

Inisiasi Akar Secara In Vitro pada Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan Modifikasi Media Murashige and Skoog (MS) dan Beberapa Tipe Auksin.

In Vitro Root Initiation in Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) With Modified Murashige and Skoog (MS) Media and Several Types of Auxins

Rahmawati^{1*}, Sepdian Luri Asmono², Nurul Sjamsijah³.

¹²³Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember PO.BOX 164 Jember, 68101 Indonesia

*rahmawati08@polije.ac.id

Abstract

This study aims to determine the formation and growth of stevia roots (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) using Murashige and Skoog (MS) media on several concentration : Full MS, 1/2 MS and 1/4 MS and combined with several types of auxins: IAA (Indole Acetic Acid), NAA (Naphthalene Acetic Acid) and IBA (Indole-3-Butyric Acid) in vitro. The research was carried out from June to November 2020 at the Tissue Culture Laboratory of the Department of Agricultural Production, Jember State Polytechnic. The study used a completely randomized factorial design with 2 factors. The first factor was 3 concentrations of MS media: ¼ MS; ½ MS; and MS Full. The second factor is the type of auxin: Control (Without Auxin), IAA, NAA and IBA. The three auxins use a concentration of 0.2 ppm. So that a total of 12 treatment combinations were repeated 5 times. So that we get 60 experimental units. The results showed that the MS concentration had a significant effect on root emergence, while for several types of auxins there was no significant difference in root emergence. The observation data also showed that the interaction between the concentration of MS media and the auxin hormone was not significantly different in stimulating the emergence of roots. At the end of the observation (30 DAP) the highest number of roots with an average of 4.23 was found in the NAA treatment with media modification of 1/2 MS.

Keywords- Stevia, MS Medium, Auxin, In Vitro

I. PENDAHULUAN

Tanaman Stevia adalah tanaman *herbaceous* dari family *Asteraceae* yang saat ini menjadi tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan dalam skala besar di Indonesia [1]. Stevia merupakan tanaman pemanis dari daun *Stevia rebaudiana* Bertoni yang merupakan tanaman herba yang berasal dari Paraguay. Daun stevia adalah pemanis alami yang berpotensi menjadi alternatif tanaman pemanis alami selain gula. Tingkat rasa manis Stevia mencapai 70-400 kali lebih manis dari gula tebu [2]. Rasa manis yang dihasilkan dari tanaman stevia berasal dari kandungan steviosida dan

rebaudiosida [3]. Pemanis dari bahan stevia mengandung antioksidan tinggi, dan rendah kalori, sehingga cocok dikonsumsi untuk penderita diabetes [4]. Proses pengembangan tanaman Stevia untuk mendapatkan bibit yang berkualitas, seragam, dapat dimultiplikasikan dalam jumlah banyak dalam waktu relatif singkat dapat menggunakan teknik kultur in vitro [5]. Secara teknisnya, planlet stevia harus memiliki keragaan yang kokoh dan memiliki perakaran yang baik sebelum siap untuk diaklimatisasi. Beberapa kendala dalam aklimatisasi bibit adalah pertumbuhan yang lambat karena

kurang baiknya sistim perakaran. Dari beberapa penelitian terdahulu, penggunaan moodifikasi media MS memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan akar stevia [6]. Selain itu jenis auksin juga mempengaruhi pertumbuhan akar planlet stevia [7]. Pada penelitian sebelumnya peneliti juga telah melakukan penelitian untuk memacu multiplikasi tunas stevia [8],[9], akan tetapi tunas-tunas mikro belum dapat langsung diaklimatisasi. Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui jenis auksin yang tepat serta modifikasi media MS yang optimal untuk meningkatkan keragaan planlet dan khususnya memacu perakaran agar siap diaklimatisasi.

II. METODOLOGI PENEITIAN

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni s.d November 2020 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember.

A. Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan meliputi: peralatan gelas (botol kultur, gelas ukur, *petri dish*, *erlenmeyer*, *beaker glass*); L AFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), alat diseksi, *hot plate & magnetic stirrer*, pipet mikro, autoklaf, neraca analitik digital, lampu bunsen, gunting, mikroskop, kamera dan alat tulis. Bahan yang dibutuhkan adalah bibit stevia, media dasar MS, IAA, NAA, IBA sukrosa, alkohol 70% dan 96%, kertas steril, media aklimatisasi (*cocopeat*, kompos, pupuk kandang) akuadest steril, air bersih, sabun cair, spiritus, plastik *wrapping*, kertas label.

