Kontrol, B) Konsentrasi 25  $\mu\text{M}$ , C) Konsentrasi 50  $\mu\text{M}$ , D) Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$ , E) Konsentrasi 100  $\mu\text{M}$

(Keterangan: Eksplan usia 6 minggu HST)

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tinggi tunas alfalfa bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi oryzalin sampai pada 75  $\mu\text{M}$ , namun pada

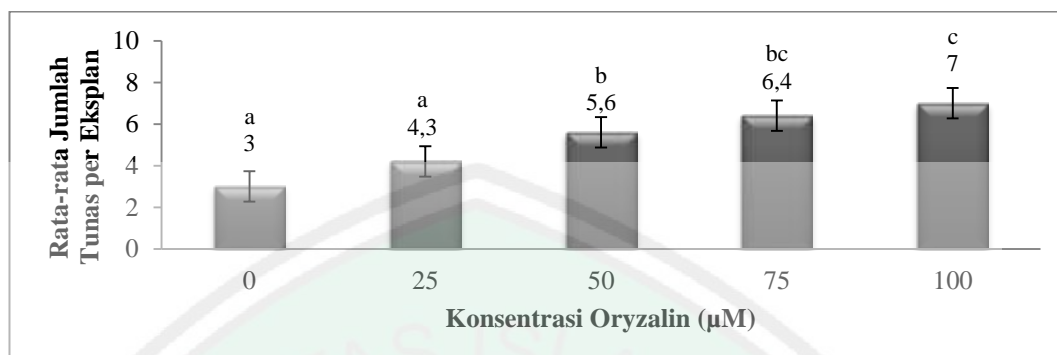
konsentrasi 100  $\mu\text{M}$  menurun. Hal ini dikarenakan kondisi poliploid tanaman berdampak pada memendeknya tunas tanaman, dan dapat pula menyebabkan pemanjangan tunas tergantung pada respon selnya (Liu *et al.*, 2007; Talebi *et al.*, 2017; Viehmannová *et al.*, 2012). Hasil penelitian Viehmannová *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa induksi oryzalin sebesar 25  $\mu\text{M}$  pada tanaman *Ullucus tuberosum* berdampak signifikan terhadap tinggi tunas. Tanaman diploid memiliki rerata tinggi tunas sebesar  $12,69 \pm 1,11 \text{ cm}$  per planlet, sementara tanaman oktaploid memiliki rerata tinggi tunas  $7,32 \pm 3,23 \text{ cm}$  per plantlet.

Teknik poliploidisasi dapat menyebabkan pemanjangan serta pemendekan tunas. Pemanjangan tunas disebabkan adanya efek gigantisme pada tanaman poliploid. Jumlah kromosom yang mengganda menyebabkan pembesaran sel tanaman sehingga berdampak pula pada pembesaran organ (Comai, 2005). Kemudian, pada peristiwa mitosis dan meiosis melibatkan proses pemasangan kromosom homolog sebelum terjadinya sitokinesis. Kromosom yang mengganda menyebabkan peningkatan komplikasi selama proses pemasangan. Tanaman poliploid membutuhkan waktu pembelahan yang lebih lama daripada sel diploid yang hanya memiliki dua pasang set kromosom. Lamanya proses pemasangan kromosom (*Pairing chromosomal*) pada tanaman diploid dapat berdampak langsung menurunkan laju pertumbuhan tanaman, salah satunya pertumbuhan panjang tunas. Pemendekan tunas diikuti dengan ketegaran batang (Ranney, 2006).

#### **4.3.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Tunas Eksplan Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata pemberian oryzalin terhadap jumlah tunas tanaman alfalfa (Gambar 4.12). Perlakuan konsentrasi 0  $\mu\text{M}$  (kontrol) tidak berbeda secara nyata terhadap konsentrasi 25  $\mu\text{M}$ . Perlakuan konsentrasi 25  $\mu\text{M}$  berbeda nyata terhadap konsentrasi 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , dan 100  $\mu\text{M}$ . Perlakuan konsentrasi 50  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 75  $\mu\text{M}$ . Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 100  $\mu\text{M}$ . Persentase tunas tanaman alfalfa meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi oryzalin. Nilai rerata jumlah tunas tertinggi berada pada rendaman benih di konsentrasi 100  $\mu\text{M}$  selama 6 jam, yaitu sebanyak

7 tunas per eksplan. Tunas hasil perlakuan kontrol menunjukkan nilai rerata yang paling sedikit, yaitu sejumlah 3 tunas per eksplan.



Gambar 4.12 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata jumlah tunas tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Keterangan : Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p>0,05$ )

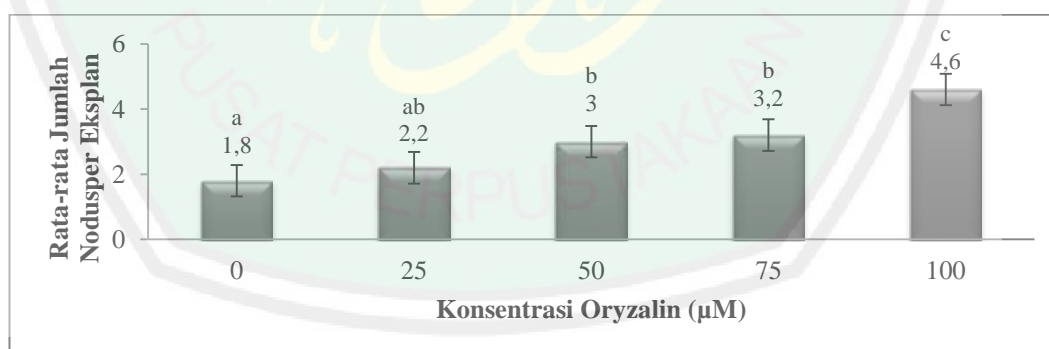
Jumlah tunas hasil poliploidi menjadi salah satu parameter morfologis tolak ukur keberhasilan induksi poliploidi (Ermayanti *et al.*, 2018). Sesuai dengan hasil penelitian Sukamto *et al.*, (2015) bahwa tanaman garut (*Maranta arundinacea* L.) poliploid hasil induksi oryzalin 10 µM memiliki tunas yang lebih banyak dibandingkan dengan tanaman perlakuan kontrol. Tanaman perlakuan oryzalin 10 µM memiliki rerata tunas sebanyak 1,53 tunas per tanaman, sedangkan tanaman perlakuan kontrol memiliki rerata tunas sebanyak 1,17 tunas per tanaman. Tanaman *Psidium guajava* L. hasil perlakuan poliploid oryzalin secara *in-vitro* memiliki jumlah tunas yang lebih banyak pada tanaman perlakuan kontrol. Perlakuan oryzalin sebanyak 60 µM menghasilkan sejumlah rerata 20 tunas per eksplan. Perlakuan kontrol menghasilkan rerata 5 tunas per eksplan (Handayani & Witjacksono, 2017).

Perlakuan poliploidi dapat meningkatkan ukuran nuklear disebabkan meningkatnya kromatin (Levin, 2002; Niu *et al.*, 2016). Kromosom yang mengganda akan diikuti dengan meningkatnya aktifitas gen-gen dalam tanaman tersebut. Ukuran transkripsi RNA meningkat secara linier dengan meningkatnya poliploid. Gen tersebut menyimpan banyak kode metabolisme pertumbuhan tanaman, sehingga peningkatan jumlah kromosomal akan berdampak positif pada metabolisme tanaman (Lee *et al.*, 2009). Metabolisme tanaman secara endogen dapat dipengaruhi oleh hormon (Montesinos *et al.*, 2020).

Senyawa mitotik oryzalin mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kadar hormon tumbuhan (Tamayo-Ordóñez *et al.*, 2016). Sitokinin merupakan salah satu hormon tumbuhan yang memiliki andil dalam pembentukan tunas, hormon ini berfungsi sebagai pemacu proliferasi sel (Montesinos *et al.*, 2020). Pada metode perbanyakan tanaman secara *in-vitro* hormon sitokinin berasal dari tanaman itu sendiri, maupun dari media (Sivanesan & Jeong, 2007). Perlakuan oryzalin 100  $\mu\text{M}$  mampu meningkatkan jumlah tunas alfalfa, sehingga diduga pula dapat meningkatkan ploidi alfalfa. Hasil poliploidi perlakuan oryzalin diharapkan dapat meningkatkan biomassa tanaman alfalfa.

