

**INIASI TUNAS SECARA KULTUR JARINGAN PADA STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) DENGAN KOSENTRASI INDOLE BUTYRIC ACID (IBA) AND BENZYL AMINO PURINE (BAP) YANG BERBEDA**

*(In Vitro Shoot Initiation Of Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) with Different Concentration of Indole Butyric Acid (IBA) and Benzyl Amino Purine (BAP))*

Anisa Hadiyana<sup>1</sup>, Mohamad Ana Syabana<sup>2</sup>, Susiyanti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Alumni Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian  
Universitas Sultan Ageng Tirtayasa

<sup>2</sup>Staf Pengajar Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian  
Universitas Sultan Ageng Tirtayasa

Jl. Raya Jakarta Km 4, Pakupatan Serang Banten

Telp. 0254-280706, Fax. 0254-280706, e-mail: [anasyabana@untirta.ac.id](mailto:anasyabana@untirta.ac.id)

**ABSTRAK**

This research aims to know the initiation of bud stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) in several concentrations of Indole Butyric Acid (IBA) and Benzyl Amino purine (BAP) are in in vitro. This research was conducted from August to October 2014 in engineering laboratory, Faculty of agriculture, University of Sultan Ageng Tirtayasa, Serang, Banten. This study used a Random group of Design with two factors. The first factor was the concentration of IBA 3 adequate for the applicable I<sub>0</sub> (0 mg/l), I<sub>1</sub> (0.5 mg/l), I<sub>2</sub> (1 mg/l) and the second factor is the concentration of BAP with 3 levels, apply B<sub>0</sub> (0 mg/l), B<sub>1</sub> (0.5 mg/l), B<sub>2</sub> (1 mg/l). So, there are a total of 9 combination treatments repeated 3 times so that there are 27 units of the experiment. The results showed that treatment without IBA and BAP (I<sub>0</sub>B<sub>0</sub>) gave the best result in parameter first appearance of shoots (4 days after planting) and shoot length (0,85 cm). While, the treatment I<sub>2</sub>B<sub>2</sub> (1 mg/l IBA and BAP) gave the best result in parameter leaves number (22 leaves).

**Keywords: initiation, stevia, growing regulatory substances, in vitro**

**PENDAHULUAN**

Tanaman Stevia merupakan tanaman *herbaceous* dari Family *Asteraceae*. Tanaman ini memiliki susunan daun alenate dan termasuk tanaman *herbaceous* (Singh et al, 2005). Stevia telah digunakan US sebagai pemanis alami selama beberapa tahun di banyak negara seperti Amerika Selatan dan Jepang. Stevia sebagai pemanis berasal dari daun *Stevia rebaudiana* Bertoni, yang merupakan tanaman herba yang berasal dari Paraguay. Daun stevia adalah pemanis alami yang bebas kalori dan mampu menghasilkan rasa manis 70

- 400 kali lebih manis dari gula tebu (Raini dan Ismawati, 2011). Daun *Stevia rebaudiana* adalah sumber dari glikosida diterpene, seperti steviolbioside, rubsosite, rebaudioside A, B, C, D, E dan F, dulcoside dan stevioside (Starratt et al., 2002). Karena stevia dikenal luas sebagai pengganti gula dan pemanis, hal ini diperlukan untuk mengembangkan tanaman stevia. Stevia dapat dikembangkan dengan perbanyakan generatif dan vegetatif. Perbanyakan generatif dari stevia dapat dilakukan melalui benih sedangkan perbanyakan vegetatif stevia dapat dilakukan melalui

tunas, stek batang dan kultur jaringan (Sari, 2013).

Penyediaan benih konvensional melalui benih memiliki tingkat keberhasilan rendah, sedangkan perbanyak dengan stek batang dan pucuk akan menghasilkan tanaman yang tidak identik pada kualitas tanaman yang diharapkan. Perbanyak melalui kultur jaringan lebih cepat, menghasilkan lebih banyak bibit, dan dan identik sehingga didapatkan kualitas tanaman yang diharapkan (Staba, 2000).

Keberhasilan inisiasi eksplan ditentukan oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) yang diberikan pada media. Umumnya, ZPT sering digunakan untuk kultur jaringan adalah orang jenis auxins, Sitokinin dan giberellin (Abbas, 2011). Beberapa jenis auxins dapat dikombinasikan dengan kelompok sitokinin dan giberellin (Ahmed *et al.*, 2002). Fungsi auksin dan sitokinin untuk pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel dan pembentukan organ (Zulkarnain, 2011).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui inisiasi pucuk stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dalam beberapa konsentrasi Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzil Amino Purina (BAP) secara *in vitro*.

