

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) merupakan tanaman asli daerah subtropis yang tumbuh liar di pegunungan Mediterania di sebelah barat daya Asia (Sajimin, 2011). Alfalfa termasuk tanaman kelompok leguminose yang berkhasiat menyembuhkan penyakit kanker, diabetes, lupus, dan hepatitis (Hayati, 2010).

Alfalfa dikenal sebagai penghasil klorofil yang digunakan sebagai bahan suplemen makanan yang dapat membantu meningkatkan fungsi metabolik dalam tubuh. Menurut Mardianingsih (2012), klorofil adalah molekul organik pada tumbuhan, memiliki struktur mirip dengan hemoglobin, di mana pada klorofil atom sentral Fe^{2+} pada hemoglobin diganti dengan Mg^{2+} . Alfalfa juga mengandung karotenoid, asam amino, flavonoid, fito-estrogen, dan saponin. Peretty dan Horney (2007) menyatakan bahwa manfaat lain alfalfa adalah sebagai pakan ternak dan penghasil minyak.

Alfalfa tergolong sumber hijauan pakan yang potensial dimanfaatkan untuk ternak ruminansia karena produktifitasnya tinggi serta didukung nutrisi yang baik dengan kandungan protein kasar berkisar 17,7 – 24,1% (Sirait, 2011). Selain mengandung protein, alfalfa juga mengandung vitamin dan mineral yang tinggi (Sajimin, 2011).

Allah berfirman dalam QS. An-Naba' ayat 14-15 :

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

Artinya: “dan Kami turunkan dari awan air yang banyak tercurah. Supaya Kami tumbuhkan dengan air itu biji-bijian dan tumbuh-tumbuhan. Dan kebun-kebun yang lebat?”

Al-Qur'an surat An-Naba' ayat 14-16 menerangkan bahwa Allah telah menurunkan air hujan yang banyak di bumi ini untuk menumbuhkan biji-bijian agar tumbuh-tumbuhan yang bermanfaat bagi kelangsungan hidup makhluk hidup yang berada di muka bumi ini. Ayat di atas juga memberikan pelajaran kepada manusia agar manusia mau berusaha untuk memelihara dan menjaga ciptaan Allah, salah satunya dengan cara berkebun.

Menurut Basyir (2011) dalam Tafsir Muyassar, dan Kami turunkan dari awan yang membawa hujan air yang tercurah dengan banyak, agar dengannya Kami tumbuhkan biji-bijian sebagai bahan pangan manusia, rumput-rumputan sebagai makanan ternak, dan kebun-kebun yang bertaut satu sama lain karena bercabang-cabang dahannya?. Yang dimaksud kebun-kebun yang bertaut satu sama lain karena bercabang-cabang dahannya adalah tanaman *Alfalfa*.

Potensi yang besar dari alfalfa mendorong petani Indonesia untuk membudidayakannya. Namun, budidaya alfalfa di Indonesia masih terhambat dalam penyediaan benih. Rahmati dan Sitanggang (2006) dalam Hayati (2010) menyatakan bahwa biji Alfalfa yang dihasilkan dari tanaman yang ditumbuhkan di Indonesia tidak memiliki embrio sehingga tidak dapat dikecambahkan. Hal ini menyebabkan benih alfalfa masih harus diimpor dari Arab, Cina, dan Amerika.

Kultur jaringan merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam upaya perbanyakan alfalfa. Menurut Gunawan (1988), kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman dan menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, dengan demikian bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Ibrahim (2010) menyatakan bahwa regenerasi tanaman melalui teknik kultur jaringan memiliki keuntungan karena menghasilkan tanaman baru dengan jumlah yang lebih banyak serta bebas dari penyakit.

Kultur jaringan dapat digunakan juga untuk sarana penghasil senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder melalui kultur jaringan dapat diisolasi dari kalus atau sel (Wardani, 2004). Menurut Harahap (2005), ada 4 keuntungan dalam pemanfaatan teknik kultur jaringan untuk produksi senyawa metabolit sekunder, yaitu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang lebih konsisten dan dalam waktu lebih singkat, faktor lingkungan dapat diatur dan dikendalikan, mutu dari senyawa metabolit sekunder yang diproduksi lebih baik, dan dapat manipulasi pemakaian zat pengatur tumbuh. Hal ini juga diperkuat oleh Sitorus (2011) yang menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari kultur kalus, memiliki kadar lebih tinggi daripada metabolit yang diambil langsung dari tanamannya. Hal ini dikarenakan, dengan perlakuan cekaman yang diberikan dalam media kultur, dapat meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder sebagai respon dari tanaman untuk mempertahankan diri.

