

Respons Planlet Stevia (*Stevia rebaudiana*) terhadap Penambahan berbagai Konsentrasi Thidiazuron (TDZ) dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) secara *in Vitro*

(Response of Stevia Plantlet [Stevia rebaudiana] to the Addition of Various Concentrations of Thidiazuron [TDZ] and Naphthalene Acetic Acid [NAA] in Vitro)

Muhammad Dimas^{1*}, Wiwik Indrawati², Dedi Supriyatdi²

¹ Program Studi Produksi dan Manajemen Industri Perkebunan Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan Politeknik Negeri Lampung, Jl. Soekarno-Hatta No. 10 Rajabasa, Bandar Lampung, Lampung, 35144, Indonesia, Telp.: (0721) 703995

² Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan Politeknik Negeri Lampung, Jl. Soekarno-Hatta No. 10 Rajabasa, Bandar Lampung, Lampung, 35144, Indonesia, Telp.: (0721) 703995
E-mail: muhammaddimas773.md@gmail.com

ARTICLE INFO

Article history

Submitted: February 4, 2023

Accepted: July 13, 2023

Published: July 26, 2023

Keywords:

concentration,

in vitro,

NAA,

stevia,

TDZ

ABSTRACT

Stevia can be developed by vegetative and generative propagation, while the generative propagation of stevia can be done through seeds. Conventional provision of seeds or seedlings has a low success rate. Propagation via tissue culture is faster, produces more seeds, and is identical to the parent, so the plants' quality is expected. Plant growth regulator (PGR) often used for tissue culture is type auxins, cytokinins and gibberellins. The function of auxin and cytokinin for division cells, cell elongation, cell differentiation and organ formation. This research aims to get the concentration as well as the best combination for the growth of stevia plants against the administration of thidiazuron (TDZ) and naphthalene acetic acid (NAA). Research carried out by the randomised block design (RBD) factorial pattern consisting of two factors: TDZ and NAA. The first factor is TDZ concentration consisting of three levels: 0 mg.l⁻¹ (T₀), 1 mg.l⁻¹ (T₁), and 2 mg.l⁻¹ (T₂). The second factor is NAA concentration, which consists of three levels: 0 mg.l⁻¹ (N₀), 1 mg.l⁻¹ (N₁), and 2 mg.l⁻¹ (N₁). If there is a difference in data analysis using the F test, then proceed with the BNT level test of 5%. Based on the research results obtained, the influence of TDZ growth regulators and no effect of the concentration of NAA growth regulator on stevia bud multiplication book number. There is an effect of TDZ on plantlet height, leaves, and stevia shoot multiplication nodes.



Copyright © 2023 Author(s). This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

PENDAHULUAN

Daun tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) diperkirakan 300 kali lebih manis dari gula tebu (sukrosa) manis daun stevia ini dikarenakan terdapat senyawa glikosida. Daun stevia mengandung glikosida, beberapa rebaudiosida termasuk rebaudiosida A (reb-A) dan dulkosida (Asmono, 2020). Ekstrak halus dari daun tanaman ini digunakan sebagai potensi yang tinggi untuk sumber alami rendah kalori, sehingga aman bagi penderita diabetes dan obesitas. Daun

stevia biasanya digunakan dalam makanan olahan, obat-obatan, dan untuk diet. Tanaman stevia di Indonesia belum menunjukkan peranannya, sebagai salah satu komoditas pemanis alami yang rendah kalori (Limanto, 2017).

Stevia telah dibudidayakan seperti di China, Korea, Malaysia, Taiwan, Israel, Brazil, Thailand, Colombia, Peru, Paraguay, dan Uruguay sebagai salah satu komoditas perdagangan lokal dan ekspor. Jepang merupakan pengkonsumsi stevia paling besar dibandingkan negara lain yaitu pemasok 40% dari seluruh pasar pemanis di Jepang. Tanaman stevia di Indonesia memiliki prospek yang cerah, khususnya bagi penderita diabetes, maka dari itu tanaman stevia ini bisa menjadi solusi di dalam negeri (Ni'mah, 2018).

