

MULTIPLIKASI TUNAS IN VITRO STEVIA MENGGUNAKAN ZAT PENGATUR TUMBUH BAP (6- BENZYL AMINO PURINE) PADA JENIS EKSPLAN YANG BERBEDA

by Sepdian Luri Asmono

Submission date: 11-Apr-2023 11:02AM (UTC+0700)

Submission ID: 2061244046

File name: FINAL_STEVIA_Format_Book_Chapter_Polije_Press.pdf (285.83K)

Word count: 2516

Character count: 14443

MULTIPLIKASI TUNAS IN VITRO STEVIA MENGGUNAKAN ZAT PENGATUR TUMBUH BAP (6-BENZYL AMINO PURINE) PADA JENIS EKSPLAN YANG BERBEDA

Sepdian Luri Asmono

Tenaga Pengajar
Politeknik Negeri Jember
Jurusan Produksi Pertanian
sepdian@polije.ac.id

Rahmawati

Tenaga Pengajar
Politeknik Negeri Jember
Jurusan Produksi Pertanian
rahmawati08@polije.ac.id

Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) merupakan komoditas baru yang berpotensi sebagai bahan pemanis alami. Bahkan beberapa penelitian menyebutkan tingkat rasa manis mencapai 200-300 kali lebih tinggi dari gula. Tetapi beberapa kendala dalam perbanyakan secara konvensional diantaranya adalah tingkat viabilitas benih yang rendah sehingga sulit ditekambahkan. Oleh sebab itu teknik kultur *in vitro* menjadi salah satu solusi untuk menghasilkan bibit Stevia yang berkualitas seragam dan dalam jumlah banyak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui respon pertumbuhan tunas dari eksplan buku dan daun tanaman Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) menggunakan beberapa konsentrasi BAP (Benzyl Amino Purine). Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap non Faktorial yaitu dengan menguji eksplan buku dan daun pada 3 level konsentrasi BAP yang berbeda yaitu 2, 3 dan 4 ppm dan diulang sebanyak 10 kali. Parameter yang diamati meliputi waktu inisiasi, jumlah dan panjang tunas. Hasil dari penelitian ini menunjukkan hanya eksplan buku yang mampu menumbuhkan tunas sedangkan eksplan daun hanya membentuk kalus saja. Kemunculan tunas pertama kali terlihat pada media MS dengan penambahan 3ppm BAP. Pada konsentrasi tersebut juga menghasilkan jumlah tunas terbanyak yaitu 8,70 tunas dengan panjang rata-rata 2,81 cm

Kata kunci: Stevia, In Vitro, BAP (6-Benzyl Amino Purine), Multiplikasi, Tunas

1. PENDAHULUAN

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) merupakan tanaman perdu pemanis alami yang memiliki tingkat rasa manis mencapai 200-300 kali lebih tinggi dari gula [1]. Rasa manis yang dihasilkan dari tanaman stevia berasal dari kandungan steviosida dan rebaudiosida [2]. Pemanis dari bahan stevia juga rendah kalori [3] dan mengandung antioksidan tinggi, sehingga baik juga untuk penderita diabetes. Penggunaan stevia dapat dicampurkan bersama makanan atau minuman seperti teh dan kopi. Oleh sebab itu tanaman Stevia sangat berpotensi untuk dikembangkan dalam skala besar di Indonesia [4].

Proses perbanyakan tanaman Stevia dapat dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya melalui metode kultur *in vitro*. Melalui metode tersebut, tunas yang dihasilkan lebih seragam dan dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dalam waktu relatif singkat [5]. Dalam aplikasinya keberhasilan multiplikasi tunas secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti penggunaan zat pengatur tumbuh yang tepat dan juga jenis eksplan yang digunakan. Dari beberapa penelitian terdahulu, penggunaan jenis eksplan juga dapat mempengaruhi laju pembentukan tunas [6]. Selain itu penggunaan zat pengatur tumbuh golongan sitokinin, khususnya BAP (6-Benzyl Amino Purine) juga terbukti mampu memacu pembentukan tunas *in vitro* stevia [7], [8]. Pada penelitian terdahulu juga dilakukan pengujian beberapa jenis sitokinin dan terbukti penggunaan BAP lebih berpengaruh terhadap pembentukan tunas daripada jenis sitokinin yang lainnya, tetapi belum menemukan konsentrasi BAP yang optimal dan jenis eksplan yang tepat untuk lebih memacu multiplikasi [9]. Oleh sebab itu diperlukan pengujian lanjutan dalam penggunaan BAP dari jenis eksplan yang berbeda untuk mengetahui berapa konsentrasi BAP yang optimal serta jenis eksplan yang tepat terhadap multiplikasi tunas stevia.