Selain kultur organ dalam kultur jaringan juga dikenal dengan kultur kalus atau *callus culture* yang merupakan kultur sekumpulan sel yang tidak terorganisir, hanya sel-sel parenkim yang berasal dari berbagai bahan awal (Dwi, 2012). Penelitian ini menggunakan kultur kalus dengan eksplan kotiledon Alfalfa. Kalus yang dihasilkan dari proses kultur kalus dapat digunakan untuk memproduksi senyawa kimia khusus maupun untuk perbanyakan.

Pembentukan dan pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah komposisi media tumbuh. Rahayu (2003) menyatakan bahwa media yang biasa digunakan dalam kultur jaringan adalah media Murashige dan Skoog (MS). Media MS mempunyai konsentrasi garam organik yang lebih tinggi dibanding media lain. Hal ini diperkuat oleh George dan Sherington (1993) dalam (Karjadi dan Bukhory, 2008), yang menyatakan bahwa media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO_3 dan 29 mM dalam bentuk NH_4^+ . Konsentrasi ini lebih besar dibandingkan dengan media-media lainnya.

Asam 2,4-D diklorofenoksiasetat (2,4-D) merupakan zat pengatur tumbuh auksin yang sering ditambahkan dalam media kultur. Hendaryono dan Wijayanti (1994) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh ini bersifat stabil karena tidak mudah mengalami kerusakan oleh cahaya maupun pemanasan pada waktu sterilisasi. Menurut Rahayu (2003), penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan pembesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Setyaningrum (2010) menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh 2,4-D mutlak diperlukan untuk menginduksi kalus.

Selain zat pengatur tumbuh sintesis (2,4-D) yang ditambahkan dalam media MS, terdapat bahan organik yang biasanya ditambahkan dalam media kultur jaringan, yaitu air kelapa. Air kelapa merupakan endosperm atau cadangan makanan cair yang mengandung zat pengatur tumbuh (Surachman, 2011). Air kelapa mengandung ZPT alami (hormon) yang termasuk dalam golongan sitokinin, yakni 1,3 diphenilurea, zeatin, zeatin glukosida, dan zeatin ribosida. Selain itu, air kelapa juga mengandung sukrosa, fruktosa, dan glukosa serta mengandung kadar K dan Cl yang tinggi (Kristina dan Syahid, 2012). Menurut Avia (2003), air kelapa selain mengandung sitokinin juga mengandung IAA (*Indole Acetid Acid*) yang merupakan kelompok auksin. Hidayat (2007) menyatakan bahwa auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang dibutuhkan dalam media budidaya jaringan dalam konsentrasi yang sesuai dengan pertumbuhan yang diinginkan yang dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangan kalus. Haryadi dan Pamenang (1983) dalam Surachman (2011) menyatakan bahwa air kelapa yang baik digunakan dalam kultur jaringan adalah air kelapa muda yang daging buahnya berwarna putih, belum keras tetapi masih dapat diambil dengan sendok.

Beberapa penelitian mengenai air kelapa untuk menginduksi kalus telah dilakukan. Penelitian Ariati (2012) menunjukkan bahwa ada perbedaan hasil dalam pembentukan kalus dari setiap medium perlakuan juga dipengaruhi adanya air kelapa dalam medium. Medium yang ditambah dengan air kelapa (Medium MS + 2 ppm 2,4-D + 15% Air kelapa, medium MS + 2 ppm 2,4-D + 0,2 ppm BAP + 15% air kelapa) akan menghasilkan kalus kakao yang sangat cepat yakni 6

hari sedangkan medium tanpa air kelapa (medium MS + 2 ppm 2,4-D dan Medium MS + 2 ppm 2,4-D + 0,2 ppm BAP) akan menghasilkan kalus sangat lama yakni 23 hari. Penelitian Naing (2011) menunjukkan bahwa presentase pertumbuhan kalus *Coelogyne cristata* terbaik dihasilkan pada media MS yang diberi 2 mg/l BA yang ditambah 5% air kelapa, yaitu sebesar 40%.