Stevia dapat dikembangkan dengan perbanyakan vegetatif dan generatif perbanyakan vegetatif stevia dapat dilakukan melalui setek batang, sedangkan perbanyakan generatif dari stevia dapat dilakukan melalui benih (Hadiyana & Syabana, 2015). Perbanyakan vegetatif stevia dengan setek batang menghasilkan jumlah yang terbatas karena rendahnya jumlah individu yang dapat diperoleh dari satu tanaman, sedangkan perbanyakan generatif dengan benih menghasilkan jumlah yang rendah, karena kemampuan benih stevia untuk berkecambah sangatlah rendah.

Penyediaan benih konvensional melalui benih memiliki tingkat keberhasilan rendah, sedangkan perbanyakan dengan setek batang dan pucuk akan menghasilkan tanaman yang tidak identik pada kualitas tanaman yang diharapkan. Perbanyakan melalui kultur jaringan lebih cepat, menghasilkan lebih banyak bibit, dan identik sehingga didapatkan kualitas tanaman yang diharapkan (Dinarti et al., 2010; Dewanti, 2018; Habibah et al., 2021). Umumnya, ZPT sering digunakan untuk kultur jaringan adalah jenis auksin, sitokinin, dan giberelin (Lestari, 2010; Abbas, 2011; Harahap, 2018; Immalasari, 2018). Beberapa jenis auksin dapat dikombinasikan dengan kelompok sitokinin dan giberelin. Fungsi auksin dan sitokinin untuk pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel dan pembentukan organ (Pamungkas & Nopiyanto, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi thidiazuron (TDZ) dan naphthalene acetic acid (NAA) terbaik untuk pertumbuhan tanaman stevia secara *in vitro*, mendapatkan kombinasi terbaik antara berbagai konsentrasi TDZ dan NAA pada pertumbuhan stevia secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Politeknik Negeri Lampung dengan ketentuan suhu ruangan penyimpanan yaitu 16 °C yang telah dilaksanakan pada bulan September 2021 sampai bulan Desember 2021. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah laminar air flow cabinet, gelas ukur, gelas piala, pipet, petridish, autoclave, timbangan analitik, erlenmayer, magnetic stirrer, pengaduk kaca, pinset, scalpel, lampu spiritus, hand sprayer, pH meter, pisau, botol kultur, kompor gas, labu ukur, tabung reaksi, karet plastik, panci, gunting, aluminium foil, alat tulis, dan perlengkapan pencucian yang mendukung kegiatan dalam penelitian kultur jaringan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah planlet stevia, media MS, TDZ, NAA, alkohol, tepung agar, aquades steril, deterjen, karet gelang, alkohol, tepung agar, kertas label, dan bahan-bahan lain yang mendukung penelitian ini.

Penelitian menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola yang terdiri dari dua faktor yaitu TDZ dan NAA. Faktor pertama pemberian TDZ (faktor A) dan faktor kedua NAA (faktor B). Aplikasi TDZ terdiri atas tiga taraf dan aplikasi NAA terdiri atas tiga taraf, sehingga

terdapat sembilan kombinasi perlakuan dengan tiga kali ulangan. Penelitian ini terdiri atas 27 satuan percobaan. Setiap unit percobaan terdiri atas 3 botol kultur yang masing-masing terdiri terhadap tiga eksplan. Pemberian NAA terdiri dari 3 taraf, yaitu: NAA 0 mg.l⁻¹ (N₀), NAA 1 mg.l⁻¹ (N₁), dan NAA 2 mg.l⁻¹ (N₂). Pemberian TDZ terdiri dari tiga taraf, yaitu: TDZ 0 mg.l⁻¹ (T₀), TDZ 1 mg.l⁻¹ (T₁), dan TDZ 2 mg.l⁻¹ (T₂).

