



Respon Eksplan Buku Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) terhadap Konsentrasi BAP, Kinetin, dan Thidiazuron (TDZ)

The response of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Nodal Explants to BAP, Kinetin, and Thidiazuron (TDZ) Concentrations

Siti Mahmudah<sup>1\*</sup>, Nofia Hardarani<sup>1</sup>, dan Chatimatun Nisa<sup>1</sup>

<sup>1\*</sup>Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

\*Email Korespondensi: sitimahmudah063@gmail.com

|   |  |
|---|--|
| <p><b>Kata Kunci:</b><br/>Stevia,<br/>Buku,<br/>BAP,<br/>Kinetin,<br/>TDZ</p> | <p style="text-align: center;"><b>ABSTRAK</b></p> <p>Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) merupakan tanaman pemanis yang memiliki keunikan yaitu daunnya terasa manis karena kandungan steviosidanya. Perbanyakkan stevia melalui stek batang hanya dapat menghasilkan jumlah tanaman yang sedikit. Selain itu, benih stevia yang digunakan sebagai bahan tanam masih sulit karena memiliki daya kecambah yang rendah. Oleh karena itu, diperlukan teknik perbanyakkan yang dapat menghasilkan bibit dalam jumlah besar yaitu melalui perbanyakkan secara kultur jaringan. Dalam kultur jaringan diperlukan ZPT sebagai pendukung untuk pertumbuhan eksplan tanaman. Jenis ZPT yang digunakan dalam penelitian ini adalah BAP, kinetin, dan TDZ yang merupakan golongan dari sitokinin. Sitokinin merupakan ZPT yang mendorong terjadinya pembentukan tunas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari jenis sitokinin terhadap inisiasi tunas stevia serta mencari jenis sitokinin yang terbaik. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan satu faktor yaitu konsentrasi dari jenis sitokinin yang berbeda (BAP 1 µM, BAP 10 µM, kinetin 1 µM, kinetin 10 µM, dan TDZ 1 µM). Variabel pengamatan dalam penelitian ini yaitu persentase eksplan hidup (%), persentase kontaminasi (%), waktu muncul tunas (hst), jumlah tunas (mst), waktu muncul akar (hst), dan jumlah akar (mst). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh jenis sitokinin terhadap inisiasi tunas tanaman stevia secara <i>in vitro</i> terdapat pada variabel jumlah tunas umur 4 mst. Sitokinin yang lebih baik terhadap inisiasi tunas tanaman secara <i>in vitro</i> terdapat pada perlakuan BAP 10 µM pada variabel jumlah tunas umur 4 mst yaitu sebesar 2,94 tunas.</p> |
| <p><b>Keywords:</b><br/>Stevia,<br/>Node,<br/>BAP,<br/>Kinetin,<br/>TDZ</p>   | <p style="text-align: center;"><b>ABSTRACT</b></p> <p><i>Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) is a sweetener plant which is a unique in its leaves taste sweet because of their stevioside content. Stevia propagation through stem cuttings can only produce a small number of plants. In addition, stevia seeds used as planting material are still difficult because they have a low germination rate. Therefore, we need a propagation technique that can produce seedling in large numbers, namely through tissue culture propagation. In tissue culture, plant growth regulator (PGR) is needed to stimulate the growth of plant explants. The types of PGR used in this study are BAP, kinetin, and TDZ which are a group of cytokinins. Cytokines are PGR which encourage bud formation. This study aimed to determine the effect of cytokinin types on the stevia bud initiation and the best cytokinin types. This study used a randomized block design (RBD) with one factor, i.e the concentration of different types of cytokinins (BAP 1 µM, BAP 10 µM, kinetin 1 µM, kinetin 10 µM, and TDZ 1 µM). The observation variables in this study were percentage of explant life (%), percentage of contamination (%), time of bud appears (dap), number of shoots (wap), time of bud appears (dap), the number of roots (wap). The results showed that cytokinin types gave effect to number of shoots at 4 wap. BAP 10 µM was better cytokinin that gave more shoots at 4 wap, i.e 2,94 shoots.</i></p>   |

## 1. PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia kebutuhan pokok salah satunya yaitu gula. Keperluan gula nasional dalam negeri berkisar antara 5,7-5,9 juta ton per tahun, dimana pemanfaatan gula rumah tangga pada tahun 2015 terulang bertambah melalui kemajuan mencapai 6,17% atau menjadi 6,805 kg / kapita / tahun. Sementara itu, produksi gula secara nasional hanya 2,4-2,5 juta ton per tahun. Impor gula Indonesia pada tahun 1981 sebesar 720.950 ribu ton dan melonjak hingga 2.637.020 ton pada tahun 2015. Pada periode 1980-2015, impor gula Indonesia rata-rata 163,09% per tahun atau sebanding dengan 63.889 ton per tahun (Kementerian Pertanian, 2016).

