

# Induksi Tunas Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) pada Beberapa Jenis Sitokinin

Sepdian Luri Asmono<sup>1#1</sup>, Vega Kartika Sari<sup>2#2</sup>, Rudi Wardana<sup>3#3</sup>

<sup>#</sup>Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember  
Jl. Mastrip Jember Kotak Pos 164 Kode Pos 68101

<sup>1</sup>email. sepdlanluri@gmail.com

<sup>3</sup>email. rudiwardana19@gmail.com

<sup>2</sup>email. vega\_wes@yahoo.com

## Abstract

This study aims to determine the effect of the use of several types of cytokinin to the stevia micro shoot growth response. The design of this study used a completely non factorial randomized design, including 3 types of cytokines (Kinetin, BAP, TDZ) with 6 replications. Parameters measured include the percentage of eksplan form buds, when shoots appear, the number of shoots and shoot length. The observed data were analyzed by analysis of varians (ANOVA). To know the difference between treatment conducted DMRT test at 5% level. The results of the study (30 HST) showed that all explants from the segment were able to form buds. Of the several types of cytokines being tested, the three types of cytokinins gave a distinctly uniform effect on the appearance of the shoot, the average occurrence of buds from all treatments at 2 HST. In the parameter of shoot number and length, BAP able to spur the growth of the number and length of shoots is an average of 6 shoots per eksplan with length 4 cm per eksplan. The results are better than zpt Kinetin and TDZ.

**Keywords**— Cytokines, In Vitro, Stevia, Sweeteners Crops

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Salah satu tanaman penghasil gula selain tebu adalah stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Tanaman ini termasuk tanaman perdu dari family Asteraceae, dan banyak digunakan sebagai pemanis alami yang tidak berkalori [1]. Montoro *et al.* [2] menyatakan bahwa stevia mengandung steviosida dan rebaudiosida yang memiliki tingkat kemanisan 300 kali lebih manis dari tebu. Manis yang dihasilkan dari ekstrak daun stevia memiliki kalori yang rendah serta juga dapat dijadikan sebagai tanaman obat-obatan karena mengandung anti oksidan tinggi dan zat non-karsinogenik [3;4]. Pemanis daun stevia dapat digunakan pada makanan maupun minuman misalnya selai, jeli, saos, teh, dan juga kopi [5].

Budidaya stevia dapat dilakukan dengan menggunakan benih, tetapi Goettemoeller and Ching [6] menyatakan bahwa persentase perkecambahan benih stevia sangat kecil. Oleh sebab itu salah satu teknik perbanyak bibit yang tepat adalah melalui kultur jaringan tanaman atau kultur *in vitro*.

Menurut Yusnita [7] menyatakan bahwa teknik kultur jaringan merupakan cara yang efektif untuk

mengembangkan bibit berkualitas dan tingkat keseragaman yang tinggi pada berbagai jenis tanaman.

Proses multiplikasi tunas secara *in vitro* memerlukan zat pengatur tumbuh dari golongan sitokinin seperti 6-benzylaminopourine (BAP), Thidiazuron (TDZ) dan Kinetin [7]. Oleh sebab itu, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon pertumbuhan tunas mikro stevia secara *in vitro* pada beberapa jenis sitokinin.

### B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah: bagaimana pengaruh penggunaan beberapa jenis sitokinin terhadap respon pertumbuhan tunas mikro stevia?

### C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan beberapa jenis sitokinin terhadap respon pertumbuhan tunas mikro stevia.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Stevia

Tanaman Stevia tumbuh baik di daerah tropis termasuk Indonesia. Menurut Rukmana [8] tanaman ini mampu berproduksi baik jika ditumbuhkan pada tempat terbuka yang mendapatkan sinar matahari penuh dengan ketinggian

antara 500-1000 mdpl. Suhu optimal pertumbuhan antara 14-27°C. Curah hujan yang optimal antara 1.600-1.850 mm/tahun dengan 2-3 bulan kering.

Stevia tergolong tanaman perdu tahunan yang berbatang basah dengan tinggi batang mencapai 65-80 cm pada pertumbuhan optimal [9; 10]. Batang berbentuk bulat sampai oval dan memiliki banyak percabangan. Daun stevia berbentuk lonjong dan bergerigi halus dengan kedudukan berhadapan. Bunga stevia termasuk bunga sempurna dengan mahkota berbentuk tabung. Tanaman ini juga memiliki perakaran serabut.