B. Rancangan Penelitian

Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama meliputi 3 level kepekatan media MS : ¼ MS; ½ MS; dan MS Full. Faktor kedua yaitu jenis auksin :Tanpa Auksin, IAA, NAA, IBA .Ketiga auksin tersebut menggunakan konsentrasi 0,2 ppm. Dengan demikian, penelitian ini terdiri dari 12 perlakuan dan akan diulang sebanyak 5 kali. Parameter yang di ukur berupa waktu muncul akar, jumlah akar dan panjang akar. Data diolah dengan menggunakan program SPSS 22.0.0.0. Apabila terdapat faktor perlakuan yang berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan 5%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Waktu Muncul Akar

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi media MS berpengaruh sangat nyata terhadap kemunculan akar pertama kali, sedangkan beberapa jenis auksin tidak terlihat perbedaan yang nyata. Data hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi Media MS dan hormon auksin tidak berbeda nyata dalam memacu kemunculan akar. Hasil analisa uji lanjut Duncan

pengaruh konsentrasi Media MS terhadap kemunculan akar tertera pada tabel berikut.

TABEL 1. DATA RATA-RATA SAAT KEMUNCULAN AKAR PADA BEBERAPA KONSENTRASI MEDIA MS

Konsentrasi MS	Saat Muncul Akar (HST)
MS Full	14.95 a
1/2 MS	15.25 a
1/4 MS	20.40 b

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

Pada Tabel 1. Rata - rata kemunculan akar tercepat adalah 14,95 HST lebih distimulasi oleh perlakuan full media MS tetapi hasil ini tidak berbeda nyata dengan konsetrasi media 1/2 MS dengan rata - rata kemunculan akar 15,25 HST. Hal ini menunjukkan bahwa komponen media yang biasanya terdiri dari unsur hara makro dan mikro, asam amiino, vitamin, gula sebagai sumber karbon mampu memberikan unsur hara bagi pertumbuhan akar dan pucuk stevia. Dimana pada media MS terdapat 40 mM unsur N berupa NO₃⁻ dan 29 mM berupa NH₄⁺. Media MS saat ini merupakan media dasar yang komposisinya mampu mendukung kultur jaringan tanaman lain [10]. Adanya kandungan nitrat, kalium dan amonium pada media MS merupakan salah satu kelebihan media ini.

B. Jumlah Akar

Pengamatan jumlah akar dilakukan pada akhir pengamatan yaitu pada 30 HST. Hasil analisa ANOVA menunjukkan bahwa faktor tunggal jenis auksin maupun konsentrasi Media MS serta faktor interaksinya berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah akar yang terbentuk. Data tersebut kemudian diuji lanjut menggunakan Duncan, dan hasilnya adalah sebagai berikut.

TABEL 2. RATA-RATA JUMLAH AKAR PADA BEBERAPA JENIS AUKSIN

Jenis Auksin	Jumlah Akar
NAA	4.23 a
Kontrol (Tanpa Auksin)	3.24 b
IAA	1.79 c
IBA	1.68 c

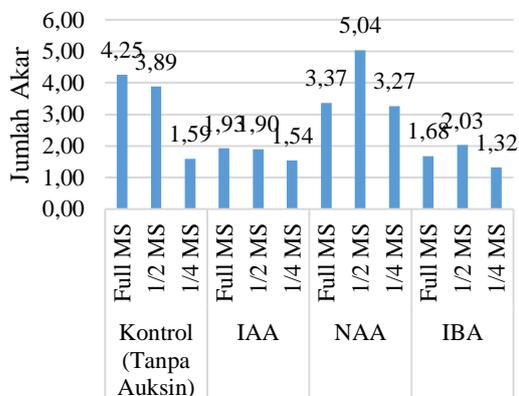
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti berbeda tidak nyata pada taraf uji Duncan 0,05.

Rahmawati, Sepdian Luri Asmono, Nurul Sjamsijah. Inisiasi Akar Secara In Vitro pada Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan Modifikasi Media Murashige and Skoog (MS) dan Beberapa Tipe Auksin.

TABEL 3. RATA-RATA JUMLAH AKAR PADA BEBERAPA KONSENTRASI MEDIA MS

Konsentrasi MS	Jumlah Akar
1/2 MS	3.46 a
MS Full	2.81 b
1/4 MS	1.93 c

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



GAMBAR 1. RERATA JUMLAH AKAR PADA PERLAKUAN JENIS AUKSIN DAN KONSENTRASI MEDIA MS PADA UMUT 30 HST

Pada Gambar 1. parameter jumlah akar menunjukkan adanya interaksi antara tipe auksin dan konsentrasi media MS. Sedangkan pada akhir pengamatan (30 HST) jumlah akar tertinggi dengan nilai rata-rata 4,23 ditunjukkan oleh perlakuan NAA (Tabel 2) dengan konsentrasi media 1/2 MS (Tabel 3). Namun secara umum hasil interaksi kedua faktor tersebut mampu mencapai rata-rata 5,04 akar per planlet.