#### 4.3.3 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Nodus Eksplan Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Terdapat pengaruh nyata pemberian variasi konsentrasi oryzalin terhadap pertumbuhan nodus (Gambar 4.13). Perlakuan konsentrasi 0  $\mu\text{M}$  (kontrol) tidak berbeda secara nyata terhadap konsentrasi 25  $\mu\text{M}$ . Perlakuan konsentrasi 25  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata terhadap konsentrasi 50  $\mu\text{M}$  dan 75  $\mu\text{M}$ . Perlakuan konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  berbeda nyata dengan konsentrasi 100  $\mu\text{M}$ . Nilai rerata jumlah nodus perlakuan oryzalin 100  $\mu\text{M}$  menduduki peringkat tertinggi, sebanyak 4,6 nodus per eksplan. Nilai rerata jumlah nodus perlakuan kontrol menduduki peringkat terendah, sebanyak 1,8 nodus per eksplan.



Gambar 4.13 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata jumlah nodus tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)  
(Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p>0,05$ )

Parameter jumlah nodus dapat digunakan sebagai keberhasilan induksi poliploid (Chimezie *et al.*, 2015; Švécarová *et al.*, 2019; Talebi *et al.*, 2017). Beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa derajat poliploid

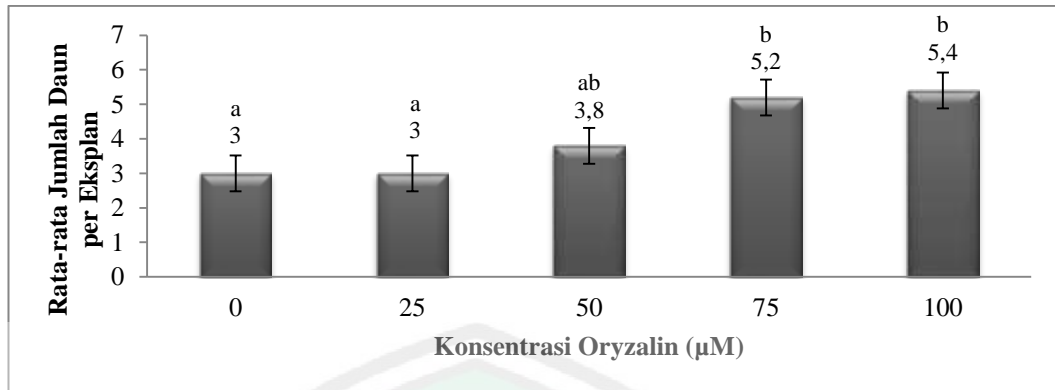
meningkatkan jumlah nodus tanaman. Sebagaimana hasil penelitian Švécarová *et al.*, (2019), didapatkan rerata jumlah nodus tanaman *Humulus lupulus* L. klon 31 diploid lebih rendah dibandingkan dengan tanaman tetraploid. Penambahan konsentrasi perlakuan oryzalin 20  $\mu\text{M}$  berpengaruh terhadap penambahan rerata jumlah nodus tanaman pula. Tanaman poliploid hasil induksi oryzalin memiliki rerata jumlah nodus sebanyak 35 nodus, sedangkan tanaman diploid memiliki rerata tunas sebanyak 23 nodus.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah nodus berhubungan secara positif dengan jumlah tunas, jumlah nodus akan meningkat seiring dengan jumlah tunas yang terbentuk. Kemudian, jumlah nodus berbanding terbalik dengan tinggi tunas yang dihasilkan. Sesuai dengan penjelasan Švécarová *et al.*, (2019) bahwa tanaman poliploidi umumnya memiliki tunas yang lebih pendek, nodus lebih banyak, serta ruas internodal yang lebih pendek daripada tanaman diploid, sehingga menjadikan tanaman poliploid memiliki tunas yang lebih banyak.

#### **4.3.4 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Jumlah Daun Eksplan Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**

Jumlah daun alfalfa pada tiap perlakuan bertambah sejalan dengan bertambahnya konsentrasi oryzalin yang diberikan. Konsentrasi oryzalin berpengaruh secara nyata signifikan terhadap pertumbuhan daun setelah dilakukan uji analisis (Gambar 4.14). Perlakuan konsentrasi 0  $\mu\text{M}$  (kontrol) tidak berbeda secara nyata terhadap konsentrasi 25  $\mu\text{M}$  dan 50  $\mu\text{M}$ . Perlakuan konsentrasi 25  $\mu\text{M}$  berbeda nyata terhadap konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  dan 100  $\mu\text{M}$ . Perlakuan konsentrasi 50  $\mu\text{M}$  tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  dan 100  $\mu\text{M}$ . Konsentrasi kontrol memiliki nilai rerata jumlah daun terkecil, yaitu sebanyak 3 helai per eksplan. Konsentrasi 100  $\mu\text{M}$  memiliki nilai rerata jumlah daun terbesar, yaitu sebanyak 5,4 helai per eksplan.





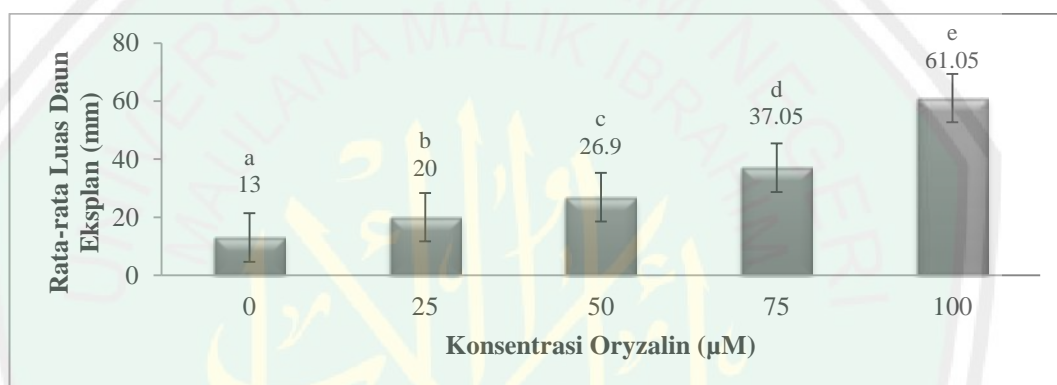
Gambar 4.14 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata jumlah daun tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)  
(Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p > 0,05$ )

Bertambahnya jumlah daun berhubungan secara linier dengan jumlah tunas. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian Sukamto *et al.*, (2015) menjelaskan bahwa terdapat pengaruh signifikan induksi poliploid menggunakan oryzalin garut (*Maranta arundinacea* L.) poliploid hasil induksi poliploid oryzalin memiliki jumlah daun yang berbeda secara nyata dengan perlakuan kontrol. Jumlah daun bertambah seiring dengan bertambahnya tunas yang muncul. Perlakuan garut konsentrasi oryzalin 10 µM menghasilkan rerata daun sebanyak per 5,94 per tanaman. Sedangkan, perlakuan garut konsentrasi kontrol menghasilkan daun sebanyak 5,22 per tanaman.

Jumlah daun meningkat seiring dengan meningkatnya nodus pada beberapa tanaman hasil poliploidisasi. Jumlah daun dijadikan sebagai karakter morfologi keberhasilan induksi poliploidi dikarenakan daun merupakan organ utama tempat terjadinya fotosintesis. Sehingga apabila jumlah daun bertambah secara signifikan, diharapkan dapat menambah laju fotosintesis tanaman. Penambahan laju fotosintesis secara langsung berpengaruh pada kecepatan metabolisme tanaman. Alfalfa merupakan tanaman medik yang sebagian besar dimanfaatkan organ daunnya karena memiliki kadar protein serta klorofil tertinggi. Bertambahnya jumlah daun hasil perlakuan terbaik konsentrasi oryzalin sebanyak 75 µM dan 100 µM oryzalin diharapkan dapat lebih meningkatkan biomassa tanaman alfalfa.