### B. Perbanyak Stevia secara In Vitro

Metode yang efektif dalam produksi bibit stevia secara masal adalah menggunakan teknik kultur in vitro [11]. Melalui metode produksi bibit in vitro dapat dihasilkan bibit yang seragam dalam jumlah banyak dan membutuhkan waktu relatif singkat. Secara umum, stevia dapat diperbanyak secara generatif menggunakan benih, tetapi menurut Goettemoeller and Ching [6]; Mishra *et al.* [12], persentase perkecambahannya sangat rendah. Jika budidaya dilaksanakan dalam skala besar, tentunya sangat membutuhkan bibit dalam jumlah banyak.

Beberapa peneliti telah melaporkan keberhasilan teknik kultur in vitro untuk memproduksi bibit stevia. Ahmed *et al.* [13] telah berhasil melakukan induksi dan memultiplikasi tunas mikro stevia menggunakan eksplan ruas dalam media MS+ 1,5 ppm BA + 0,5 ppm Kinetin.

### C. Sitokinin

Sitokinin diketahui banyak berperan dalam perkembangan tanaman seperti pembelahan sel dan ekspansi sel dalam menstimulasi sintesis protein tanaman serta aktivitas beberapa enzim [14]. Sitokinin diketahui juga berperan dalam induksi pembentukan tunas, Buah *et al.* [15] menerangkan bahwa terdapat perbedaan antar jenis sitokinin dalam menginduksi tunas. Perbedaan kemampuan antar jenis hormon sitokinin dalam menginduksi tunas dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh faktor seperti stabilitas, mobilitas, dan laju konjugasi dan oksidasi hormon. Sitokinin sintesis terdiri atas beberapa macam antara lain BAP, Kinetin, dan TDZ.

- BAP (6-Benzylaminopurine)

Menurut Klem *et al.* [16], BAP tidak mudah rusak dan lebih stabil dibandingkan jenis sitokinin lainnya. Rahman *et al.* [17] menambahkan, BAP merupakan jenis sitokinin yang superior dalam menginduksi tunas. Penelitian Keighobadi *et al.* [18], menggunakan BAP pada konsentrasi 1,5, 2, 2,5, 3 dan 5 mg/l yang dikombinasikan dengan beberapa jenis auksin, dan hasil penelitiannya menunjukkan bahwa media dengan IBA+BAP (3.5+2.5mg/l) dan NAA+IAA+BAP (1.5+2.5+1.5mg/l) memberikan pertumbuhan kalus yang terbaik. Pada hasil penelitian Ahmadiyan *et al.* [19],

kombinasi IBA 1 mg/l + BAP 2 mg/l menghasilkan panjang akar yang maksimum.

- Kinetin

Menurut Buah *et al.* [15], kinetin mampu menginduksi banyak tunas dengan meningkatnya konsentrasi. Berdasarkan hasil penelitiannya pada kultur pisang, pada konsentrasi kinetin tertinggi (7.5mg/l) mampu menghasilkan jumlah tunas terbanyak. Sejalan dengan hasil penelitian Das *et al.* [20] yang menunjukkan bahwa perbanyak *S.rebaudiana* melalui kultur shoot tip pada perlakuan media yang ditambahkan 2 mg/l kinetin memberikan perbanyak tunas yang terbaik, diperoleh lebih dari 11 tunas yang berasal dari 1 shoot tip eksplan selama 35 hari. Penggunaan kombinasi sitokinin khususnya kinetin dan auksin telah dilakukan Hwang [21], hasilnya menunjukkan bahwa induksi tunas adventif dari eksplan ruas yang terbaik berasal dari media MS yang ditambahkan dengan 2 mg/l IAA dan 0.5 mg/l kinetin.

- TDZ (Thidiazuron)

Menurut Guo *et al.* [22], diantara jenis sitokinin lainnya, jumlah TDZ yang rendah dapat memacu multiplikasi tunas pada beberapa jenis tanaman. Peran TDZ dalam induksi tunas dan multiplikasi tunas pada berbagai jenis tanaman telah banyak dilaporkan, misalnya pada kultur daun *Echinacea purpurea* pada medium TDZ 2.5 µM menunjukkan laju regenerasi tunas tertinggi [23]. Hasil penelitian Singh and Dwivedi [24] pada kultur *Stevia rebaudiana* menunjukkan bahwa semua jenis sitokinin yang digunakan pada media induksi dapat memacu pembentukan tunas, namun hasil terbaik adalah pada perlakuan TDZ (0.5 mg/l), selanjutnya pada media multiplikasi yang mengandung 0.01 mg/l TDZ mampu menghasilkan jumlah tunas terbanyak dan terpanjang, serta jumlah daun terbanyak.