2. METODE DAN BAHAN

Penelitian ini telah dilaksanakan selama 5 bulan, dengan melakukan pengkulturan eksplan buku dan daun tanaman stevia pada media MS dengan penambahan BAP yang diujikan. Penelitian ini disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama meliputi 3 level konsentrasi BAP (2ppm; 3ppm; 4ppm). Faktor kedua yaitu jenis eksplan buku dan daun. Dengan demikian, penelitian ini terdiri dari 6 perlakuan dan akan diulang sebanyak 5 kali. Parameter pengamatan meliputi : Persentase eksplan bertunas dan berkalus; Saat muncul kalus; jenis kalus dan warna kalus; Saat muncul tunas; Jumlah tunas dan panjang tunas. Bahan utama yang digunakan adalah bibit stevia, media dasar MS, ZPT BAP (6-Benzylaminopurine).

2.1 Sterilisasi dan Inokulasi Eksplan

Bahan tanam awal yang digunakan adalah buku dan daun pucuk stevia. Pada proses sterilisasi, eksplan dibersihkan dalam air mengalir selama 10 menit, kemudian merendam dan menggojok potongan buku dalam larutan bakterisida dan fungisida 2 g/l selama 15 menit. Setelah itu, membilas eksplan dengan aquadest steril dan dilanjutkan dengan perendaman dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit dan larutan Clorox 5% + tween 20 (3 tetes) selama 1 menit. Kemudian membilas eksplan menggunakan aquadest steril 5 kali.

Proses inokulasi eksplan dilakukan dengan melakukan pemotongan buku ukuran 1 cm sedangkan daun dipotong dengan ukuran 5 cm². Setelah itu, eksplan ditanamkan pada media MSO selama 1 minggu dan selanjutnya di sub kultur pada masing-masing media perlakuan. Proses inkubasi dalam ruang pertumbuhan pada suhu 22°C dengan pencahayaan 18 jam terang dan 6 jam gelap.

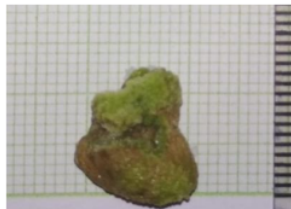
2.3 Analisis Data

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%.

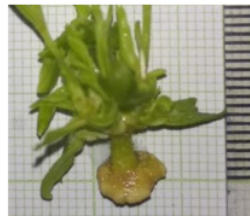
3. HASIL DAN DISKUSI

3.1 Persentase Eksplan Bertunas dan Berkalus

Pengamatan terhadap presentase pembentukan tunas dan kalus dilakukan pada 30 hari setelah inokulasi (HSI) dengan menghitung persentase (%) dari total jumlah eksplan yang berkalus dan bertunas pada masing-masing perlakuan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa 100% kalus terbentuk pada keseluruhan eksplan daun maupun buku. Pada eksplan daun, kalus terbentuk pada keseluruhan permukaan eksplan, sedangkan pada eksplan buku, kalus terbentuk pada pangkal buku saja seperti pada Gambar 1 dan 2 berikut.



Gambar 1. Pembentukan kalus pada eksplan daun



Gambar 2. Pembentukan kalus dan tunas pada eksplan buku

Pembentukan kalus diawali oleh pembelahan dan pembesaran sel oleh hormon auksin dan sitokinin eksogen [10]. Penambahan BAP pada konsentrasi 2, 3, dan 4 ppm yang dikombinasikan dengan 0,25 ppm IAA pada media terbukti mampu memacu proliferasi sel dan kemudian membentuk kalus. Percobaan menggunakan eksplan hipokotil tanaman *Physalis angulata* L. menunjukkan bahwa kombinasi antara BAP dan beberapa jenis auksin memacu pembentukan kalus yang bertekstur kompak [11].