Tumbuhan penghasil gula selain tebu yang sudah diketahui beberapa diantaranya adalah agave kelapa, jagung, sorgum, aren, dan stevia. Hal ini menyebabkan diperlukannya rencana pengganti untuk mencukupi kelangkaan kekurangan gula, salah satunya dengan meneliti popularitas tanaman menghasilkan gula. (Musarif, 2012).

Di Jepang, 5,6% gula yang dipromosikan adalah gula stevia atau yang diketahui istilah lain *sutebia*. Pemanfaatan stevia sudah diketahui di negara-negara terkemuka seperti Amerika dan Jepang. Disarankan untuk pengidap diabetes mellitus tipe 2 dan obesitas karena dikenal sebagai pemanis natural non-kalori (Jagatheeswari & Ranganathan, 2012).

Stevia masuk pada tahun 1977 di Indonesia, pemakaian gula stevia sangatlah kurang. Daun stevia adalah bagian tanaman yang dimanfaatkan, yang dapat memberikan rasa manis dengan fase 200 - 300 kali bertambah tinggi dari gula pada umumnya. Budidaya stevia langka dilakukan. Selain itu, tanaman ini masih relatif langka akibat populasi tumbuhnya terpaku. (Buchori, 2007). Tanaman stevia berasal dari Paraguay yang umumnya tumbuh secara alami pada daerah subtropis (Shock, 1982).

Multiplikasi tanaman secara klonal untuk memperbanyak masal salah satu teknik dalam kultur jaringan. Penyediaan bibit melalui *in vitro* yaitu, bibit tanaman yang ulung total melimpah dan sejenis, dan didapat biakan steril. Stek batang adalah memperbanyak stevia paling umum yang menghasilkan bibit yang sama tetapi jumlahnya sedikit (Lestari, 2010)

Beragam komposisi media kultur telah diracik guna memaksimalkan perkembangan dan pertumbuhan tanaman yang dikulturkan. Media adalah salah satu aspek penentu kesuksesan multiplikasi tanaman. Dalam media kultur jaringan diperlukan penambahan ZPT untuk membantu pertumbuhan eksplan. Salah satu ZPT yang kadang digunakan adalah ZPT yang bersumber dari golongan sitokinin (Wahyuni, 2004).

ZPT yang mempunyai peranan dalam proses pembelahan sel sitokinin diantaranya yaitu, BAP, kinetin, dan TDZ. sitokinin yang sering digunakan adalah BAP karena paling efisien untuk merangsang pembuatan tunas yang lebih kuat dan tahap oksidasi serta paling murah dari sitokinin

lainya (George & Sherrington, 1984). Kinetin pertama kali ditemukan dan jenis sitokinin alami yang berasal pada jaringan yang hidup berperan penting pada akar, embrio dan buah (Hariadi, 2018). Sedangkan TDZ berperan dalam merangsang organogenesis eksplan (regenerasi tunas) dan regenerasi tanaman (Astria, 2016).

Struktur dasar dari sitokinin berbeda-beda yang memastikan aktivitas sitokinin yakni meninggikan kegiatan dalam proses fisiologis tanaman (Abidin, 1994). BAP memiliki berat molekul sebesar 225,26 dengan rumus  $C_{12}H_{11}N_5$  (Ni'mah, 2018). Struktur kinetin adanya molekul 6-*furfurylaminopurine* dengan rumus kimia  $C_{10}H_9N_5O$  berat molekul 215,22 g/mol (Hariadi, 2018). Dalam dunia kimia, TDZ dikenal sebagai 1-*phenyl-3-(1,2,3-thiadiazuron-5-yl)* urea dengan rumus molekul  $C_6H_8N_4OS$ , dan berat molekul 220,2 g/mol (Astria, 2016).

Hasil penelitian Marindasya *et al.* (2012), menyatakan penggunaan eksplan berupa buku memiliki keunggulan seperti efisiensi waktu, jumlah eksplan yang hemat dan kemungkinan muncul tunas lebih besar. Oleh sebab itu perlakuan dalam penelitian ini berupa jenis sitokinin yang berbeda menggunakan eksplan buku tanaman stevia. Menurut hasil penelitian Anbazhagan *et al.* (2010), kinetin  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  bekerja dengan baik dalam regenerasi dari ujung pucuk dan eksplan nodal.