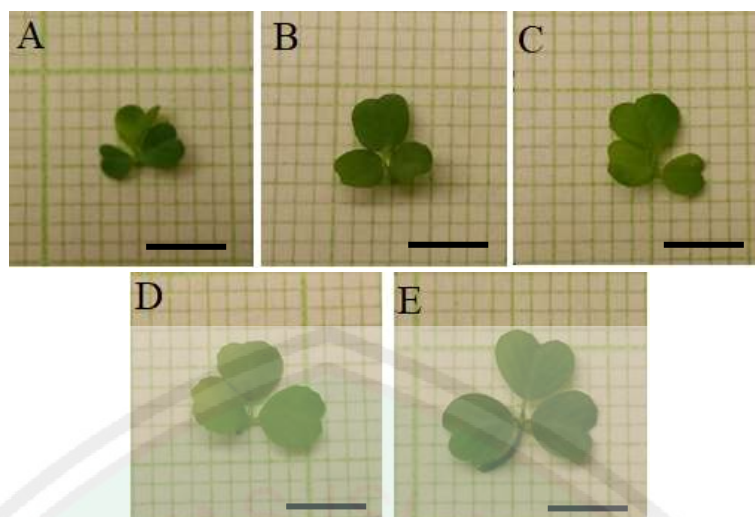
#### 4.3.5 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin Terhadap Luas Daun Eksplan Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Pengamatan ukuran luas daun didapatkan dari panjang  $\times$  lebar daun. Pengamatan parameter ini merupakan salah satu ciri keberhasilan induksi poliploid secara tidak langsung dalam aspek morfologi. Rata-rata luas daun menunjukkan peningkatan dan oryzalin berpengaruh secara signifikan sesuai dengan konsentrasi oryzalin yang diberikan. Setiap perlakuan konsentrasi oryzalin memiliki luas daun yang berbeda nyata (Gambar 4.15). Rerata luas daun tertinggi didapatkan pada alfalfa perlakuan 100  $\mu$ M, sebesar 61,05 mm. Kemudian, rerata luas daun terendah didapatkan pada alfalfa perlakuan 0  $\mu$ M, yakni sebesar 13 mm.



Gambar 4.15 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap rata-rata luas daun (panjang  $\times$  lebar) tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.)  
(Keterangan: Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan DMRT  $p > 0,05$ )

Tolak ukur keberhasilan poliploidisasi dapat dilihat secara tidak langsung melalui morfologi daun tanaman, meliputi: bentuk daun, warna daun, panjang daun, dan lebar daun (Allum *et al.*, 2007; Ermayanti *et al.*, 2018; Talebi *et al.*, 2017). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ukuran daun alfalfa meningkat sejalan dengan penambahan konsentrasi oryzalin (Gambar 4.16). Pada konsentrasi senyawa antimetabolit yang optimum, akan dihasilkan tanaman poliploid dengan struktur daun yang lebih hijau, tebal, serta memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan tanaman diploid (Handayani & Witjaksono, 2017). Warna daun yang lebih hijau berasal dari meningkatnya jumlah klorofil pada daun yang berfungsi untuk meningkatkan laju fotosintesis selnya. Tanaman poliploid memiliki kromosom lebih dari dua set.



Gambar 4.16 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap ukuran luas daun tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.). Keterangan: A) Kontrol, B) Konsentrasi 25  $\mu\text{M}$ , C) Konsentrasi 50  $\mu\text{M}$ , D) Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$ , E) Konsentrasi 100  $\mu\text{M}$   
(Keterangan: Daun usia 6 minggu HST)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi oryzalin yang digunakan, berbanding lurus dengan penambahan ukuran daun alfalfa. Hal tersebut diperkuat dengan hasil penelitian pada tanaman *Agastache foeniculum* L. Induksi oryzalin 25  $\mu\text{M}$  berpengaruh nyata terhadap tingkat poliploiditas tanaman *A. foeniculum* L. Daun *A. foeniculum* L diploid memiliki panjang  $45.14 \pm 0.72$  mm dan lebar  $40.45 \pm 1.01$  mm. Sementara daun tetraploid memiliki panjang  $57.23 \pm 0.43$  mm dan lebar  $46.14 \pm 0.90$  mm (Talebi *et al.*, 2017).

Bertambahnya ukuran sel poliploid disebabkan adanya penggandaan kromosom, sehingga sel akan menekan dinding sel ke arah luar menyebabkan ukuran sel poliploid lebih besar dibanding diploid (Ermayanti *et al.*, 2018). Peningkatan ukuran sel umumnya akan diikuti dengan bertambahnya organ tanaman, baik organ vegetatif maupun generatif seperti daun, batang, akar, bunga, dan buah (Sari *et al.*, 2017).

Terdapat dua cara pembentukan derajat ploidi dan efeknya pada ukuran organ tanaman, yaitu dengan mekanisme endoreduplikasi dan *Whole-Genome Multiplication* (WGM) (Lee *et al.*, 2009). Endoreduplikasi mampu meningkatkan ukuran sel, namun tidak dapat meningkatkan ukuran organ, dikarenakan endoreduplikasi tidak mengubah total salinan genom. Sementara mekanisme WGM mampu meningkatkan ukuran sel serta berakibat pada meningkatkan

ukuran organ tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran nuklear, ukuran sel, dan ukuran organ bertambah dengan adanya poliploidi. Ukuran inti dan ukuran sel memiliki rasio yang konstan. Namun, pengurangan inti tidak mengurangi ukuran sel, sehingga didapatkan kesimpulan bahwa ukuran inti tidak mempengaruhi ukuran sel. Kemungkinan poliploid secara langsung mempengaruhi baik ukuran inti dan ukuran sel (Robinson *et al.*, 2018).

#### 4.4 Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu ciptaan Allah yang memiliki berbagai fungsi dalam kehidupan manusia. Allah menciptakan berbagai macam tumbuhan sesuai dengan fungsinya. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam surat At-Thaha ayat 53 sebagai berikut.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ  
أَنْزُوجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: "Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam" (QS. At-Thahaa:20/53).

Ayat diatas memaparkan tentang variasi tumbuhan. Ibnu Katsir dalam tafsirnya (2004) menjelaskan bahwa Allah yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan, berarti bumi sebagai tempat tinggal makhluk hidup, dan dibuka berbagai jalan diatas permukaan bumi. Kemudian Allah menurunkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan dengan berbagai variasi buah dari segi warna, rasa, aroma, bentuk, ukuran dan tekstur.

Pelajaran yang diambil dari perbedaan warna pada berbagai jenis tanaman tersebut yakni adanya variasi warna berkaitan dengan kandungan tanaman. Warna hijau pada tanaman disebabkan oleh kandungan klorofil pada tanaman. Semakin hijau tanaman tersebut maka semakin tinggi pula kandungan klorofil tanaman. Klorofil merupakan senyawa yang berfungsi sebagai pigmen hijau tanaman. Klorofil berfungsi sebagai penyerap cahaya saat fotosintesis (Viera *et al.*, 2019). Alfalfa merupakan salah satu jenis tanaman legum yang dimanfaatkan kandungan klorofilnya yang tinggi. Sesuai dengan firman Allah dalam surat Al-Luqman ayat 10 berikut.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۚ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ  
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya:”Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”(QS. Al-Luqman:31/10).

Ibnu Katsir (2004) menyatakan bahwa dalam ayat ini Allah menjelaskan tentang kekuasaan-Nya yang agung dalam menciptakan langit dan bumi, serta isinya. Kalimat (مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ) berarti segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik, yakni indah dipandang dan memiliki manfaat bagi manusia. Hujan diturunkan Allah untuk memenuhi keberlangsungan makhluk hidup, Salah satunya untuk menumbuhkan berbagai macam tanaman yang baik. Tanaman yang baik merupakan jenis tanaman yang memiliki banyak manfaat, baik untuk kesehatan manusia maupun makhluk hidup lainnya. Allah tidak akan menciptakan sesuatu hal tanpa adanya manfaat didalamnya. Sehingga hal ini berkaitan dengan alfalfa sebagai sumber klorofil dan metabolit sekunder. Klorofil alfalfa dan metabolit sekunder yang berasal dari daun banyak digunakan masyarakat untuk obat alami berbagai penyakit (Mikaili & Shayegh, 2011).

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً  
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya:”Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS. An-Nahl:16/11).

Ibnu Katsir (2004) menyatakan maksud dari ayat diatas ialah Allah telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan dari air hujan. Dalil ini sebagai bukti bahwasanya tidak ada Illah yang berhak disembah kecuali Allah. Tumbuhan merupakan salah satu tanda kekuasaan yang diciptakan Allah. Namun tanda kekuasaan itu hanya mampu dilihat oleh manusia yang berfikir. Salah satu tanda kekuasaan Allah pada penciptaan tumbuhan ialah dalam tahap perkembangan

tumbuhan terdapat berbagai mekanisme metabolisme terjadi dengan sangat teratur. Metabolisme tumbuhan secara garis besar terdiri dari fotosintesis dan transpirasi (Bhatla & Lal, 2018). Segala proses metabolisme tumbuhan diatur oleh adanya gen. Manusia dibekali Allah dengan akal untuk melakukan penelitian dan inovasi agar semakin melihat tanda kekuasaan Allah.