3.2 Saat Muncul Kalus, Jenis Kalus dan Warna Kalus

Data hasil pengamatan terhadap saat kemunculan kalus, jenis dan warna kalus dari eksplan buku dan daun adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Data kemunculan, jenis dan warna kalus dari eksplan buku dan daun stevia pada beberapa level konsentrasi BAP

JENIS EKSPAN	KONSENTRASI BAP	PARAMETER		
		SAAT MUNCUL KALUS (HSI)	JENIS KALUS	WARNA KALUS
Buku	2 ppm	20,70 a	Kompak	Putih Kekuningan
	3 ppm	19,50 a	Kompak	Putih Kekuningan
	4 ppm	22,00 b	Kompak	Putih Kekuningan
Daun	2 ppm	9,20 a	Kompak	Hijau Kekuningan
	3 ppm	4,20 b	Kompak	Hijau Kekuningan
	4 ppm	3,00 b	Kompak	Hijau Kekuningan

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

Hasil Analisis Anova menunjukkan bahwa hari kemunculan kalus pada eksplan buku maupun daun dari beberapa konsentrasi BAP menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata. Pada eksplan buku, kemunculan kalus tercepat pada 19,5 HSI pada konsentrasi 3 ppm BAP. Sedangkan pada eksplan daun, kemunculan kalus dimulai dari 3 HST pada konsentrasi 4 ppm, dan tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 3 ppm. Pada kedua eksplan yang diujikan, respon paling lambat dalam kemunculan tunas terdapat pada konsentrasi 2 ppm BAP.

Kemunculan kalus pada eksplan buku lebih cepat pada media dengan penambahan 3 ppm BAP. Diduga peranan konsentrasi 3 ppm memacu proliferasi sel dari pangkal eksplan yang kontak dengan media. Penelitian sebelumnya pada tanaman *Mucuna pruriens* L. konsentrasi 3 ppm BAP mampu memacu kalus lebih berat dibanding pada konsentrasi lainnya. Pengkalusan pada pangkal eksplan dapat juga terjadi pada area pelukaan stek batang yang merupakan persiapan awal menuju pembentukan akar [12].

Pada eksplan daun, kalus tercepat muncul pada 3-4 HSI. Hal tersebut juga menunjukkan bahwa kalus dari daun pada lebih cepat muncul dibandingkan dengan pembentukan kalus eksplan buku. Kemunculan kalus tercepat terlihat juga pada konsentrasi 4 ppm BAP dan tidak berbeda nyata dengan 3 ppm BAP. Dalam proses pembentukan kalus, sitokinin berperan dalam memacu proliferasi sel. Sitokinin memacu fase G2 menuju fase M sehingga terjadi peningkatan laju sintesa protein dan akhirnya sel lebih cepat membelah dan terjadi akumulasi sel yang disebut kalus [13]

Jenis kalus yang terbentuk dari eksplan buku maupun dari eksplan daun adalah kalus kompak. Kalus ini bertekstur keras dan membentuk gumpalan-gumpalan. Sedangkan pada parameter warna kalus, kedua eksplan mempunyai pengaruh warna yang berbeda. Data skoring menunjukkan bahwa pada eksplan buku rata-rata kalus berwarna putih kekuningan, sedangkan dari eksplan daun rata-rata berwarna hijau kekuningan.

Tekstur kalus yang kompak memiliki sel-sel yang saling berikatan lebih padat dan sulit untuk dipisahkan. Penggunaan sitokinin dapat memacu sel menjadi kompak dan berwarna hijau. Potensial air dalam sel-sel yang terbentuk dipengaruhi oleh perimbangan sitokinin. Air, nutrisi dan sukrosa dari media yang berdifusi dalam sel menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan osmotik sel dan berdampak pada dinding sel menjadi kaku [5], [14].

Warna kalus pada pangkal buku berbeda dengan kalus pada daun yang berwarna hijau kekuningan. Kalus yang terbentuk dari daun dapat mengindikasikan bahwa warna hijau merupakan klorofil yang terdapat pada jaringan daun. Keberadaan sitokinin dalam media perlakuan juga memacu pembentukan klorofil dari kalus-kalus yang terbentuk sehingga berwarna kehijauan [15].

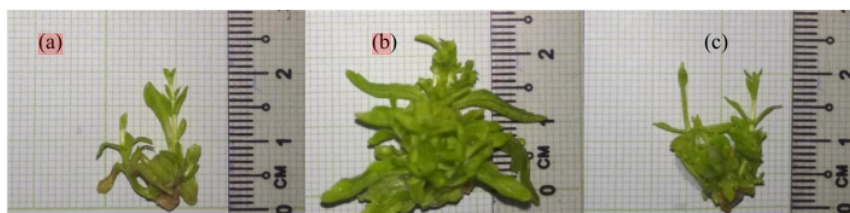
3.3 Saat Muncul Tunas, Jumlah Tunas dan Panjang Tunas

Tabel 2. Data kemunculan, jumlah dan panjang tunas dari eksplan buku pada beberapa level konsentrasi BAP