Berdasarkan hasil penelitian Asmono *et al.* (2017), menyatakan untuk memacu multiplikasi tunas stevia dengan konsentrasi BAP 2 ppm dan kinetin 2 ppm yaitu pada rerata 3,05 hari setelah kultur (HSK) memberikan hasil terbaik. Sedangkan menurut hasil penelitian Lata *et al.* (2012), menyatakan keunggulan dari konsentrasi TDZ yang lebih rendah yaitu pada perlakuan TDZ  $1,0 \mu\text{M}$  paling efektif untuk proliferasi tunas stevia. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh dari jenis sitokinin terhadap inisiasi tunas stevia secara *in vitro* dan mengetahui jenis sitokinin yang terbaik terhadap inisiasi tunas stevia secara *in vitro*.

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai bulan Juni 2019 di lahan percobaan yang pelaksanaan penelitian mulai bulan Maret sampai Juli 2019 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Bahan yang digunakan adalah eksplan buku stevia, media MS, BAP, kinetin, TDZ, fungisida, bakterisida, alkohol 70%, Bayclin 20%, sublimat 0,1%, Tween 20, *Polyvinyl Pyrolidone* (PVP) dan aquades. Alat yang digunakan yaitu, labu ukur, gelas ukur, botol tanam, gelas Erlenmeyer, timbangan analitik, pipet/jarum suntik, kertas lakmus, *autoclave*, oven, *laminar air flow* (LAF), *hot plate* dan *magnetic stirrer*, kulkas, *shaker*, thermometer, kamera, pisau *scalpel*, cawan petri, pinset, dan lampu bunsen.

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) satu faktor berupa konsentrasi dari sitokinin yang berbeda (S), terdiri dari 6 taraf, yaitu:  $s_1$  : BAP  $1 \mu\text{M}$ ,  $s_2$  : BAP

10  $\mu\text{M}$ ,  $s_3$ : Kinetin 1  $\mu\text{M}$ ,  $s_4$ : Kinetin 10  $\mu\text{M}$ ,  $s_5$ : TDZ 1  $\mu\text{M}$ ,  $s_6$ : TDZ 10  $\mu\text{M}$ . Setiap perlakuan diulang 4 kali, sehingga terdapat 24 satuan percobaan dan setiap satuan percobaan terdiri dari 6 botol tanam. Sehingga semuanya berjumlah 144 buah botol tanam. Tahapan pelaksanaan penelitian meliputi pembuatan larutan stok, pembuatan media MS, sterilisasi media MS, *sterilisasi laminar air flow* (LAF), sterilisasi eksplan buku stevia, penanaman eksplan, dan pengamatan sampai 8 minggu setelah tanam (mst). Peubah yang diamati, yaitu persentase eksplan hidup (%), waktu muncul tunas (hst), jumlah tunas (mst), waktu muncul akar (hst), dan jumlah akar (mst).

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan terhadap peubah-peubah yang diamati yaitu diuji kehomogenannya dengan uji Bartlett dengan taraf nyata 5% dan 1%. Jika data homogen, dilanjutkan dengan analisis ragam (ANOVA). Jika analisis berpengaruh nyata atau sangat nyata, dilakukan analisis atau uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Pengujian statistik menggunakan software *Minitab* 16.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Persentase Eksplan Hidup

Analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi BAP, kinetin, dan TDZ tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup. Rata-rata persentase eksplan hidup terhadap konsentrasi BAP, kinetin dan TDZ disajikan pada Tabel 1.

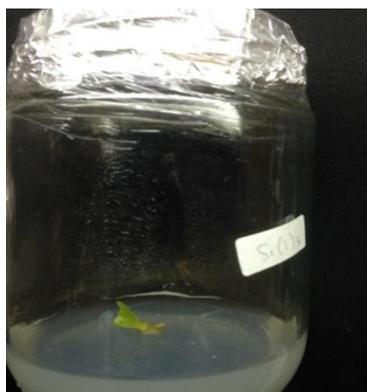
Tabel 1 menunjukkan bahwa kisaran persentase eksplan hidup dari semua perlakuan adalah antara 41,66-54,16 %. Dari hasil penelitian bahwa semakin rendah persentase eksplan hidup, maka tingkat eksplan mati yang terjadi semakin tinggi begitu juga sebaliknya. Eksplan hidup adalah eksplan yang masih segar dan berwarna hijau serta tidak terkontaminasi maupun mengalami *browning*.

Kariena (2019) menyebutkan bahwa morfologi eksplan stevia yang berbulu menjadi salah satu faktor penyebab tingginya persentase eksplan kontaminasi. Buku stevia memiliki trikoma menyebar di seluruh permukaan batang. Hal ini menyulitkan bahan sterilan menembus permukaan eksplan. Kontaminasi yang mempengaruhi rendahnya persentase eksplan hidup disebabkan oleh bakteri, maupun eksplan itu sendiri. Pada penelitian ini eksplan stevia yang berbulu menyulitkan bahan sterilan menembus pada permukaan eksplan, sehingga masih terjadi kontaminasi walaupun sudah disterilisasi.