Tanaman poliploid merupakan salah satu bentuk inovasi manusia dalam mengembangkan fungsi tanaman. Teknik untuk mendapatkan tanaman poliploid disebut poliploidisasi. Poliploidisasi berfungsi untuk menggandakan kromosom. Kromosom yang mengganda memungkinkan penggandaan kerja gen sebagai pengkode berbagai metabolisme tanaman. Poliploidisasi dalam penelitian ini menggunakan senyawa oryzalin. Anitha et al., (2017) menerangkan bahwa rentang toleransi tanaman terhadap konsentrasi oryzalin berbeda-beda. Keberhasilan induksi poliploid berhubungan dengan konsentrasi oryzalin yang diberikan. Sesuai dengan firman Allah tentang segala hal diciptakan sesuai dengan ukurannya pada surat Al-Hijr ayat 19 berikut.

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوْسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ ﴿١٩﴾

Artinya:”Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran” (QS. Al-Hijr:15/19).

Dalam ayat tersebut menuturkan bahwa Allah menciptakan bumi membentang luas, gunung-gunung yang tegak, lembah-lembah, tanah, pasir, dan berbagai tumbuh-tumbuhan yang sesuai. Kalimat (مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ) berarti segala sesuatu dengan ukuran, segala hal yang telah memiliki ukurannya masing-masing (Katsir, 2004). Allah telah menciptakan segala bentuk dengan seimbang. Hal ini sejalan dengan pemberian oryzalin pada induksi poliploidi alfalfa. Peneliti harus menemukan konsentrasi yang tepat untuk induksi poliploidi. Keberhasilan poliploidi dilihat dari karakter stomata dan fenotipik alfalfa.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dipaparkan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Konsentrasi oryzalin berpengaruh nyata terhadap karakter stomata tunas *in-vitro* alfalfa (*Medicago sativa* L.). Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  dan 100  $\mu\text{M}$  memberikan pengaruh yang optimal terhadap karakter stomata, meliputi: panjang stomata sebesar 42,27  $\mu\text{m}$  dan 45,73  $\mu\text{m}$ , lebar stomata 38,58  $\mu\text{m}$  dan 45,69  $\mu\text{m}$ , kerapatan stomata 4,24  $\text{mm}^{-2}$  dan 4,03  $\text{mm}^{-2}$ , serta jumlah kloroplas 18,15 dan 20,27.
2. Konsentrasi oryzalin berpengaruh nyata terhadap karakter fenotipik tunas *in-vitro* alfalfa (*Medicago sativa* L.). Konsentrasi 75  $\mu\text{M}$  dan 100  $\mu\text{M}$  memberikan pengaruh yang optimal terhadap karakter fenotipik tunas, meliputi: tinggi tunas sebesar 4,1 cm dan 2,8 cm, jumlah tunas 6,4 tunas dan 7 tunas, jumlah nodus 3,2 dan 4,6, jumlah daun 5,2 dan 5,4, serta luas daun 37,05  $\text{mm}^2$  dan 61,05  $\text{mm}^2$ .

#### **5.2 Saran**

Saran dari penelitian yang telah dilakukan sebagai berikut:

1. Peneliti selanjutnya dapat meningkatkan konsentrasi pemberian oryzalin agar didapatkan konsentrasi maksimum oryzalin pada induksi mutasi alfalfa
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mendeteksi derajat keberhasilan induksi poliploidi alfalfa menggunakan parameter flowsitometer, jumlah kromosom, kandungan klorofil, dan kandungan metabolit sekunder.
3. Perlu dilakukan subkultur berulang sampai didapatkan tanaman poliploid yang stabil.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aidh, A.-Q. (2007). *Tafsir Muyassar*. Qisthi Press.
- Aili, E. N., Respatijarti, & Sugiharto, A. N. (2016). Pengaruh pemberian kolkisin terhadap penampilan fenotip galur inbrida jagung pakan (*Zea mays* L.) pada fase pertumbuhan vegetatif the effect of colchicine treatments on phenotype of yellow corn (*Zea mays* L.) inbreed lines in the vegetative growth phase. *Jurnal Produksi Tanaman*, 4(5), 370–377.
- Al-Maraghi, A. M. (1993). *Tafsir Al-Maraghi*. Karya Thoha Putra.
- Al-Qurtubi, I. (2008). Tafsir Al-Qurtubi. In *PT. Pustaka Litera*. PT. Pustaka Litera.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Garland Science.
- Allum, J. F., Bringle, D. H., & Roberts, A. V. (2007). Chromosome doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. hybrid by exposure of in vitro nodes to oryzalin: The effects of node length, oryzalin concentration and exposure time. *Plant Cell Reports*, 26(11), 1977–1984. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0411-y>
- Anitha, K., Jawaharlal, M., Joel, J., & Surendranath, R. (2017). Induction of polyploids and isolation of ploidy variants through stomatal parameters in bougainvillea (*Bougainvillea* spp). *International Journal of Agricultural Science and Research*, 7(1), 451–458.
- Avato, P., Bucci, R., Tava, A., Vitali, C., Rosato, A., Bialy, Z., & Jurzysta, M. (2006). Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* sp.: Structure-activity relationship. *Phytotherapy Research*, 20(6), 454–457. <https://doi.org/10.1002/ptr.1876>
- Bagavathiannan, M. V., & Van Acker, R. C. (2009). The biology and ecology of Feral Alfalfa (*Medicago sativa* L.) and its implications for novel trait confinement in North America. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 28(1–2), 69–87. <https://doi.org/10.1080/07352680902753613>
- Band, S. M., Ghadimzadeh, M., Jafari, M., & Bernousi, I. (2011). Direct shoot regeneration from stem nodal explants of two wild *Medicago* species-*Medicago scutellata* and *Medicago rigidula*. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 668–673.
- Barandalla, L., Ritter, E., & Ruiz De Galarreta, J. I. (2006). Oryzalin treatment of potato diploids yields tetraploid and chimeric plants from which euploids could be derived by callus induction. *Potato Research*, 49(2), 143–154. <https://doi.org/10.1007/s11540-006-9014-1>
- Belete, T. (2018). A review on somatic hybridization and its utilization in crop improvement. *International Journal of African and Asian Studies*, 43, 24–34.
- Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2018). *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1>
- Bora, K. S., & Sharma, A. (2011). Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: A review. *Pharmaceutical Biology*, 49(2), 211–220. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.504732>
- Casler, M. D., & Undersander, D. J. (2019). Identification of Temperate Pasture Grasses and Legumes. In *Horse Pasture Management*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812919-7.00002-0>
- Chambers, A. H., Pollard, H., & Folta, K. M. (2013). Limitations of morphological ploidy estimation methods in *Fragaria*. *Journal of Berry*



- Research*, 3(3), 135–149. <https://doi.org/10.3233/JBR-130057>
- Chimezie, E., Agogbua, J. U., & Okoli, B. E. (2015). Effect of oryzalin treatments on polyploidy induction, phenotypic and quantitative traits of *Zehneria capillacea* (Shumach.) C. Jeffrey. *International Journal of Tropical Agriculture*, 33(3), 2067–2073.
- Christenhusz, M. J. M., & Byng, J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, 261(3), 201–217. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.261.3.1>
- Comai, L. (2005). The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*, 6(11), 836–846. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>
- Dabkevičienė, G., Statkevičiūtė, G., Mikaliūnienė, J., Norkevičienė, E., & Kemešytė, V. (2016). Production of *Trifolium pratense* L. and *T. hybridum* L. tetraploid populations and assessment of their agrobiological characteristics. *Zemdirbyste-Agriculture*, 103(4), 377–384. <https://doi.org/10.13080/z-a.2016.103.048>
- Dar, Hassan, T. U., & Rehman, R. U. (2017). *Detection of Polyploidy*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-3772-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-81-322-3772-3_4)
- Doss, A., Parivuguna, V., Vijayasanthi, M., & Surendran, S. (2011). Antibacterial evaluation and phytochemical analysis of *Medicago sativa* L. against some microbial pathogens. *Indian Journal of Science and Technology*, 4(5), 550–552. <https://doi.org/10.30906/1999-5636-2009-1-i-102-103>
- Dwiyani, R. (2015). *Kultur Jaringan Tanaman*. Pelawa Sari. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ermayanti, T. M., Wijayanta, A. N., & Ratnadewi, D. (2018). Induksi poliploidi pada tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) kultivar Kaliurang dengan perlakuan kolkisin secara in vitro. *Jurnal Biologi Indonesia*, 14(1), 91–102.
- Faleiro, F. G., Kannan, B., & Altpeter, F. (2016). Regeneration of fertile, hexaploid, interspecific hybrids of elephantgrass and pearl millet following treatment of embryogenic calli with antimetabolic agents. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 124(1), 57–67. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0874-4>
- Fapet.ugm.ac.id. (2018, 29 Maret). Faculty of Animal Science (FAS) UGM Finds Tropical Alfalfa Hatchery Method. Diakses pada 23 November 2020, dari <https://fapet.ugm.ac.id/en/faculty-of-animal-science-fas-ugm-finds-tropical-alfalfa-hatchery-method/>
- George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G. J. De. (2008). Plant propagation by tissue culture 3rd edition. In *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition* (Vol. 1). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3>
- Gomathi, R., Banu, S., & Usha, K. (2016). Phytochemical analysis and free radical scavenging potential of *Medicago Sativa* Linn Seeds. *International Research Journal of Pharmacy*, 7(6), 71–76. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.07667>
- Handayani, T., & Witjaksono, W. (2017). Induksi tetraploid pada tanaman jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) secara in vitro. *Indonesian Journal of Biology*, 13(2), 271–278. <https://doi.org/10.14203/jbi.v13i2.3401>
- Hanif, M. A., Al-Maskari, A. Y., Al-Sabahi, J. N., Al-Hdhrami, I., Khan, M. M., Al-Azkawi, A., & Hussain, A. I. (2015). Chemical characterisation of