Pengamatan dilakukan dengan melihat pertumbuhan planlet stevia yang terbaik, dari hasil perbedaan perlakuan media yang diberikan. Hal ini akan diperoleh media yang optimal pada pertumbuhan planlet stevia dan dilakukan setek multiplikasi kembali secara *in vitro* dengan menggunakan media yang optimal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh TDZ dan NAA pada Pertumbuhan Tinggi Planlet Stevia

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap tinggi planlet stevia. Analisis data menunjukkan bahwa perlakuan pemberian TDZ memberikan pengaruh sangat nyata pada tinggi planlet pada umur 60 HST. Hasil uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata tinggi planlet stevia akibat pemberian TDZ dan NAA

Konsentrasi TDZ	Konsentrasi NAA			Rerata
	0 mg.l ⁻¹	1 mg.l ⁻¹	2 mg.l ⁻¹	
	----- tinggi planlet (cm) -----			
0 mg.l ⁻¹	2,78	2,22	2,78	2,59 ^a
1 mg.l ⁻¹	0,89	1,00	1,56	1,15 ^b
2 mg.l ⁻¹	1,67	1,33	1,67	1,57 ^c
Rerata	1,78	1,52	2,00	

Keterangan: Angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%

Hasil analisis (Tabel 1) menunjukkan media kultur dengan penambahan atau tanpa penambahan TDZ dan NAA menunjukkan pengaruh yang nyata pada tinggi planlet stevia. Pada perlakuan kontrol diperoleh hasil rata-rata terbaik 2,59 cm, dibandingkan media dengan perlakuan TDZ dan NAA. Kesimpulan ini diambil setelah melihat respons pertumbuhan tunas stevia pada hari ke 30 HST, meskipun terlihat adanya respons pertumbuhan tunas stevia sebelum 30 hari tetapi belum dihitung karena belum memenuhi syarat 80% dari pertumbuhan sampel.

Pada perlakuan T₁N₁ (TDZ 1 mg.l⁻¹ dan NAA 1 mg.l⁻¹) memiliki rerata terkecil pada umur 30 HST yaitu 1,0 cm dan pada 60 HST yaitu 1,58 cm sehingga lebih kecil dari perlakuan lainnya. Perlakuan T₀N₂ (TDZ 0 mg.l⁻¹ dan NAA 2 mg.l⁻¹) memiliki rerata tertinggi dibanding perlakuan lainnya, pada umur 30 HST sebesar 2,78 cm dan 60 HST sebesar 2,79 cm. Hal ini disebabkan karena TDZ dan NAA 2 mg.l⁻¹ adalah senyawa yang mirip dengan sitokinin yang dapat menginduksi perbanyakan tunas lebih cepat dari pada sitokinin jenis lain dan mempunyai pengaruh yang sangat cepat dalam menumbuhkan eksplan (Asmono et al., 2018). Penambahan TDZ dapat memicu frekuensi regenerasi pada tinggi stevia secara *in vitro* karena dapat menginduksi pembelahan sel secara cepat (Madhusudhanan et al., 2000; Sakinah, 2017).

Pengaruh TDZ dan NAA pada Pertumbuhan Jumlah Daun Stevia

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah daun stevia. Analisis data menunjukkan bahwa perlakuan pemberian TDZ memberikan pengaruh nyata pada jumlah daun pada umur 60 HST. Hasil analisis menunjukkan media kultur dengan penambahan atau tanpa penambahan TDZ dan NAA menunjukkan pengaruh yang nyata pada jumlah daun stevia (Tabel 2).

Tabel 2. Rerata jumlah daun planlet stevia akibat pemberian TDZ dan NAA

Konsentrasi TDZ	Konsentrasi NAA			Rerata
	0 mg.l ⁻¹	1 mg.l ⁻¹	2 mg.l ⁻¹	
	----- jumlah daun (helai) -----			
0 mg.l ⁻¹	2,73	2,45	2,79	2,66 ^a
1 mg.l ⁻¹	1,90	1,58	1,58	1,69 ^b
2 mg.l ⁻¹	1,58	1,58	1,58	1,58 ^b
Rerata	2,07	1,87	1,99	