Tabel 1. Rata-rata persentase eksplan hidup terhadap respon BAP, kinetin dan TDZ

| Perlakuan                | Rata-rata |
|--------------------------|-----------|
| BAP 1 $\mu\text{M}$      | 41,66     |
| BAP 10 $\mu\text{M}$     | 44,33     |
| Kinetin 1 $\mu\text{M}$  | 54,16     |
| Kinetin 10 $\mu\text{M}$ | 54,16     |
| TDZ 1 $\mu\text{M}$      | 41,66     |
| TDZ 10 $\mu\text{M}$     | 49,99     |

Selama penelitian berlangsung, kendala yang dialami adalah kontaminasi bakteri dan jamur, serta eksplan yang ditanam mengalami (stagnasi). Stagnasi merupakan suatu keadaan eksplan dimana eksplan tersebut tidak mati, tetapi juga tidak tumbuh dari mulai penanaman sampai kurun waktu tertentu (Syabana *et al.* 2017). Pada penelitian ini, stagnasi pada eksplan diduga karena faktor dari media yang digunakan. Eksplan yang mengalami stagnasi dapat dilihat pada Gambar 1a dan eksplan yang tumbuh dapat dilihat pada Gambar 1b.



Gambar 1. Eksplan stevia yang mengalami stagnasi (a) dan eksplan yang tumbuh (b)

Arimarsetiowati (2012) menyatakan bahwa media dapat sebagai penyebab terjadinya stagnasi pertumbuhan, selain media, faktor lain yang memicu stagnasi pada eksplan yaitu, umur eksplan yang digunakan karena dari keadaan media suatu sel dapat atau tidak terpengaruh mengadakan proses pemecahan. Keadaan fisiologis eksplan menyimpan peranan penting bagi kesuksesan teknik kultur jaringan (Zulkarnain, 2009).

### 3.2 Persentase Kontaminasi

Analisis ragam menunjukkan bahwa respon eksplan buku stevia terhadap konsentrasi BAP, kinetin, dan TDZ tidak berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi. Rata-rata persentase kontaminasi terhadap konsentrasi BAP, kinetin dan TDZ disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase kontaminasi dari semua perlakuan berkisar antara 66,66-87,50%. Jumlah persentase kontaminasi dihitung dari awal hingga pengamatan terakhir.

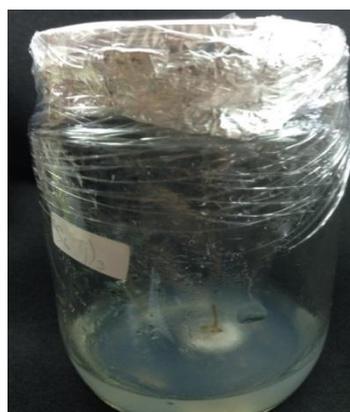
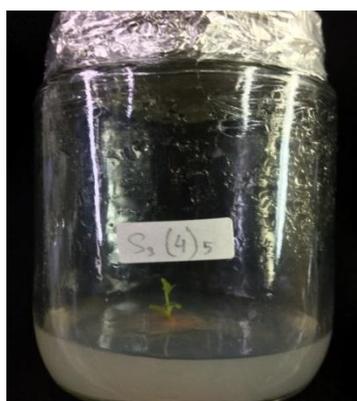
Sebagian besar eksplan yang terkontaminasi menyebabkan kematian pada eksplan tersebut. Kontaminasi dapat terjadi pada media ataupun pada eksplan.

Pada penelitian ini persentase kontaminasi tidak berbeda nyata, karena proses sterilisasi yang sama pada setiap perlakuan, diduga karena beberapa hal, diantaranya tidak sterilnya tempat penaburan maupun LAF pada saat penanaman, peralatan yang digunakan kurang steril karena digunakan berulang kali dan sedikitnya perlakuan sterilisasi pada ruang kultur (Sari, 2019).

Tabel 2. Rata-rata persentase kontaminasi terhadap konsentrasi BAP, kinetin dan TDZ

| Perlakuan          | Rata-rata |
|--------------------|-----------|
| BAP 1 $\mu$ M      | 70,88     |
| BAP 10 $\mu$ M     | 70,88     |
| Kinetin 1 $\mu$ M  | 79,16     |
| Kinetin 10 $\mu$ M | 83,33     |
| TDZ 1 $\mu$ M      | 66,66     |
| TDZ 10 $\mu$ M     | 87,50     |

Menurut Ariani (2014) gangguan yang sangat umum terjadi dalam kegiatan kultur jaringan adalah kontaminasi. Kontaminasi akan berkembangbiak dengan pesat pada media yang mengandung gula, vitamin dan mineral. Tingkat kontaminasi dipengaruhi oleh sterilisasi yang dilakukan. Kontaminasi dapat disebabkan oleh bakteri maupun jamur. Kontaminasi dicirikan adanya lendir pada eksplan maupun media yang disebabkan oleh bakteri (dapat dilihat pada Gambar 2a) dan kontaminasi yang disebabkan oleh jamur ditandai dengan munculnya hifa pada eksplan maupun media tanam (dapat dilihat pada Gambar 2b).