#### **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini dilakukan dari Agustus-Oktober 2014 di Laboratorium Bioteknologi jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang, Banten.

Peralatan yang digunakan untuk melakukan penelitian adalah Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), *autoclave*, gelas beaker, spatula, erlenmeyer, pipet, lulus silinder, petridish, *hotplate magnetic stirrer*, *analytical balances*, kompor gas, tabung gas, dan refrigerator.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan sebagai bahan yang berasal dari tanaman stevia klon BPP 72 (Perkebunan Pusat Penelitian Bioteknologi di Bogor, Indonesia), media Murashige dan Skoog (MS), gula, aquadest steril, alkohol 70%, deterjen, metanol, agar-agar, kertas lakmus, *tween* 60, aluminium foil, Zat Pengatur Tumbuh Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzil Amino Purin (BAP).

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAL) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah pada konsentrasi IBA dengan 3 perlakuan, yaitu I0 (0 mg/L), I1 (0,5 mg/L) dan I2 (1 mg/L). Faktor kedua adalah konsentrasi BAP dengan 3 tingkat, yaitu B0 (0 mg/L), B1 (0,5 mg/L) dan B2 (1 mg/L). Jadi, ada total 9 kombinasi perlakuan yang diulang 3 kali dan total satuan percobaan adalah 27 percobaan.

Eksplan disterilkan dengan cara dicuci dengan air mengalir. Eksplan direndam dalam larutan deterjen selama 7 minutes, kemudian dibersihkan dengan air mengalir. Eksplan dibawa ke laminar untuk proses sterilisasi. Eksplan direndam dalam alkohol 70% selama 2 menit, kemudian dibilas dengan aquadest. Setelah itu, eksplan yang direndam ditetesi 2 tetes *tween* 60 per 100 ml aquadest selama 6-7 menit, kemudian dibilas dengan aquadest.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

##### **Awal muncul tunas**

Awal muncul tunas merupakan indikator awal pertumbuhan eksplan. Tunas yang baru lahir, muda batang, atau tanaman baru yang tumbuh dari setiap bagian dari tanaman yang ada (Rahardja dan Wahyu, 2003).

Tabel 1. Pengaruh Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzil Amino Purina (BAP) pada awal muncul tunas pada stevia

IBA	BAP			Rata-rata
	B0 (0 mg/l)	B1 (0,5 mg/l)	B2 (1 mg/l)	
I0 (0 mg/l)	4a	22,33b	5,33a	10,56
I1 (0,5 mg/l)	8a	7a	5,67a	6,89
I2 (1 mg/l)	6,67a	13,33ab	9,67a	9,89
Rata-rata	6,22	14,22	6,89	

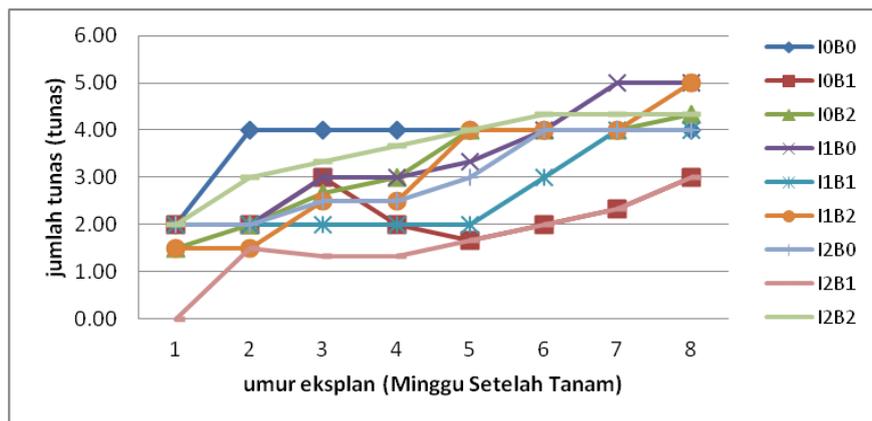
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda signifikan menurut uji DMRT  $\alpha$  0,05

Tabel di atas menunjukkan bahwa media tanpa IBA dan BAP menunjukkan waktu tercepat munculnya tunas 4 hari setelah tanam, dan perlakuan 0 mg/L IBA dan 0,5 mg/L BAP menunjukkan waktu terlama munculnya tunas dengan 20,33 hari setelah tanam. Keadaan ini mengindikasikan bahwa hormon dalam stevia dapat merangsang terbentuknya tunas.