- bioactive compounds in *Medicago sativa* growing in the desert of Oman. *Natural Product Research*, 29(24), 2332–2335. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1008474>
- Haryanti, S. (2010). Jumlah dan distribusi stomata pada daun beberapa spesies tanaman dikotil dan monokotil. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 18(2), 21–28. <https://doi.org/10.14710/baf.v18i2.2600>
- Haryanti, S., & Meirina, T. (2009). Optimalisasi pembukaan porus stomata daun kedelai (*Glycine max* (L) merril) pada pagi hari dan sore. *BIOMA*, 11(1), 11–16. <https://doi.org/10.14710/bioma.11.1.11-16>
- He, M., Gao, W., Gao, Y., Liu, Y., Yang, X., Jiao, H., & Zhou, Y. (2016). Polyploidy induced by colchicine in *Dendranthema indicum* var. aromaticum, a scented chrysanthemum. *European Journal of Horticultural Science*, 81(4), 219–226. <https://doi.org/10.17660/eJHS.2016/81.4.5>
- Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., Gerszberg, A., Glińska, S., & Grzegorzczak-Karolak, I. (2019). Regeneration of *Phaseolus vulgaris* from epicotyls and hypocotyls via direct organogenesis. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42723-8>
- Hosseini-Nasr, M., & Rashid, A. (2003). Thidiazuron-induced high-frequency shoot regeneration from root region of *Robinia pseudoacacia* L. seedlings. *Biologia Plantarum*, 47(4), 593–596. <https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000041068.19770.95>
- Jiang, Y., Liu, S., Hu, J., He, G., Liu, Y., Chen, X., Lei, T., Li, Q., Yang, L., Li, W., Hu, D., Li, J., & Gao, S. (2020). Polyploidization of *Plumbago auriculata* Lam. in vitro and its characterization including cold tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 140(2), 315–325. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01729-w>
- Kadi, A. (2007). Manipulasi poliploidi untuk memperoleh jenis baru yang unggul. *Oseana*, XXXII(4), 1–11. [www.oseanografi.lipi.go.id](http://www.oseanografi.lipi.go.id)
- Katsir, I. (2004). *Tafsir Ibnu Katsir* (Y. Harun (ed.)). Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Khawar, K. M., Sancak, C., Uranbey, S., & Özcan, S. (2004). Effect of Thidiazuron on shoot regeneration from different explants of lentil (*Lens culinaris* Medik.) via organogenesis. *Turkish Journal of Botany*, 28(4), 421–426.
- Kim, Y. S., Hahn, E. J., Murthy, H. N., & Paek, K. Y. (2004). Effect of polyploidy induction on biomass and ginsenoside accumulations in adventitious roots of ginseng. *Journal of Plant Biology*, 47(4), 356–360. <https://doi.org/10.1007/BF03030551>
- Lam, H. K., Harbard, J. L., & Koutoulis, A. (2014). Tetraploid induction of *Acacia crassicarpa* using colchicine and oryzalin. *Journal of Tropical Forest Science*, 26(3), 347–354.
- Lawson, T., & Blatt, M. R. (2014). Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. *Plant Physiology*, 164(4), 1556–1570. <https://doi.org/10.1104/pp.114.237107>
- Lee, H. O., Davidson, J. M., & Duronio, R. J. (2009). Endoreplication: Polyploidy with purpose. *Genes and Development*, 23(21), 2461–2477. <https://doi.org/10.1101/gad.1829209>
- Lestari, E. G. (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63.

- <https://doi.org/10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>
- Levin, D. A. (2002). Phenotypic consequences of chromosome doubling. In *The role of chromosomal change in plant evolution* (pp. 134–149). Oxford University Press.
- Li, J. J., Wu, Y. M., Wang, T., & Liu, J. X. (2009). In vitro direct organogenesis and regeneration of *Medicago sativa*. *Biologia Plantarum*, 53(2), 325–328. <https://doi.org/10.1007/s10535-009-0059-2>
- Li, M., Ding, B., Huang, W., Pan, J., Ding, Z., & Jiang, F. (2018). Induction and Characterization of Tetraploids from Seeds of *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3246398>
- Liu, G., Li, Z., & Bao, M. (2007). Colchicine-induced chromosome doubling in *Platanus acerifolia* and its effect on plant morphology. *Euphytica*, 157(1–2), 145–154. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9406-6>
- Maluszynski, M., Szarejco, I., Bhatia, C. R., Nichterlein, K., & Lagoda, P. J. L. (2009). Plant breeding and farmer participation. In *Plant Breeding and Farmer Participation* (Issue May 2014). Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Messmer, M., Schaefer, F., P. Willbois, K., & Arncken, C. (2015). Plant Breeding Techniques: An assessment for organic farming. In G. Weidmann (Ed.), *Dossier* (Issue January). Research Institute of Organic Agriculture (FiBL). <https://shop.fibl.org/fileadmin/documents/shop/1202-plant-breeding.pdf>
- Mikaili, P., & Shayegh, J. (2011). *Medicago sativa*: A historical ethnopharmacology and etymological study of the alfalfa. *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 1(9), 614–618. [www.roavs.com](http://www.roavs.com)
- Mishra, V. K., Bacheti, R. K., & Husen, A. (2011). Medicinal uses of chlorophyll: A critical overview. *Chlorophyll: Structure, Production and Medicinal Uses*, November 2015, 177–196.
- Montesinos, J. C., Abuzeineh, A., Kopf, A., Juanes-Garcia, A., Ötvös, K., Petrášek, J., Sixt, M., & Benková, E. (2020). Phytohormone cytokinin guides microtubule dynamics during cell progression from proliferative to differentiated stage. *The EMBO Journal*, 39(17), 1–22. <https://doi.org/10.15252/emboj.2019104238>
- Morrisette, N. S., Mitra, A., Sept, D., & Sibley, L. D. (2003). Dinitroanilines bind  $\alpha$  tubulin to disrupt microtubules. *Molecular Biology of the Cell*, 15, 1960–1968. <https://doi.org/10.1091/mbc.E03>
- Mostafa, G. G., & Alhamd, M. F. A. (2016). Detection and evaluation the tetraploid plants of *Celosia argentea* induced by colchicines. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 10(2), 110–115. <https://doi.org/10.3923/ijpb.2016.110.115>
- Niu, L., Tao, Y. Bin, Chen, M. S., Fu, Q., Dong, Y., He, H., & Xu, Z. F. (2016). Identification and characterization of tetraploid and octoploid *Jatropha curcas* induced by colchicine. *Caryologia*, 69(1), 58–66. <https://doi.org/10.1080/00087114.2015.1110308>
- Nurmaningrum, D., Nurchayati, Y., Setiari, N., Biologi, P. S., Biologi, D., Sains, F., & Diponegoro, U. (2017). Mikropropagasi tunas alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada kombinasi benzil amino purin (BAP) dan thidiazuron (TDZ). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 2(2), 211–217.