Gambar 2. Eksplan stevia terkontaminasi bakteri (a) dan eksplan stevia terkontaminasi jamur (b)

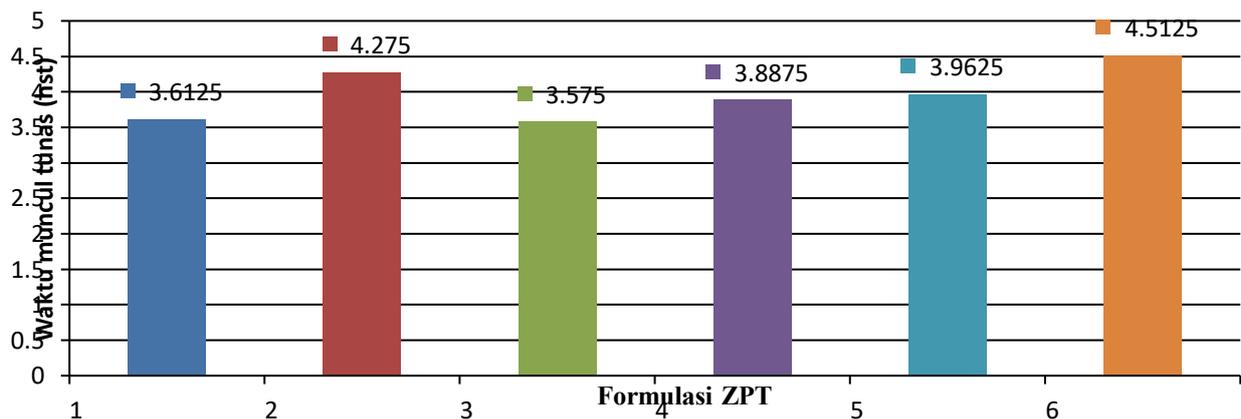
Tahap kontaminasi permukaan yang berbeda, spesies tanaman, komponen yang digunakan, berbulu atau tidak, bagian tumbuhnya, musim waktu mengambil basah/kering, dan kondisi tanamannya (Manurung, 2017). Pada eksplan stevia terdapat bulu-bulu halus, sehingga bahan sterilan sulit terserap oleh eksplan stevia.

### 3.3 Waktu Muncul Tunas

Analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi BAP, kinetin dan TDZ tidak berpengaruh terhadap waktu muncul tunas. Rata-rata waktu muncul tunas terhadap konsentrasi BAP, kinetin dan TDZ dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa kisaran waktu muncul tunas dari semua perlakuan adalah antara 3,58-4,51 hst. Hal ini sejalan dengan penelitian Asmono *et al.* (2017), dimana waktu muncul tunas pada tanaman stevia dengan pemberian sitokinin pada konsentrasi 2 ppm BAP dan 2 ppm kinetin menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada umur tunas yaitu 3,05 hst. Tunas tanaman stevia dapat dilihat pada Gambar 4.

Pembentukan tunas baru pada tanaman stevia secara *in vitro* diduga karena eksplan yang berawal dari buku tumbuhan, dimana mata tunas terdapat pada buku tanaman sehingga tunas dapat muncul di bagian ketiak daun. Anbazhagan *et al.* (2010) menyatakan bahwa eksplan buku stevia pada setiap ketiak daun akan tumbuh membentuk tunas sehingga kemungkinan muncul lebih tinggi.



Keterangan gambar:

s<sub>1</sub>= BAP 1  $\mu$ M

s<sub>2</sub>= BAP 10  $\mu$ M

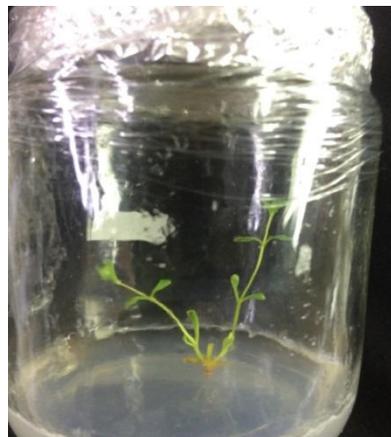
s<sub>3</sub>= Kinetin 1  $\mu$ M

s<sub>4</sub>= Kinetin 10  $\mu$ M

s<sub>5</sub>= TDZ 1  $\mu$ M

s<sub>6</sub>= TDZ 10  $\mu$ M

Gambar 3. Rata-rata waktu muncul tunas terhadap konsentrasi BAP, kinetin dan TDZ



Gambar 4. Eksplan tanaman stevia yang bertunas

Lestari (2010) menyatakan bahwa bibit yang bisa dihasilkan dengan teknik *in vitro* dapat berhubungan baik dengan terbentuknya tunas yang semakin berlimpah. Penambahan ZPT sitokinin dapat memacu multiplikasi tunas yang tinggi. Tunas langsung yang terbentuk dari buku berupa tunas aksilar atau tunas samping, merupakan tunas yang berasal dari calon tunas yang terdapat pada batang. Tunas rangkap (tunas majemuk) yang membentuk secara akurat lebih normal secara genetik dibandingkan dengan tunas tidak tepat.

### 3.4 Jumlah Tunas

Analisis ragam menunjukkan bahwa konsentrasi BAP, kinetin, dan TDZ terdapat pengaruh terhadap jumlah tunas stevia pada umur 4 mst. Rata-rata jumlah tunas stevia terhadap konsentrasi BAP, kinetin, dan TDZ pada umur 1-8 mst dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata jumlah tunas stevia terhadap konsentrasi BAP, kinetin, dan TDZ pada umur 1-8 mst

| Perlakuan          | Jumlah Tunas pada Pengamatan Minggu ke.....(mst) |      |      |         |      |      |      |      |
|--------------------|--|------|------|---------|------|------|------|------|
|                    | 1  | 2    | 3    | 4       | 5    | 6    | 7    | 8    |
| BAP 1 $\mu$ M      | 1,52   | 1,82 | 1,98 | 2,25 ab | 2,70 | 2,50 | 2,00 | 2,00 |
| BAP 10 $\mu$ M     | 1,88   | 2,31 | 2,38 | 2,94 b  | 3,19 | 3,25 | 3,25 | 2,75 |
| Kinetin 1 $\mu$ M  | 1,47   | 1,71 | 1,71 | 1,71 ab | 1,71 | 1,75 | 1,39 | 1,06 |
| Kinetin 10 $\mu$ M | 1,82   | 1,87 | 1,95 | 1,95 ab | 2,00 | 1,87 | 1,95 | 1,45 |
| TDZ 1 $\mu$ M      | 1,58   | 1,69 | 1,83 | 1,42 a  | 2,03 | 1,95 | 1,86 | 1,07 |
| TDZ 10 $\mu$ M     | 1,88   | 2,13 | 2,13 | 2,25 ab | 2,25 | 1,92 | 1,61 | 0,38 |

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT taraf 5%

Berdasarkan Tabel 3, jumlah tunas pada umur 4 mst diketahui bahwa pada perlakuan BAP 10  $\mu$ M sebanyak 2,94 tunas yang berbeda nyata dari perlakuan TDZ 1  $\mu$ M, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Persentase pembentukan tunas semakin bertambah, seperti pemberian BAP 10  $\mu$ M menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan pada perlakuan BAP 1  $\mu$ M. Demikian juga dengan pemberian kinetin 10  $\mu$ M yang menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan kinetin 1  $\mu$ M, dan pemberian TDZ 10  $\mu$ M menghasilkan tunas lebih banyak dibandingkan TDZ 1  $\mu$ M. Hal ini menunjukkan bahwa ZPT sitokinin yang diberikan semakin tinggi konsentrasi maka jumlah tunas semakin meningkat. Hal ini sejalan dengan penelitian Sandria (2016) bahwa jumlah tunas pisang talas pada perlakuan BAP 5 mg L<sup>-1</sup> dengan banyaknya tunas 2,16 buah pada minggu 12 msp (minggu setelah penaburan) lebih tinggi menghasilkan tunas, dibandingkan dengan perlakuan BAP 3 mg L<sup>-1</sup> yang menghasilkan jumlah tunas 1,60 buah pada minggu 12 msp.

Manurung (2017) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi sitokinin yang diberikan maka semakin tinggi persentase pembentukan tunas yang dihasilkan setiap minggunya. Interaksi yang tepat antara media dengan hormon pada eksplan dan ZPT dikarenakan adanya kecepatan pertumbuhan

yang terjadi pada tunas. Menurut Astria (2016), pada media MS yang mengandung  $1 \text{ mg L}^{-1}$  pikloram + TDZ  $0,01-0,2 \text{ mg L}^{-1}$  menyebabkan peningkatan jumlah tunas pisang tanduk.

Pada penelitian ini terjadi perbedaan jumlah tunas pada setiap minggunya, pada semua perlakuan waktu teknik penyusunan organ seperti tunas ada hubungan dengan hormon endogen yang dihasilkan oleh sel-sel tumbuhan dan antara ZPT eksogen yang ditambahkan ke media. BAP dengan konsentrasi yang tinggi meningkatkan jumlah tunas. Hassanen & Khalil (2013) menyatakan bahwa dengan meningkatkan konsentrasi BAP, jumlah tunas stevia juga akan meningkat dari 7,7 sampai 43,9 tunas per eksplan karena aplikasi sitokinin yang diberikan.