Jenis Eksplan	Konsentrasi BAP	Parameter		
		Saat Muncul Tunas (HST)	Jumlah Tunas	Panjang Tunas (cm)
Buku	2 ppm	3,20 a	4,70 a	2,53 a
	3 ppm	3,50 a	8,70 b	2,81 a

4 ppm 3,00 a 5,80 a 1,61 b

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



Gambar 3. Planlet *Stevia rebaudiana* Bertoni dari eksplan buku (30 HSI) yang tumbuh pada media: (a) MS+0,25 ppm IAA+2 ppm BAP; (b) MS+0,25 ppm IAA + 3 ppm BAP; (c) MS+0,25 ppm IAA+ 4 ppm BAP

Hasil analisis Anova terhadap kemunculan tunas menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata, sedangkan pada parameter jumlah dan panjang tunas menunjukkan bahwa beberapa level konsentrasi BAP berpengaruh sangat nyata. Pembentukan tunas hanya ada pada eksplan buku saja sedangkan pada eksplan daun tidak ada tunas yang tumbuh, hanya terbentuk kalus saja. Dari beberapa konsentrasi BAP yang diujikan, rata-rata tunas muncul pada 3 HSI. Tetapi pada akhir pengamatan (30 HSI) terdapat perbedaan jumlah dan panjang tunas. Pada konsentrasi 3 ppm, tunas yang terbentuk berjumlah 8,7 tunas. Sedangkan pada konsentrasi 2 dan 4 ppm hanya terbentuk 4,7 dan 5,8 tunas saja. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 3 ppm merupakan konsentrasi optimal dalam memacu pembentukan stevia melalui eksplan buku. Dalam beberapa penelitian terdahulu, penggunaan buku pada tanaman stevia sebagai eksplan dengan penambahan hormon BAP lebih memacu multiplikasi tunas [16].

Data pengamatan terhadap panjang tunas pada Tabel 2 menunjukkan bahwa BAP pada konsentrasi 2 dan 3 ppm menunjukkan panjang yang tidak berbeda nyata, tetapi sangat berbeda dengan BAP konsentrasi 4 ppm yang memiliki tunas paling pendek. Panjang tunas dari konsentrasi 2 ppm adalah 2,53 cm dan 3 ppm adalah 2,81 ppm, sedangkan 4 ppm panjang tunasnya 1,61 cm. Data tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi BAP akan menekan pemanjangan tunas. Sebaliknya pada konsentrasi BAP yang lebih rendah, pemanjangan batang oleh hormon auksin menjadi terpacu. Dalam penelitian lain, kombinasi zat pengatur tumbuh BAP dan IAA paling baik untuk pembentukan dan pemanjangan tunas stevia [17]. Dalam fungsinya BAP lebih memacu jumlah tunas sedangkan auksin memacu pemanjangan batang [18].

4. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan BAP memberikan respon pertumbuhan yang berbeda pada antara eksplan buku dan daun. Kalus mampu muncul pada kedua eksplan tetapi kecepatan muncul kalus tercepat pada eksplan daun yaitu 3 HSI. Eksplan buku memiliki eksplan kompak dan berwarna putih kekuningan sedangkan eksplan daun memiliki kalus kompak berwarna kuning kehijauan. Dalam parameter pertumbuhan tunas, hanya eksplan buku saja yang mampu menumbuhkan tunas, sedangkan pada eksplan daun hanya tumbuh kalus saja. Konsentrasi 3 ppm BAP mampu menumbuhkan tunas lebih banyak yaitu 8,7 tunas dibanding konsentrasi lainnya. Untuk parameter panjang tunas, pada konsentrasi 3 ppm juga memiliki pertumbuhan tunas rata-rata paling panjang yaitu 2,81 cm.

5. PERNYATAAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Politeknik Negeri Jember, khususnya kepada P3M Polije yang telah mendanai penelitian ini melalui pembiayaan sumber dana PNPB dan kepada POLIJE PRESS yang memfasilitasi publikasi artikel ini dalam bentuk book chapter.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] N. KUMARI, R. C. RANA, Y. P. SHARMA, AND S. KUMAR, "Extraction, purification and analysis of sweet compounds in *Stevia rebaudiana* Bertoni using chromatographic techniques," *Indian J. Pharm. Sci.*, vol. 79, no. 4, pp. 617–624, 2017.
- [2] B. R. ADARI, S. ALAVALA, AND S. A. GEORGE, "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.