### Jumlah tunas

Peningkatan jumlah tunas adalah salah satu parameter yang dapat diukur secara kuantitatif dan merupakan

indikator keberhasilan kultur jaringan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi IBA yang tinggi menghasilkan jumlah tunas yang rendah. Penurunan jumlah tunas ini ditampilkan dalam media yang diberikan 1 mg/L IBA, yaitu 3,78 tunas. Di sisi lain, BAP dengan konsentrasi yang tinggi meningkatkan jumlah tunas. Hassanen (2013) melaporkan bahwa dengan meningkatkan konsentrasi BAP, jumlah tunas juga akan meningkat secara nyata pada jumlah tunas dari 7,7 sampai 43,9 tunas per eksplan karena aplikasi BAP.

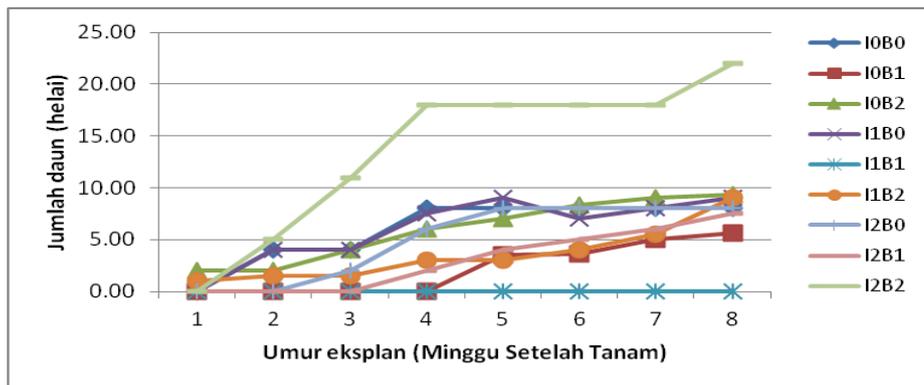


Gambar 1. Pengaruh Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzil Amino Purina (BAP) pada jumlah tunas pada stevia

## Jumlah daun

Jumlah daun pada eksplan adalah salah satu indikator pertumbuhan tunas yang baik. Media dengan IBA atau BAP dalam konsentrasi tinggi menunjukkan jumlah daun lebih tinggi daripada media dengan konsentrasi IBA dan BAP yang rendah. Perlakuan I2 (1 mg/L IBA) dan B2 (1 mg/L BAP) menunjukkan jumlah daun tertinggi (22 helai). Wetherel

(1982) menyatakan bahwa pemberian auksin dan sitokinin dapat mendukung terbentuknya daun. Sitokinin dan auksin dalam konsentrasi tinggi dapat meningkatkan kemampuan jaringan tanaman untuk mensintesis hormon alami yang dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangan tunas, dan terbentuknya daun.

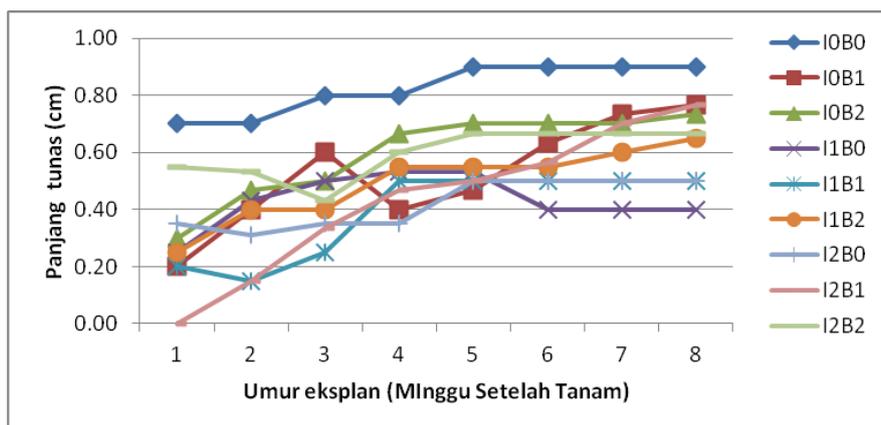


Gambar 2. Pengaruh Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzil Amino Purina (BAP) pada jumlah daun pada stevia