- O'Rourke, J. A., Fu, F., Bucciarelli, B., Yang, S. S., Samac, D. A., Lamb, J. A. F. S., Monteros, M. J., Graham, M. A., Gronwald, J. W., Krom, N., Li, J., Dai, X., Zhao, P. X., & Vance, C. P. (2015). The *Medicago sativa* gene index 1.2: A web-accessible gene expression atlas for investigating expression differences between *Medicago sativa* subspecies. *BMC Genomics*, *16*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1718-7>
- Omidbaigi, R., Mirzaee, M., Hassani, M. E., & Moghadam, M. S. (2010). Induction and identification of polyploidy in basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plant by colchicine treatment. *International Journal of Plant Production*, *4*(2), 87–98. <https://doi.org/10.22069/ijpp.2012.686>
- Orcen, N. (2013). In vitro organogenesis and regeneration of alfalfa. *Fresenius Environmental Bulletin*, *22*(9a), 2770–2774.
- Pakanternak.fapet.ugm.ac.id. (2017, 19 November). Alfalfa untuk masa depan peternakan. Diakses pada 23 November 2020, dari <https://pakanternak.fapet.ugm.ac.id/2017/11/19/alfalfa-untuk-masa-depan-peternakan/>
- Pathirana, R. (2011). Plant mutation breeding in agriculture. In *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* (Vol. 6, Issue 032). <https://doi.org/10.1079/PAVSNR20116032>
- Raei, A., Yasini Ardakani, S. A., & Daneshi, M. (2017). Microencapsulation of the green pigment of alfalfa and its applications on heated food. *Journal of Food Process Engineering*, *40*(5). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12529>
- Rahayu, E. M. Della, Sukma, D., Syukur, M., & , R. (2016). Induksi poliploid di *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume dan *Phalaenopsis amboinensis* J. J. Smith dengan kolkisin dalam kultur in vitro. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, *43*(3), 219. <https://doi.org/10.24831/jai.v43i3.11248>
- Rahman, W., Al Hafiih, E., Muji Ermayanti, T., Ellfy Rantau, D., & A. Lelono, A. (2017). Acclimation and agronomic performance of polyploids clones of *Artemisia annua* L. *Jurnal Biologi Indonesia*, *13*(1), 34–42. <https://doi.org/10.47349/jbi/13012017/34>
- Raney, T. G. (2006). Polyploidy: From evolution to new plant development. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society*, *56*(January 2006), 137–142. <http://buncombe.ces.ncsu.edu/fletcher/mcilab/publications/raney-2006.pdf>
- Revatipadale et al., R. et al. . (2019). Estimation of chlorophyll content in young and adult leaves of some selected plants in non-polluted areas. *International Journal of Botany and Research*, *9*(1), 21–32. <https://doi.org/10.24247/ijbrjun20194>
- Robinson, D. O., Coate, J. E., Singh, A., Hong, L., Bush, M., Doyle, J. J., & Roeder, A. H. K. (2018). Ploidy and size at multiple scales in the arabidopsis sepal[open]. *Plant Cell*, *30*(10), 2308–2329. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00344>
- Sabater, B. (2018). Evolution and function of the chloroplast. Current investigations and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(10). <https://doi.org/10.3390/ijms19103095>
- Sajimin. (2011). *Medicago sativa* L (alfalfa) sebagai tanaman pakan ternak harapan di indonesia. *Wartazoa*, *21*(2), 91–98.

- Sajimin, S., & Purwantari, N. (2017). Induksi dan multiplikasi tunas alfalfa (*Medicago sativa* L) secara in vitro untuk penyediaan bibit tanaman pakan ternak. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner 2017*, 523–530. <https://doi.org/10.14334/pros.semnas.tpv-2017-p.525-532>
- Sari, B. P., Karno, K., & Anwar, S. (2017). Karakteristik morfologi dan sitologi tanaman Sutra Bombay (*Portulaca grandiflora* Hook) hasil poliploidisasi dengan kolkisin pada berbagai konsentrasi dan frekuensi aplikasi. *Journal of Agro Complex*, 1(2), 39. <https://doi.org/10.14710/joac.1.2.39-48>
- Satyavathi, V. V., Jauhar, P. P., Elias, E. M., & Rao, M. B. (2004). Effects of growth regulators on in vitro plant regeneration in durum wheat. *Crop Science*, 44(5), 1839–1846. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.1839>
- Shankar, S. R., Rangarajan, R., Sarada, D. V. L., & Kumar, C. S. (2010). Evaluation of antibacterial activity and phytochemical screening of *Wrightia tinctoria* L. *Pharmacognosy Journal*, 2(14), 19–22. [https://doi.org/10.1016/S0975-3575\(10\)80066-5](https://doi.org/10.1016/S0975-3575(10)80066-5)
- Silva, P. A. K. X. de M. e, Callegari-Jacques, S., & Bodanese-Zanettini, M. H. (2000). Induction and identification of polyploids in *Cattleya intermedia* Lindl. (orchidaceae) by in vitro techniques. *Ciência Rural*, 30(1), 105–111. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782000000100017>
- Sivanesan, I., & Jeong, B. R. (2007). Direct shoot regeneration from nodal explants of *Sida cordifolia* Linn. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 43(5), 436–441. <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9090-1>
- Sobrizal. (2017). Potensi pemuliaan mutasi untuk perbaikan varietas padi lokal Indonesia. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop Dan Radiasi*, 12(1), 23. <https://doi.org/10.17146/jair.2016.12.1.3198>
- Strachan, S. D., & Hess, F. D. (1983). The biochemical mechanism of action of the dinitroaniline herbicide oryzalin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 20(2), 141–150. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(83\)90018-4](https://doi.org/10.1016/0048-3575(83)90018-4)
- Subantoro, R. (2009). Mengenal karakter alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Mediagro*, 5(2), 50–62.
- Sukanto, L. A., Ahmad, F., & Wawo, A. H. (2015). Pengaruh oryzalin terhadap tingkat ploidi tanaman garut (*Maranta arundinacea* L.). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 21(2), 93–102. <https://doi.org/10.21082/bullitro.v21n2.2010>
- Švécarová, M., Navrátilová, B., Hašler, P., & Ondřej, V. (2019). Artificial induction of tetraploidy in *Humulus lupulus* L. using oryzalin. *Acta Agrobotanica*, 72(2), 1–10. <https://doi.org/10.5586/aa.1764>
- Talebi, S. F., Saharkhiz, M. J., Kermani, M. J., Sharafi, Y., & Raouf Fard, F. (2017). Effect of different antimetabolic agents on polyploid induction of anise hyssop (*Agastache foeniculum* L.). *Caryologia*, 70(2), 184–193. <https://doi.org/10.1080/00087114.2017.1318502>
- Tamayo-Ordóñez, M. C., Espinosa-Barrera, L. A., Tamayo-Ordóñez, Y. J., Ayil-Gutiérrez, B., & Sánchez-Teyer, L. F. (2016). Advances and perspectives in the generation of polyploid plant species. *Euphytica*, 209(1), 1–22. <https://doi.org/10.1007/s10681-016-1646-x>
- Tomé, L. G. O., da Silva, A. B., Pinto, C. A. B. P., Davide, L. C., Pereira, D. S., & De Carvalho, C. R. (2016). Colchicine and oryzalin effects on tetraploid induction and leaf anatomy of *Solanum commersonii* ssp. *Ciencia Rural*,

- 46(11), 1973–1979. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150477>
- Tulay, E., & Unal, M. (2010). Production of colchicine induced tetraploids in *Vicia villosa* Roth. *Caryologia*, 63(3), 292–303. <https://doi.org/10.1080/00087114.2010.10589739>
- Viehmánová, I., Trávníčková, M., Špatenková, E., Černá, M., & Trávníček, P. (2012). Induced polyploidization and its influence on yield, morphological, and qualitative characteristics of microtubers in *Ullucus tuberosus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 109(1), 83–90. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-0076-7>
- Viera, I., Pérez-Gálvez, A., & Roca, M. (2019). Green natural colorants. *Molecules*, 24(1). <https://doi.org/10.3390/molecules24010154>
- Wang, Y., Chen, X., & Xiang, C. Bin. (2007). Stomatal density and bio-water saving. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49(10), 1435–1444. <https://doi.org/10.1111/j.1672-9072.2007.00554.x>
- Widyati-Slamet, Anwar, S., & Widjajanto, D. W. (2014). Pertumbuhan generatif alfalfa (*Medicago sativa* L.) mutan tropis, respon terhadap pemupukan fosfat (hasil mutasi induksi EMS). *Pastura*, 3(2), 61–64.
- Wiendra, N. M. S., Pharmawati, M., & Astiti, N. P. A. (2011). Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman berbeda pada induksi poliploidi tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.). *Jurnal Biologi*, 17(1), 9–14. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/BIO/article/view/600/420>
- Xu, Z., & Zhou, G. (2008). Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany*, 59(12), 3317–3325. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern185>
- Yu, F., Wang, H., Zhao, Y., Liu, R., Dou, Q., Dong, J., & Wang, T. (2017). Karyotypic evolution of the *Medicago* complex: *Sativa-caerulea-falcata* inferred from comparative cytogenetic analysis. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0951-x>
- Zahumenická, P., Fernández, E., Šedivá, J., Žiarovská, J., Ros-Santaella, J. L., Martínez-Fernández, D., Russo, D., & Milella, L. (2018). Morphological, physiological and genomic comparisons between diploids and induced tetraploids in *Anemone sylvestris* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 132(2), 317–327. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1331-3>
- Zhang, Q., Zhang, F., Li, B., Zhang, L., & Shi, H. (2016). Production of tetraploid plants of *Trollius chinensis* Bunge induced by colchicine. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 52(1), 34–38. <https://doi.org/10.17221/89/2015-CJGPB>
- Zhang, Y. S., Chen, J. J., Cao, Y. M., Duan, J. X., & Cai, X. D. (2020). Induction of tetraploids in ‘Red Flash’ caladium using colchicine and oryzalin: Morphological, cytological, photosynthetic and chilling tolerance analysis. *Scientia Horticulturae*, 272(May), 109524. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109524>
- Zhu, H., Zhao, S., Lu, X., He, N., Gao, L., Dou, J., Bie, Z., & Liu, W. (2018). Genome duplication improves the resistance of watermelon root to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 133(1), 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.019>