## III. TUJUAN DAN MANFAAT

### A. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan beberapa jenis sitokinin terhadap respon pertumbuhan tunas mikro stevia.

### B. Manfaat

Berikut ini adalah beberapa manfaat yang diharapkan oleh dalam penelitian ini yaitu:

- Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan masukan, pertimbangan, dan rekomendasi media untuk meningkatkan pertumbuhan tunas stevia secara invitro.
- Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan informasi atau referensi bagi peneliti ataupun pihak akademisi yang terkait untuk mengembangkan keilmuannya, serta untuk melaksanakan program tridharma perguruan tinggi.

#### IV. METODE PENELITIAN

##### A. Tempat dan Waktu.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan tanaman Politeknik Negeri Jember dari Bulan September-November 2017.

##### B. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan antara lain dissecting set, cawan petri, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), autoklaf, pH meter, petridish, erlenmeyer, gelas ukur, lampu bunsen, timbangan digital, timbangan analitik, hot plate & magnetic stirrer, pipet mikro, gelas ukur, mikroskop dan kamera.

Bahan yang dibutuhkan adalah tanaman stevia, media MS, ZPT BAP, kinetin, TDZ, alkohol 70% dan 96%, kertas tisu steril, tissue gulung, akuadest steril, air bersih, spiritus, plastik wrapping, kertas label.

##### C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap Non Faktorial, terdiri dari 3 jenis sitokinin (Kinetin, BAP, TDZ) dengan 6 kali ulangan. Perlakuan S1: MS+2mg/L Kinetin; S2: MS+2mg/L BAP; S3: MS+2mg/L TDZ.

Parameter pengamatan meliputi persentase eksplan membentuk tunas, saat muncul tunas, jumlah tunas, dan panjang tunas.

##### D. Prosedur Pelaksanaan Penelitian

1) *Pembuatan media perlakuan*: Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan (mikro pipet, neraca digital analitik, spatula, gelas ukur, beacker glass, erlenmeyer, autoklaf, pH meter, larutan stok makro, mikro dan ZPT sitokinin (BAP, TDZ, Kinetin), sukrosa, agar-agar, aluminium foil. Mencampurkan bahan media kemudian mengukur pH hingga mencapai 5,8, masak media hingga mendidih dan tuang media sebanyak 20 ml per botol, Media disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit kemudian disimpan dalam ruang simpan.

2) *Persiapan dan Penanaman Bahan Tanam*: Bahan tanam yang digunakan adalah ruas planlet stevia, di dalam LAFC, planlet dipotong dengan ukuran 1 cm dan terdapat 1 mata tunas., eksplan ditanamkan pada masing-masing media perlakuan kemudian diinkubasi dalam ruang pertumbuhan pada suhu 22°C dengan pencahayaan 18 jam terang dan 6 jam gelap.

##### E. Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan meliputi persentase eksplan membentuk tunas, saat muncul tunas, jumlah tunas, dan panjang tunas.

##### F. Analisis Data

Data dianalisis menggunakan aplikasi SPSS versi 20 untuk menganalisis sidik ragam (ANOVA). Apabila hasil analisis antar perlakuan terjadi perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji lanjutan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf error 5%.

#### V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Berdasarkan hasil penelitian tentang Induksi Tunas Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) pada Beberapa Jenis Sitokinin, maka diperoleh data sebagai berikut:

TABEL I.

HASIL UJI DUNCAN MUNCULNYA TUNAS, JUMLAH TUNAS DAN PANJANG TUNAS DENGAN DENGAN TARAF 5%

Perlakuan	Parameter			
	Persentase Eksplan Membentuk Tunas	Saat Muncul Tunas	Jumlah Tunas	Panjang Tunas
S1	100%	2,5±0,54	2,6±0,82 a	2,6±0,57 a
S2	100%	2,5±0,83	6,0±1,26 b	4,1±1,07 b
S3	100%	3,5±1,04	3,1±0,98 a	2,7±0,6 a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 0,05.