Hasil analisis data diatas menunjukkan adanya penambahan auksin yang berfungsi sebagai pengatur pembesaran dan pemanjangan sel didaerah meristem. Selain itu auksin digunakan dalam kultur in vitro untuk merangsang induksi kalus, morfogenesis kalus untuk pembentukan akar dan pusuk serta mendorong embriogenesis somatik. Penggunaan auksin (IAA, NAA dan IBA) pada konsentrasi tertentu memberikan respon yang berbeda, jika konsentrasi auksin yang tepat dapat merangsang akar dengan baik, tetapi jika terlalu tinggi dapat menjadi racun bagi tanaman itu sendiri [7], [10].

C. Panjang Akar

Pengambilan data rata-rata panjang akar dilakukan pada umur 30 HST. Hasil analisa menunjukkan bahwa faktor tipe auksin dan konsentrasi media MS, masing-masing mempengaruhi panjang akar. Data uji lanjut Duncan disajikan pada tabel berikut.

TABEL 4. RATA-RATA PANJANG AKAR PADA BEBERAPA JENIS AUKSIN

Jenis Auksin	Panjang Akar (cm)
IAA	1.10 a
Kontrol (Tanpa Auksin)	1.06 ab
NAA	0.96 b
IBA	0.75 c

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

Pada Tabel 4. Akar terpanjang rata-rata 1,1 cm lebih distimulus oleh IAA dan tidak signifikan dengan kontrol.

TABEL 5. RATA-RATA PANJANG AKAR PADA BEBERAPA KONSENTRASI MEDIA MS

Jenis Auksin	Panjang Akar (cm)
1/4 MS	0.30 a
Full MS	1.22 b
1/2 MS	1.37 c

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

Sedangkan pada Tabel 5. Media terbaik yang lebih optimal dalam menambah panjang akar adalah 1/2 MS. Rata-rata panjang akar tertinggi adalah 6,86 cm lebih distimulus oleh kontrol (tanpa penambahan auksin) dan tidak berbeda nyata dengan IAA dan NAA.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi MS memberi pengaruh nyata terhadap kemunculan akar sedangkan pada beberapa tipe auksin tidak terlihat perbedaan yang nyata terhadap kemunculan akar. Data hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi Media MS dan hormon auksin tidak berbeda nyata dalam memacu kemunculan akar. Pada akhir pengamatan (30 HST) jumlah akar tertinggi dengan rata-rata 4,23 terdapat pada perlakuan NAA dengan modifikasi media 1/2 MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menghargai dukungan keuangan dari PNBPN Politeknik Negeri Jember 2020, sehingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. Djadjadi, "Pengembangan Tanaman Pemanis Stevia Rebaudiana (Bertoni) Di Indonesia," *Perspektif*, vol. 13, no. 1, pp. 25–33, 2015.
- [2] Raini, M dan Ismawati, A. 2011. Kajian: Khasiat dan Keamanan Stevia Sebagai Pemanis Pengganti gula. Media Litbang Kesehatan Volume 21 Nomor 4 Tahun 2011: 145-156

- [3] B. R. Adari, S. Alavala, S. A. George, H. M. Meshram, A. K. Tiwari, and A. V. S. Sarma, "Synthesis of rebaudioside-A by enzymatic transglycosylation of stevioside present in the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni," *Food Chem.*, vol. 200, pp. 154–158, 2016.
- [4] S. Gandhi, "Studies in development of low calorie food product with the incorporation of stevia," Lovely Professional University, Phagwara, 2018.
- [5] E. F. George, M. A. Hall, and G. J. De Klerk, *Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background*. Springer Netherlands, 2007.
- [6] R. Patel and R. Shah, "Regeneration of stevia plant through callus culture," *Indian J. Pharm. Sci.*, 2009.
- [7] S. Majumder and M. M. Rahman, "Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. through direct and indirect organogenesis," *J. Innov. Pharm. Biol. Sci.*, vol. 3, no. 3, pp. 47–56, 2016.
- [8] S. L. Asmono, Djenal, and Rahmawati, "In Vitro Regeneration of *Stevia Rebaudiana* Bertoni from internode and leaf explants using different concentrations of BAP (6-Benzyl Amino Purine)," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 411, no. 1, 2020.
- [9] S. L. Asmono, V. K. Sari, and R. Wardana, "Induksi Tunas *Stevia* (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) pada Beberapa Jenis Sitokinin," pp. 277–280, 2017.
- [10] E. F. George and P. D. Sherrington, *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics Ltd., 1984.