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan

#### 1. Karakter Stomata

Perlakuan Oryzalin ( $\mu\text{M}$ )	U	Kerapatan Stomata ( $\text{mm}^{-2}$ )	Panjang Stomata ( $\mu\text{m}$ )	Lebar Stomata ( $\mu\text{m}$ )	Jumlah Kloroplas (Per Daun)
0	1	13.055	30.14	23.87	14.00
	2	9.792	28.74	30.63	13.00
	3	8.568	26.91	32.33	13.00
	4	11.628	29.93	23.87	13.00
	5	11.015	28.82	28.55	12.66
Rerata		9.010	28.9	27.85	13.132
25	1	7.752	34.95	34.55	17.00
	2	8.364	31.9	32.96	16.66
	3	8.568	36.95	38.19	16.00
	4	7.344	34.65	39.97	15.33
	5	6.936	32.3	30.38	16.00
Rerata		7.793	34.15	35.21	16.198
50	1	7.994	39.48	39.93	17.00
	2	6.712	40.78	37.20	17.00
	3	5.508	38.07	31.83	18.00
	4	5.304	44.69	41.23	17.33
	5	5.672	41.15	36.06	17.00
Rerata		6.238	40.83	37.25	17.266
75	1	4.488	48.995	39.82	17.76
	2	3.264	43.26	38.03	19.00
	3	4.692	36.88	36.89	17.00
	4	3.672	43.79	38.30	19.33
	5	5.099	38.43	39.88	17.67
Rerata		4.243	42.27	38.58	18.152
100	1	3.059	42.67	55.82	19.333
	2	5.099	50.41	42.75	21.00
	3	4.692	49.44	43.80	21.333
	4	3.672	45.72	41.74	19.00
	5	3.672	40.41	44.36	20.67
Rerata		4.039	45.73	45.69	20.267

## 2. Karakter Fenotip

Perlakuan Oryzalin ( $\mu\text{M}$ )	U	Persentase Daya Hidup Kecambah	Tinggi Tunas (cm)	Jumlah Tunas (pereksplan)	Jumlah Nodus (pereksplan)
0	1	86.66	2.5	3.0	1.0
	2	86.66	1.8	2.0	1.0
	3	100	1.5	3.0	2.0
	4	93.33	1.9	3.0	3.0
	5	86.66	2.8	4.0	2.0
Rerata		90.66	2.1	3	1.8
25	1	80	3.8	4.0	2.0
	2	66.66	2.8	5.0	3.0
	3	86.66	3.8	4.0	2.0
	4	73.33	3.0	3.0	3.0
	5	66.66	2.6	5.0	1.0
Rerata		74.66	3.2	4.3	2.2
50	1	66.66	3.0	5.0	3.0
	2	60	3.2	6.0	4.0
	3	60	3.4	5.0	4.0
	4	53.33	4.0	6.0	2.0
	5	66.66	3.0	6.0	2.0
Rerata		61.33	3.3	5.6	3
75	1	60	4.5	6.0	3.0
	2	60	5.0	6.0	4.0
	3	53.33	3.5	7.0	3.0
	4	46.66	4.1	8.0	2.0
	5	60	3.5	5.0	4.0
Rerata		55.99	4.1	6.4	3.2
100	1	53.33	2.5	7.0	5.0
	2	46.66	3.1	7.0	5.0
	3	53.33	2.9	8.0	4.0
	4	60	1.8	8.0	4.0
	5	53.33	3.8	5.0	5.0
Rerata		53.33	2.8	7	4.6



Perlakuan Oryzalin ( $\mu\text{M}$ )	U	Jumlah Daun (Pereksplan)	Panjang Daun (mm)	Lebar Daun (mm)	Luas Daun (PXL)
0	1	3.0	4.0	4.5	18
	2	3.0	3.5	4.0	14
	3	1.0	3.5	3.0	10.5
	4	5.0	4.5	3.0	13.5
	5	3.0	3.0	3.0	9
Rerata		3	3.7	3.5	13
25	1	3.0	4.5	5.0	22.5
	2	2.0	3.5	5.0	17.5
	3	3.0	4.0	5.5	22
	4	4.0	4.0	5.0	20
	5	3.0	4.0	4.5	18
Rerata		3	4	5	20
50	1	3.0	5.5	6.0	33
	2	3.0	5.0	5.5	27.5
	3	4.0	4.5	6.0	27
	4	6.0	5.0	5.0	25
	5	3.0	4.0	5.5	22
Rerata		3.8	4.8	5.6	26.9
75	1	5.0	6.0	7.0	42
	2	4.0	5.5	5.5	30.25
	3	4.0	6.5	6.0	39
	4	8.0	5.0	6.0	30
	5	5.0	5.5	8.0	44
Rerata		5.2	5.7	6.5	37.05
100	1	6.0	8.0	9.0	72
	2	4.0	7.0	8.0	56
	3	6.0	6.5	7.0	45.5
	4	5.0	7.5	8.5	63.75
	5	6.0	8.0	8.5	68
Rerata		5.4	7.4	8.2	61.05

## Lampiran 2. Data Hasil SPSS

### 1. Daya Hidup Kecambah

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DayaHidupKecambah
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	67.1964
	Std. Deviation	15.26526
Most Extreme Differences	Absolute	.201
	Positive	.201
	Negative	-.139
Kolmogorov-Smirnov Z		1.007
Asymp. Sig. (2-tailed)		.263

a. Test distribution is Normal.

#### Test of Homogeneity of Variances

DayaHidupKecambah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.151	4	20	.362

#### DayaHidupKecambah

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Konsentrasi 100 uM	5	53.3300		
Konsentrasi 75 uM	5	55.9980		
Konsentrasi 50 uM	5	61.3300		
Konsentrasi 25 uM	5		74.6620	
Konsentrasi 0 uM	5			90.6620
Sig.		.072	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### 2. Kerapatan Stomata

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KerapatanStomata
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	6.63300
	Std. Deviation	2.764747
Most Extreme Differences	Absolute	.156
	Positive	.156

	Negative	-0.098
Kolmogorov-Smirnov Z		.780
Asymp. Sig. (2-tailed)		.578
a. Test distribution is Normal.		

**Test of Homogeneity of Variances**

KerapatanStomata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.691	4	20	.191

**ANOVA**

KerapatanStomata

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	158.732	4	39.683	32.107	.000
Within Groups	24.720	20	1.236		
Total	183.452	24			

**KerapatanStomata**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Konsentrasi 100 uM	5	4.03880			
Konsentrasi 75 uM	5	4.24300			
Konsentrasi 50 uM	5		6.23800		
Konsentrasi 25 uM	5			7.79280	
Konsentrasi 0 uM	5				1.08524E1
Sig.		.774	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

3. Panjang Stomata

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		PanjangStomata
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	38.3786
	Std. Deviation	6.85528
Most Extreme Differences	Absolute	.092
	Positive	.092
	Negative	-.059
Kolmogorov-Smirnov Z		.462
Asymp. Sig. (2-tailed)		.983

a. Test distribution is Normal.

**Test of Homogeneity of Variances**

PanjangStomata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.516	4	20	.074

**ANOVA**

PanjangStomata					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	913.981	4	228.495	21.365	.000
Within Groups	213.896	20	10.695		
Total	1127.877	24			

**PanjangStomata**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Konsentrasi 0 uM	5	28.9080			
Konsentrasi 25 uM	5		34.1500		
Konsentrasi 50 uM	5			40.8340	
Konsentrasi 75 uM	5			42.2710	42.2710
Konsentrasi 100 uM	5				45.7300
Sig.		1.000	1.000	.495	.110

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4. Lebar Stomata

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		LebarStomata
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	36.9176
	Std. Deviation	6.88619
Most Extreme Differences	Absolute	.100
	Positive	.100
	Negative	-.098
Kolmogorov-Smirnov Z		.499
Asymp. Sig. (2-tailed)		.964

a. Test distribution is Normal.