##### A. Persentase Eksplan Membentuk Tunas

Berdasarkan hasil pengamatan tentang presentase eksplan yang membentuk tunas maka diperoleh data sebanyak 100% eksplan dapat membentuk tunas dari semua perlakuan. Ini membuktikan bahwa tidak ada perbedaan dalam hal kemampuan zpt sitokinin untuk menginduksi terbentuknya tunas baik Kinetin, BAP, dan TDZ. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed *et al.* [13] yang telah berhasil melakukan induksi dan memultiplikasi tunas mikro stevia menggunakan eksplan ruas dalam media MS+ 1,5 ppm BA + 0,5 ppm Kinetin. Selain itu, hasil penelitian Singh and Dwivedi [24] pada kultur *Stevia rebaudiana* menunjukkan bahwa semua jenis sitokinin yang digunakan pada media induksi dapat memacu pembentukan tunas.

##### B. Saat Muncul Tunas

Waktu inisiasi atau kemunculan tunas sudah dapat diamati pada 2 HSK. Tunas tersebut merupakan tunas aksilar yang berada pada ketiak daun eksplan. Berdasarkan hasil pengamatan saat munculnya tunas diperoleh data bahwa ketiga jenis sitokinin memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata pada kemunculan tunas, rata-rata kemunculan tunas dari semua perlakuan yaitu pada 2 HST. Hal ini menunjukkan bahwa zpt Kinetin, BAP, dan TDZ memberikan respon yang sama untuk menginduksi tunas tanaman stevia.

##### C. Jumlah Tunas

Jumlah tunas terbanyak berdasarkan Tabel 1 di atas yaitu terdapat pada perlakuan S2 (MS+2mg/L BAP) dengan jumlah tunas rata-rata yaitu 6 tunas. Menurut Hassanen [25]

menyatakan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi BAP, maka akan meningkatkan jumlah tunas pada stevia. Hal ini menunjukkan bahwa zpt BAP memiliki kemampuan menginduksi tunas terbaik jika dibandingkan dengan zpt Kinetin dan TDZ Menurut Klem *et al.* [16], BAP tidak mudah rusak dan lebih stabil dibandingkan jenis sitokinin lainnya. Rahman *et al.* [17] menambahkan, BAP merupakan jenis sitokinin yang superior dalam menginduksi tunas.

#### D. Panjang Tunas

Pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada kultur jaringan dipengaruhi oleh aplikasi sitokinin pada media kultur jaringan [26]. Berdasarkan hasil analisis data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa panjang tunas terpanjang terdapat pada perlakuan S2 (MS+2mg/L BAP) dengan panjang tunas rata-rata yaitu 4,1 cm.

### VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas maka dapat disimpulkan bahwa:

- Persentase terbentuknya tunas Stevia sebesar 100%, ditandai dengan tumbuhnya tunas pada semua perlakuan.
- Rata-rata kemunculan tunas 2 hsk, sedangkan jumlah tunas 6 tunas, dan panjang rata-rata 4,1 cm yang terdapat pada perlakuan S2 (MS+2mg/L BAP)