Kelebihan BAP diantaranya tahan terhadap degradasi, harganya lebih murah, serta efektivitasnya yang tinggi dalam proses fisiologi tanaman (Yanti, 2008). Semakin banyak peluang calon tanaman maka semakin banyak tunas yang terbentuk. Jumlah tunas merupakan faktor terpenting dalam mutlipikasi tanaman pada kultur *in vitro*. (Amalia, 2008).

Sitokinin berpengaruh terhadap pembelahan sel dalam pertumbuhan jaringan, dominasi apikal dan diferensiasi tunas (Hariadi, 2018). Pada konsentrasi BAP  $10 \mu\text{M}$  menghasilkan jumlah tunas terbanyak dari pada BAP  $1 \mu\text{M}$  pada minggu ke-4, akan tetapi pada minggu ke-6 mulai adanya penurunan karena berkurangnya unsur hara yang tersedia dalam media.

Menurunnya jumlah tunas pada umur 6-8 mst disebabkan oleh berkurangnya nutrisi dalam media, sehingga unsur hara yang tersedia di dalam media tidak mencukupi kebutuhan eksplan. Salah satu cara agar tercukupinya makanan bagi eksplan yaitu dengan cara melakukan subkultur. Subkultur dilakukan agar tanaman tidak mengalami cekaman sehingga proses fisiologis pada eksplan kembali normal. Kristina & Bermawi (1999) menyatakan bahwa eksplan yang mengalami kekurangan nutrisi akan mengalami kemunduran fisiologis yang mengakibatkan sel-sel pada jaringan rusak.

Ariani (2014) menyatakan peningkatan jumlah eksplan bermultiplikasi berbanding lurus dengan jumlah tunas yang dihasilkan. Dewi (2015) menyatakan melakukan subkultur dapat meningkatkan jumlah tunas, hal ini disebabkan karena setiap melakukan subkultur menggunakan media tanam yang baru, sehingga nutrisi untuk eksplan selalu tersedia.

### **3.5 Waktu Muncul Akar dan Jumlah Akar**

Pada penelitian ini penambahan ZPT yang digunakan yaitu BAP, kinetin, dan TDZ untuk memacu pertumbuhan tunas telah diberikan, dan berdasarkan pengamatan tidak menunjukkan adanya pertumbuhan akar. Ni'mah (2018) menyatakan penambahan konsentrasi BAP mengarah menekan pertumbuhan akar. Peningkatan sitokinin akan menyebabkan pembentukan cabang tunas. Sitokinin diperlukan untuk multiplikasi tunas, bila diberikan dalam konsentrasi terutama yang tinggi dapat menghambat inisiasi akar dan pertumbuhan akar.

Dalam penelitian ini hanya memberikan ZPT sitokinin eksogen dalam konsentrasi tertentu yang tidak diimbangi dengan penambahan auksin, sehingga peran kedua hormon tersebut tidak dapat saling melengkapi dalam pembentukan akar dan mengakibatkan tidak memberikan pengaruh pada variabel pembentukan jumlah akar dan akar. Arlianti *et al.* (2013) menyatakan keseimbangan dan interaksi dari ZPT endogen mengendalikan pertumbuhan dan morfogenesis tanaman secara *in vitro*. Setiap tanaman berbeda-beda untuk merespon hormon dengan konsentrasi yang berbeda, karena setiap tanaman memiliki kandungan hormon tanaman itu sendiri.

Bila auksin lebih tinggi dibandingkan sitokinin membuat perbedaan cenderung ke perkembangan akar. Dalam peranannya sebagai penetap aspek perubahan jaringan, pemberian auksin dan sitokinin harus memperhitungkan konsentrasi maupun proporsi dalam media. (Arlianti *et al.* 2013). Pamungkas (2015) menyatakan penyusunan akar berkaitan dengan sitokinin dan auksin endogen pada jaringan tumbuhan, kemudian diikuti dengan proses penambahan dan pemanjangan terhadap sel. Primordiar akar pada eksplan dapat terbentuk akibat terjadinya permeabilitas sel-sel pada eksplan karena makin tingginya konsentrasi pemberian auksin. Peningkatan sitokinin akan mempercepat inisiasi tunas pada eksplan, melainkan akan menghambat pertumbuhan akar.