## Panjang tunas

Pertumbuhan panjang tunas terjadi karena ada pembelahan dan pemanjangan sel dalam jaringan meristem. Pertumbuhan panjang tunas pada *Stevia rebaudiana* Bertoni dapat terjadi tanpa menggunakan Zat Pengatur Tumbuh eksogen, perlakuan terbaik adalah I0B0 (tanpa IBA dan BAP). Hal ini diduga terjadi karena auksin atau

sitokinin dalam eksplan, mampu merangsang panjang tunas. Panjang tunas terpendek ditunjukkan pada perlakuan 0,5 mg/L IBA dan 0 mg/L BAP. Itu diduga terjadi karena auksin pada media dapat menghalangi pertumbuhan tunas. Zulkarnain (2011) menjelaskan bahwa pemberian sitokinin pada media kultur jaringan penting untuk mendukung perkembangan dan pertumbuhan tanaman.



Gambar 3. Pengaruh Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzil Amino Purina (BAP) pada panjang tunas pada stevia

### SIMPULAN

Perlakuan tanpa IBA dan BAP (I0B0) menunjukkan hasil terbaik pada parameter munculnya tunas awal dan panjang tunas. Sedangkan, perlakuan I2B2 (1 mg/L IBA dan BAP) memberikan hasil terbaik pada parameter jumlah daun.

### SARAN

Kombinasi perlakuan IBA dan BAP tidak boleh digunakan. Penelitian lebih lanjut perlu metode sterilisasi yang sesuai pada *Stevia rebaudiana* Bertoni untuk meminimalkan kontaminasi.

### DAFTAR PUSTAKA

Abbas, B. 2011. Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan. Alfabeta, Bandung.

Ahmed, E. E., GY.D. Bisztray and I. Velich. 2002. Plant regeneration from seedling explants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology. Szent Istvan University of Budapest. Budapest, Hungary. 115 - 123.

Hassanen, S. A. and Khalil, R. M. A. 2013. Biotechnological Studies for Improving of Stevia (*Stevia*

*rebaudiana* Bertoni) in vitro Plantlets. Middle-East Journal of Scientific Research 14 (1): 93-1006.

Prihatmani, D dan N. A. Mattjik, 2004. Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) dan BAP (6- *Benzil Amino Purine*) serta Air Kelapa untuk Menginduksi Organogenesis Tanaman *Anthurium andraeanum* Linden ex Andre). Bul. Agron. 32(1): 20-25.)

Rahardja, P. C., dan Wahyu, W. 2003. Aneka Cara Memperbanyak Tanaman. Agromedia Pustaka, Jakarta.

Raini, M. dan Isnawati, A. 2011. Kajian: Khasiat dan Keamanan Stevia Sebagai Pemanis Pengganti Gula. Media Litbang Kesehatan Volume 21 Nomor 4 Tahun 2011: 145-156.

Raini, M. dan Isnawati, A. 2011. Kajian: Khasiat dan Keamanan Stevia Sebagai Pemanis Pengganti Gula. Media Litbang Kesehatan Volume 21 Nomor 4 Tahun 2011: 145-156.

Salisbury, F.B., dan Ross, C.W. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid 2. ITB Press, Bandung.

- Sari, D.I. 2014. Empat Teknik Perbanyakkan Stevia. Surabaya: BBPPTP.
- Singh, S. D. and Rao, G. P. 2005. Stevia: The herbal sugar of the 21st century. Sugar Technol. 7:17-24.
- Staba, E. 2000. Plant Tissue Culture as a Source of Biochemical. Florida: CRC Press. Sekaran T, Giridhar P, Ravishankar GA (2007). Production of steviosides in *ex vitro* and *in vitro* grown *Stevia rebaudiana* Bertoni. J. Sci. Food Agric. 87:420-424.
- Starratt, A. N., C. W. Kirbyb, R. Pocs and J. E. Brandle. 2002. Rebaudioside F, a diterpene glycoside from *Stevia rebaudiana*. Phytochemistry 59:367.
- Wetherell, D.F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman secara *In Vitro*. IKIP Semarang Press, Semarang.
- Zulkarnain. 2011. Kultur Jaringan Tanaman. Bumi Aksara, Jakarta.