Adapun saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan uji lanjutan mengenai interaksi antara BAP dengan zpt lain, sehingga dapat menghasilkan pertumbuhan yang optimal pada kultur jaringan stevia secara *in vitro*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kapala Pusat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (P3M) Politeknik Negeri Jember yang telah memberikan dana PNPB dengan Nomor : 705/PL17.4/PL/2017 Tanggal 14 Agustus 2017.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Geuns, J.M.C. *Stevioside*. *Phytochemistry*, 64(5), pp.913–921. 2003.
- Montoro, P., Molfetta, I., Maldini, M., Ceccarini, L., Piacente, S., Pizza, C. and Macchia, M. *Determination of Six Steviol Glycosides of Stevia rebaudiana (Bertoni) from Different Geographical Origin by LC-ESI-MS/MS*. *Food chemistry*. 141(2):745-753. 2013.
- Madan, S. et al. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-a review. *NISCAIR-CSIR*. India. 267-268. 2010.
- Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S. and Rai, G.K.. *Nutritional and Therapeutic Values of Stevia Rebaudiana: A review*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(46):3343–3353. 2013.
- Mishra, N. *An Analysis of Antidiabetic Activity of Stevia Rebaudiana Extract on Diabetic Patient*. *Journal of Natural Science Researc.*, 1(3): 1-10. 2011.
- Goettemoeller, J. and Ching, A., *Seed Germination in Stevia Rebaudiana. Perspectives on New Crops And New Uses*. ASHS Press, Alexandria, VA. Retrieved. 510–511. 1999.
- Yusnita. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka. 2003.
- Rukmana, H.R., *Budidaya Stevia*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. 2003.
- Bakal, A.I. and O'Brien Nabors, L. *Stevioside*. In *Alternative Sweeteners*, O'Brien Nabors and R.C.Gelardi (Eds), Marcel Dekker, Inc., New York. 295–307. 1986.
- Brandle, J.E., Starratt, A.N. and Gijzen, M. *Stevia rebaudiana: its agricultural, biological, and chemical properties*. *Canadian journal of plant science*, 78(4), pp.527–536. 1998.
- Djadjadi, D. *Pengembangan Tanaman Pemanis Stevia Rebaudiana (Bertoni) di Indonesia. Perspektif*, 13(1), pp.25–33. 2015.
- Mishra, P., Singh, R., Kumar, U. and Prakash, V. *Stevia rebaudiana-- A magical Sweetener. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, 5(1), pp.62–74. 2010.
- Ahmed, M.B. et al., *An efficient method for in vitro clonal propagation of a newly introduced sweetener plant (Stevia rebaudiana Bertoni.) in Bangladesh*. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 2(2), pp.121–125. 2007.
- Arab, M.M., Yadollahi, A., Shojaeiyan, A., Shokri, S., Ghoghah, S.M. *Effects of nutrient media, different cytokinin types and their concentration on in vitro multiplication of G x N15 (hybrid of almond x peach) vegetative rootstock*. *J. Genetic Eng. and Biotech*. 12(2):81-87. 2014.
- Buah, J.N., Danso, E., Taah, K.J., Abole, E.A., Bediako E.A., Asiedu, J., Baidoo, R. *The effects of different concentrations cytokinins on the in vitro multiplication of plantain (Musa spp.)*. *Biotechnology*. 9: 343-347. 2010.
- Klem, M., J. Balla, I. Machackova, J. Eder and S. Prochazka. *The uptake and Metabolism of Benzylaminopurine in tobacco (Nicotiana tabacum L.) and Cucumber (Cucumis sativus L.) explants*. *Plant Growth Regul.* 31: 135-142. 2004.
- Rahman, M.Z., K.M. Nasiruddin, M.A. Amin and M.N. Islam. *In vitro Response And Shoot Multiplication of Banana With BAP and NAA*. *Asian J. Plant Sci.* 3: 406-409. 2004.
- Keighobadi, K., Golabadi, M., and Mortazaezad, F. *Effect of Different Culture Media and Plant Growth Regulator on Callus Induction of Stevia Rebaudiana*. *Intl.J.Farm& Alli. Sci.* 3(7):782-785. 2014.
- Ahmadiyan, S.H., Alavi, S.V., and Asadi, M. *The effect of various concentration of growth regulators (auksin and cytokinins) on rooting of stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) in in vitro conditions*. *BEPLS*. 3(6): 15-19. 2014.
- Das, A., Gantait, S., Mandal, N. *Micropropagation of an elite medicinal plant: Stevia rebaudiana Bert*. *Int. J. Agric. res.* 6:40-48. 2011.
- Hwang, S.J. *Rapid in vitro propagation and enhanced stevioside accumulation in Stevia rebaudiana Bert*. *J. Plant Biol.* 49(4):267-270. 2006.
- Guo, B., Abbasi, B.H., Zeb, A., Xu, L.L., Wei, Y.H. *Thidiazuron: a Multi-Dimensional Plant Growth Regulator*. *Afr.J. Biotechnol.* 10 (45):8984–9000. 2011.
- Jones, M.P., Yi, Z., Murch, S.J, Saxena, P.K. *Thidiazuron-Induced Regeneration of Echinacea purpurea L.: Micropogation in Solid and Liquid Culture Systems*. *Plant Cell Rep.* 26:13–19. 2007.
- Singh, P. and Dwivedi, P. *Two-Stage Culture Procedure Using Thidiazuron for Efficient Micropropagation of Stevia rebaudiana, an Anti-Diabetic Medicinal Herb*. *Biotech.* 4(4): 431-437. 2014.
- Hassanen, S. A. And Khalil, R. M. A. *Biotechnological Studies for Improving of Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) in Planlets*. *Middel-East Journal of Dcientific Research* 14 (1):93-1006. 2013.
- Zulkarnain. *Kultur Jaringan Tanaman*. Bumi Aksara, Jakarta. 2011.