Penelitian Guntoro (2013) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil dalam pembentukan kalus dari setiap medium perlakuan dipengaruhi zat pengatur tumbuh sintetik dalam medium. Media yang ditambah dengan air kelapa (media MS + 1 mg/l 2,4-D + 15% air kelapa) menghasilkan berat kalus sebesar 0,08533 gram sedangkan media perlakuan hanya air kelapa konsentrasi (10%, 15%, dan 20%) tidak mampu menghasilkan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness).

Beberapa penelitian untuk induksi kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) telah dilakukan yakni penelitian Rahayu (2010), kombinasi 2,4-D 1 mg/L dengan 2 mg/L kinetin mampu menunjukkan waktu inisiasi kalus Alfalfa tercepat, yaitu 5,4 hari dan berat kalus tertinggi, yaitu 1,398 gram. Dan perlakuan 2,4-D 1 mg/L dengan 2,5 mg/L kinetin mampu menunjukkan kandungan klorofil tertinggi (4,148 mg/L) dan karotenoid tertinggi (108,329 $\mu\text{mol/L}$). Hayati (2010) dalam penelitiannya menyatakan bahwasanya kombinasi BAP 0 ppm dan NAA 2 ppm mampu menunjukkan waktu inisiasi kalus tercepat, yaitu 4,4 hari dan berat kalus sebesar 0,1368 gram. Dari kombinasi perlakuan tersebut juga dihasilkan kalus berwarna kuning dan bertekstur kompak serta pertumbuhan kalus sebesar 100%.

Kombinasi antara asam 2,4 D diklorofenoksiasetat (2,4-D) dengan air kelapa digunakan agar diperoleh kalus yang baik yakni kalus yang bertekstur kompak dengan warna hijau bening hingga hijau kekuningan, di mana asam 2,4-D diklorofenoksiasetat (2,4-D) merupakan auksin sintesis dan air kelapa mengandung hormon sitokinin. Menurut Kristina dan Syahid (2007), penggunaan kombinasi antara auksin dengan sitokinin akan meningkatkan proses induksi kalus.

Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan penelitian mengenai pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap pertumbuhan dan kadungan klorofil total kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada media MS. Pada penelitian ini, penggunaan kombinasi 2,4-D dan air kelapa dengan beragam konsentrasi untuk mendapatkan kombinasi zat pengatur tumbuh yang sesuai untuk meningkatkan pertumbuhan dan kandungan klorofil total kalus Alfalfa

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasi dengan air kelapa terhadap pertumbuhan kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada media MS?

2. Bagaimana pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasi dengan air kelapa terhadap kandungan klorofil total kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada media MS?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasi dengan air kelapa terhadap pertumbuhan kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada media MS.
2. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasi dengan air kelapa terhadap kandungan klorofil total kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada media MS.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap pertumbuhan kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada media MS.
2. Terdapat pengaruh perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa terhadap kandungan klorofil total kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada media MS.

1.5 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dalam penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Dapat digunakan sebagai dasar informasi mengenai pertumbuhan dan kandungan klorofil total kalus Alfalfa pada media MS yang diberi perlakuan beberapa konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa.
2. Kalus yang dihasilkan dapat digunakan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder.
3. Kalus yang dihasilkan dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Benih Alfalfa (*Medicago sativa* L.) diperoleh dari pemesanan melalui www.sambadafarm.com
2. Eksplan yang digunakan adalah kotiledon aseptik hasil dari perkecambahan biji Alfalfa (umur 7 hari).
3. Media Murashige dan Skoog (MS) sebagai media tanam.
4. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 2,4-D dengan konsentrasi 1, 2, dan 3 mg/L
5. Air kelapa yang digunakan adalah air kelapa muda (umur buah kurang dari 6 bulan, berwarna hijau), dengan ciri daging buah yang berwarna putih, lunak, dan mudah diambil dengan sendok dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%.
6. Pengamatan dilakukan selama 30 hari.

7. Analisis kandungan klorofil kalus Alfalfa (*Medicago sativa* L.) menggunakan Spektrofotometer.
8. Parameter yang diamati adalah waktu inisiasi kalus, berat basah kalus, persentase pertumbuhan kalus, warna kalus, dan tekstur kalus, serta kandungan klorofil total kalus.