- [3] S. GANDHI, “Studies in development of low calorie food product with the incorporation of stevia,” Lovely Professional University, Phagwara, 2018.
- [4] D. DJADJADI, “Pengembangan Tanaman Pemanis Stevia Rebaudiana (Bertoni) Di Indonesia,” *Perspektif*, vol. 13, no. 1, pp. 25–33, 2015.
- [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] S. REZAIE, M. DEHESTANI-ARDAKANI, AND K. KAMALI, “A new protocol for direct regeneration of stevia plant (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) by tissue culture techniques,” *J. Hortic. Postharvest Res.*, vol. 1, no. 2, pp. 97–104, 2018.
- [7] A. KHAN, M. JAYANTHI, N. P. GANTASALA, N. BHOOSHAN, AND R. UMA, “A rapid and efficient protocol for in vitro multiplication of genetically uniform *Stevia rebaudiana* (Bertoni),” *Indian J. Exp. Biol.*, vol. 54, pp. 477–481, 2016.
- [8] A. MODI AND N. KUMAR, “TDZ-Induced Regeneration in *Stevia rebaudiana* Bertoni: An Important Natural Sweetener,” in *Thidiazuron: From Urea Derivative to Plant Growth Regulator*, Springer, 2018, pp. 351–358.
- [9] L. ASMONO, V. K. SARI, AND R. WARDANA, “Induksi Tunas Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Pada Beberapa Jenis Sitokinin,” in *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian 2017*, 2017, pp. 277–280.
- [10] M. IKEUCHI, K. SUGIMOTO, AND A. IWASE, “Plant Callus: Mechanisms Of Induction And Repression,” *Plant Cell*, vol. 25, no. 9, pp. 3159–3173, 2013.
- [11] R. MASTUTI, A. MUNAWARTI, AND E. R. FIRDIANA, “The combination effect of auxin and cytokinin on in vitro callus formation of *Physalis angulata* L.--A medicinal plant,” in *AIP Conference Proceedings*, 2017, vol. 1908, no. 1, p. 40007.
- [12] M. IKEUCHI, “Wounding Triggers Callus Formation via Dynamic Hormonal and Transcriptional Changes,” *Plant Physiol.*, vol. 175, no. 3, pp. 1158–1174, Nov. 2017.
- [13] L. TAIZ AND E. ZEIGER, “Plant Physiology. 3rd,” pp720, vol. 21, 2002.
- [14] G. A. ROMANOV, “How do cytokinins affect the cell?,” *Russ. J. Plant Physiol.*, vol. 56, no. 2, pp. 268–290, 2009.
- [15] E. F. GEORGE, M. A. HALL, AND G.-J. DE KLERK, “Plant growth regulators II: cytokinins, their analogues and antagonists,” in *Plant propagation by tissue culture*. Springer, 2008, pp. 205–226.
- [16] M. A. HOSSAIN, K. SHAMIM, AND J. AHM, “TA, AND HASAN, MN (2008): Micropropagation of Stevia,” *Int J Sustain. Prod*, vol. 3, no. 4, pp. 1–9.
- [17] M. DEBNATH, “Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*,” *J. Med. Plants Res.*, 2008.
- [18] T. BETTAIEB, M. MHAMDI, AND I. HAJLAOUI, “Micropropagation of *Nolina recurvata* Hemsl.: Cyclodextrin effects on rooting,” *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, vol. 117, no. 4, pp. 366–368, 2008.

MULTIPLIKASI TUNAS IN VITRO STEVIA MENGGUNAKAN ZAT PENGATUR TUMBUH BAP (6- BENZYL AMINO PURINE) PADA JENIS EKSPLAN YANG BERBEDA

ORIGINALITY REPORT

20%

SIMILARITY INDEX

14%

INTERNET SOURCES

9%

PUBLICATIONS

5%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	text-id.123dok.com Internet Source	5%
2	S L Asmono, Djenal, Rahmawati. " In Vitro Regeneration of Bertoni from internode and leaf explants using different concentrations of BAP (6-Benzyl Amino Purine) ", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020 Publication	4%
3	repo.unand.ac.id Internet Source	2%
4	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	2%
5	core.ac.uk Internet Source	2%
6	proceedings.polije.ac.id Internet Source	1%

ar.scribd.com

7	Internet Source	1 %
8	press.polije.ac.id Internet Source	1 %
9	jurnal.untad.ac.id Internet Source	1 %
10	repository.ub.ac.id Internet Source	1 %
11	finadaniati.blogspot.com Internet Source	1 %

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On