**Test of Homogeneity of Variances**

LebarStomata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.368	4	20	.280

**ANOVA**

LebarStomata					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	825.249	4	206.312	13.190	.000
Within Groups	312.821	20	15.641		
Total	1138.070	24			

**LebarStomata**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Konsentrasi 0 uM	5	27.8500		
Konsentrasi 25 uM	5		35.2100	
Konsentrasi 50 uM	5		37.2500	
Konsentrasi 75 uM	5		38.5840	
Konsentrasi 100 uM	5			45.6940
Sig.		1.000	.216	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

5. Jumlah Kloroplas

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		JumlahKloroplas
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	17.0029
	Std. Deviation	2.50686
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.105
	Negative	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.698
Asymp. Sig. (2-tailed)		.715

a. Test distribution is Normal.

**Test of Homogeneity of Variances**

JumlahKloroplas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.904	4	20	.480

**ANOVA**

JumlahKloroplas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	138.366	4	34.591	55.527	.000
Within Groups	12.459	20	.623		
Total	150.825	24			

**Jumlah Kloroplas**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Konsentrasi 0 uM	5	13.1320			
Konsentrasi 25 uM	5		16.1980		
Konsentrasi 50 uM	5			17.2660	
Konsentrasi 75 uM	5			18.1520	
Konsentrasi 100 uM	5				20.2666
Sig.		1.000	1.000	.091	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

6. Tinggi Tunas

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		TinggiTunas
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	3.1120
	Std. Deviation	.86281
Most Extreme Differences	Absolute	.080
	Positive	.080
	Negative	-.079
Kolmogorov-Smirnov Z		.400
Asymp. Sig. (2-tailed)		.997

a. Test distribution is Normal.

**Test of Homogeneity of Variances**

TinggiTunas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.481	4	20	.750

**ANOVA**

TinggiTunas	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.882	4	2.721	7.791	.001
Within Groups	6.984	20	.349		
Total	17.866	24			

**TinggiTunas**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Konsentrasi 0 uM	5	2.1000		
Konsentrasi 100 uM	5	2.8200	2.8200	
Konsentrasi 25 uM	5		3.2000	
Konsentrasi 50 uM	5		3.3200	
Konsentrasi 75 uM	5			4.1200
Sig.		.068	.220	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

7. Jumlah Tunas

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		JumlahTunas
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	5.2400
	Std. Deviation	1.71464
Most Extreme Differences	Absolute	.124
	Positive	.116
	Negative	-.124
Kolmogorov-Smirnov Z		.622
Asymp. Sig. (2-tailed)		.834

a. Test distribution is Normal.

**Test of Homogeneity of Variances**

JumlahTunas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.679	4	20	.615

**ANOVA**

JumlahTunas	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53.360	4	13.340	15.512	.000
Within Groups	17.200	20	.860		
Total	70.560	24			

**JumlahTunas**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Konsentrasi 0 uM	5	3.0000		

Konsentrasi 25 uM	5	4.2000		
Konsentrasi 50 uM	5		5.6000	
Konsentrasi 75 uM	5		6.4000	6.4000
Konsentrasi 100 uM	5			7.0000
Sig.		.054	.188	.319

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### 8. Jumlah Nodus

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		JumlahNodus
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.9600
	Std. Deviation	1.24097
Most Extreme Differences	Absolute	.180
	Positive	.180
	Negative	-.159
Kolmogorov-Smirnov Z		.902
Asymp. Sig. (2-tailed)		.390
a. Test distribution is Normal.		

#### Test of Homogeneity of Variances

JumlahNodus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.412	4	20	.798

#### ANOVA

JumlahNodus					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.360	4	5.840	8.588	.000
Within Groups	13.600	20	.680		
Total	36.960	24			

#### JumlahNodus

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Konsentrasi 0 uM	5	1.8000		
Konsentrasi 25 uM	5	2.2000	2.2000	
Konsentrasi 50 uM	5		3.0000	
Konsentrasi 75 uM	5		3.2000	
Konsentrasi 100 uM	5			4.6000
Sig.		.452	.083	1.000



**JumlahNodus**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Konsentrasi 0 uM	5	1.8000		
Konsentrasi 25 uM	5	2.2000	2.2000	
Konsentrasi 50 uM	5		3.0000	
Konsentrasi 75 uM	5		3.2000	
Konsentrasi 100 uM	5			4.6000
Sig.		.452	.083	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

9. Jumlah Daun

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		JumlahDaun
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	4.0800
	Std. Deviation	1.55242
Most Extreme Differences	Absolute	.197
	Positive	.197
	Negative	-.163
Kolmogorov-Smirnov Z		.983
Asymp. Sig. (2-tailed)		.288

a. Test distribution is Normal.

**Test of Homogeneity of Variances**

JumlahDaun

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.552	4	20	.700

**ANOVA**

JumlahDaun	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.040	4	6.760	4.390	.010
Within Groups	30.800	20	1.540		
Total	57.840	24			

**JumlahDaun**

Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Konsentrasi 0 uM	5	3.0000	
Konsentrasi 25 uM	5	3.0000	

Konsentrasi 50 uM	5	3.8000	3.8000
Konsentrasi 75 uM	5		5.2000
Konsentrasi 100 uM	5		5.4000
Sig.		.347	.067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### 10. Luas Daun

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		LuasDaun
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	31.5200
	Std. Deviation	17.14444
Most Extreme Differences	Absolute	.181
	Positive	.181
	Negative	-.149
Kolmogorov-Smirnov Z		.907
Asymp. Sig. (2-tailed)		.384

a. Test distribution is Normal.

#### Test of Homogeneity of Variances

LuasDaun			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.837	4	20	.161

#### ANOVA

LuasDaun					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7017.515	4	1754.379	952.173	.000
Within Groups	36.850	20	1.842		
Total	7054.365	24			

#### LuasDaun

#### Duncan

Konsentrasi uM	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Konsentrasi 0 uM	5	13.0000				
Konsentrasi 25 uM	5		20.0000			
Konsentrasi 50 uM	5			26.5000		
Konsentrasi 75 uM	5				37.0500	
Konsentrasi 100 uM	5					61.0500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Lampiran 3. Media MS (Murashige dan skoog)**

Bahan Kimia	Konsentrasi dalam Media (mg/L)
Makro Nutrien	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
KNO <sub>3</sub>	1900
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	440
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
Iron	
Na <sub>2</sub> EDTA	37
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27
Mikro Nutrien	
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22,3
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
KI	0,83
NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025
Vitamin	
Glisin	2
Asam Nikotin	0,5
Pyrodoxin HCl	0,5
Thyamine HCl	0,1
Myo-inositol	100
Tambahan	
Sukrosa	30000
Agar	7000

Lampiran 4. Lembar Bukti Konsultasi



KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
 PROGRAM STUDI BIOLOGI  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Yunita Dinul Ula  
 NIM : 16620091  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Genap TA 2019/2020  
 Pembimbing : Shinta, M.Si  
 Judul Skripsi : Karakter Stomata dan Fenotipik Tanaman Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) Hasil Induksi Mutasi Oryzalin Secara *In-Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	24/01/2020	Judul	
2.	7/02/2020	BAB I	
3.	22/02/2020	BAB I	
4.	28/02/2020	BAB I dan BAB II	
5.	2/03/2020	BAB I, BAB II dan BAB III	
6.	10/03/2020	BAB I, BAB II dan BAB III Acc	
7.	30/10/2020	BAB IV,V	
8.	31/10/2020	Acc skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Shinta, M.Si  
 NIP. 19880110201608012064



Malang, 9 November 2020  
 Ketua Program Studi,

Dr. Emma Sandi Savitri, M.P.  
 NIP. 1974101820033122002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Yunita Dinul Ula  
NIM : 16620091  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Genap TA 2019/2020  
Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A  
Judul Skripsi : Karakter Stomata dan Fenotipik Tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Hasil Induksi Mutasi Oryzalin secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	3/02/2020	Integrasi BAB I dan BAB II	IA
2.	13/02/2020	Acc Integrasi BAB I dan BAB II	IA
3.	02/10/2020	Integrasi BAB IV	IA
4.	02/10/2020	Acc Integrasi BAB IV	IA

Pembimbing Skripsi,

Dr. H. Ahmad Barizi, M.A  
NIP. 197312121998031008

Malang, 4 November 2020  
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP.1974101820033122002