Tunas atau daun muda yang tumbuh pada eksplan berperan sebagai sumber auksin untuk memacu pertumbuhan awal akar (Ni'mah, 2018). Namun pada penelitian ini akar tidak terbentuk. Tidak munculnya akar saat pengamatan diduga tunas dan daun yang terbentuk pada penelitian ini sedikit sehingga auksin endogen yang terbentuk tidak cukup untuk menginduksi perakaran. Rosmania (2011) menyatakan bahwa tingginya konsentrasi sitokinin dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan tunas dan akar tumbuhan. Semakin tingginya kandungan sitokinin endogen eksplan diduga karena lamanya keberadaan eksplan pada media dengan penambahan sitokinin.

#### 4. KESIMPULAN

Pengaruh jenis sitokinin terhadap inisiasi tunas tanaman stevia secara *in vitro* terdapat pada variabel jumlah tunas umur 4 mst. Serta pada sitokinin yang lebih baik terdapat pada perlakuan BAP 10  $\mu\text{M}$  pada variabel jumlah tunas umur 4 mst yaitu sebesar 2,94 tunas.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A. 2008. Respon Posisi Ruas dari Ujung Batang Anggrek Vanda Genta Bandung pada Beberapa Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh BAP secara *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Anbazhagan, M., M. Kalpana, R. Rajendran, V. Natarajan & D. Dhanavel. 2010. *In Vitro* Production of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Department of Botany, Annamalai University. Annamalainagar, Chidambaram, Tamilnadu, India.
- Ariani, H.D. 2014. Efek Modifikasi Media MS dan Periode Subkultur terhadap Pertumbuhan Pisang Talas (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.) melalui Kultur Jaringan. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Arimarsetiowati, R. 2012. Kultur jaringan tanaman kopi. J. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia 2(24): 13-17. *AgroGreen*: 88-98  
DOI:xxxx /*AgroGreen*.2025

- Arlianti, T., S.F. Syahid, N.N. Kristina & O. Rostiana. 2013. Pengaruh auksin IAA, IBA, dan NAA terhadap induksi perakaran tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) secara *in vitro*. J. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) 12(2): 59-61.
- Astria, R. 2016. Pengaruh Thidiazuron, Pikloram, dan Benziladenin terhadap Regenerasi Tanaman Pisang *In Vitro* Menggunakan Eksplan Ujung Tunas dan Bunga. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Bandar Lampung. Lampung.
- Dewi, M.S. 2015. Multiplikasi Pisang Talas (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.) secara *In Vitro* pada Beberapa Konsentrasi BAP dengan Subkultur Berulang. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Hariadi, H. 2018. Pengaruh Arang Aktif, Benziladenin dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Tunas Jati Soloman (*Tectona grandis* Linn. F) *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian universitas Bandar Lampung. Lampung.
- Hassanen, S.A. & R.M.A. Khalil. 2013. Biotechnological studies for improving of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) *in vitro* plantlets. J. Middle-East of Scientific Research 14(1): 93-106.
- Kariena, R. 2019. Tingkat Keberhasilan Dua Jenis Eksplan Kultur Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) pada Beberapa Sterilan. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Manurung, L.Y.S. 2017. Pengaruh Auksin (2,4-D) dan Sitokinin (BAP) dalam Kultur *In Vitro* Buah Makassar (*Brucea javanica* (L.) Merr.). Skripsi. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor.
- Ni'mah, A. 2018. Multiplikasi Tunas Stevia (*Stevia rebaudiana*) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi BAP secara *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Pamungkas, S.S.T. 2015. Pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap pertumbuhan tunas eksplan tanaman pisang cavendish (*Musa paradisiaca* L.) melalui kultur *in vitro*. J. Politeknik Perekebunan LPP Yogyakarta 2(1): 39-40.
- Rosmania, 2011. Pengaruh perlakuan BA dan NAA terhadap pembentukan akar nenas (*Ananas comosus* (L.) Mers.) cv. Smooth Cayenne secara *in vitro*. J. Universitas Islam Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru 1(2): 37-43.
- Sandria, D.F. 2016. Respon Multiplikasi Pisang Talas (*Musa paradisiaca* var *sapientum* L) pada Media MS dengan Beberapa Konsentrasi BAP. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Sari, N. 2019. Pengaruh Formulasi Auksin dan Sitokinin terhadap Inisiasi Tunas Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) secara *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Syabana, M.A., P. Marianingsih & L. Rohimah. 2017. Induksi dan pertumbuhan kalus tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan perbedaan konsentrasi PEG (*polyethylene glycol*) pada kondisi pencahayaan secara *in vitro*. J. Biodidaktika 12(2): 60-61.
- Yanti, A.A. 2008. Kajian Media Tanam dan Konsentrasi BAP (Benzil Amino Purin) terhadap Pertumbuhan Stek Tanaman Buah Naga Daging Putih (*Hylocereus undatus*). Tesis. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Zulkarnain. 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Bumi aksara. Jakarta.