Keterangan: Angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%

Pada perlakuan kontrol diperoleh hasil rata-rata terbaik 2,66 cm, dibandingkan media dengan pemberian TDZ dan NAA. Hasil ini didapatkan setelah melihat respons pertumbuhan jumlah daun stevia pada hari ke 30 HST, meskipun terlihat adanya respons pertumbuhan jumlah daun stevia sebelum 30 hari tetapi belum dihitung karena belum memenuhi syarat 80% dari pertumbuhan sampel. Pada perlakuan pemberian TDZ dengan konsentrasi 1 mg.l⁻¹ dan 2 mg.l⁻¹ menghasilkan rerata jumlah daun yang lebih kecil pada umur 30 HST sebesar 0,0 helai dan pada umur 60 HST dengan perlakuan yang sama sebesar 1,58 dibanding dengan pemberian perlakuan yang lain. Perlakuan T₀N₂ memiliki rerata tertinggi pada umur 30 HST sebesar 2,3 helai dan pada umur 60 HST sebesar 2,79 helai sehingga lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya. Hal ini karena pada konsentrasi antara sitokinin dan auksin merupakan salah satu cara tumbuhan dalam mengatur pertumbuhan akar dan tunas, dari penjelasan diatas dapat disimpulkan sitokinin dalam konsentrasi tinggi akan menghambat kerja dari auksin bila tidak seimbang dalam pemberian yang dibutuhkan tanaman (Mahadi et al., 2015; Rahman et al., 2021). Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh media yang mengandung thidiazuron (TDZ) memiliki konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan naphthalene acetic acid (NAA) dan menunjukkan respons tumbuh yang baik pada daun stevia.

Pengaruh TDZ dan NAA pada Pertumbuhan Jumlah Buku Stevia

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah buku stevia. Analisis data menunjukkan bahwa perlakuan pemberian TDZ memberikan pengaruh sangat nyata pada jumlah buku pada umur 60 HST. Hasil analisis (Tabel 3) menunjukkan bahwa media kultur dengan penambahan atau tanpa penambahan TDZ dan NAA menunjukkan pengaruh yang nyata pada jumlah buku stevia. Pada perlakuan kontrol diperoleh hasil rata-rata terbaik 3,59, lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian TDZ dan NAA. Hasil ini nampak setelah melihat respons pertumbuhan jumlah buku planlet stevia pada hari ke-30 HST, meskipun terlihat adanya respons pertumbuhan jumlah daun stevia sebelum 30 hari tetapi belum dihitung karena belum memenuhi syarat 80% dari pertumbuhan sampel. Perlakuan T₁N₁ memiliki rerata terkecil pada umur 30 HST yaitu 0,20 dan pada 60 HST yaitu 0,22, lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan T₀N₂

mg.l⁻¹ memiliki rerata tertinggi dibanding perlakuan lainnya, pada umur 30 HST sebesar 3,90 cm dan 60 HST sebesar 3,89 cm. Hal ini disebabkan karena dengan adanya penambahan TDZ dan NAA 2 mg.l⁻¹ akan menunjukkan efektivitas hasil dalam pembentukan kalus yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya. Selisih yang sangat kecil membuktikan bahwa pemberian TDZ dengan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan NAA diduga memberikan hasil optimal dalam induksi kalus eksplan stevia (Mirah et al., 2021).

Tabel 3. Rerata jumlah buku planlet stevia akibat pemberian TDZ dan NAA

Konsentrasi TDZ	Konsentrasi NAA			Rerata
	0 mg.l ⁻¹	1 mg.l ⁻¹	2 mg.l ⁻¹	
	----- jumlah buku -----			
0 mg.l ⁻¹	3,44	3,44	3,89	3,59 ^a
1 mg.l ⁻¹	1,45	0,22	1,89	1,19 ^b
2 mg.l ⁻¹	1,67	2,67	2,78	2,37 ^c
Rerata	2,19	2,11	2,85	

Keterangan: Angka-angka pada baris dan kolom yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda nyata menurut uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5%

TDZ merupakan zat pengatur tumbuh jenis sitokinin yang mana fungsinya untuk memacu pertumbuhan tunas dan kalus (tunas samping). NAA merupakan zat pengatur tumbuh jenis auksin dengan tujuan pemakaian untuk merangsang tunas pucuk aksilar adventif atas (Restiani et al., 2016; Manullang, 2019). Interaksi antara TDZ dan NAA sebagai zat pengatur tumbuh sitokinin dalam konsentrasi tinggi akan menghambat kerja dari auksin mengakibatkan tidak tumbuhnya tunas, buku, dan daun (membentuk kalus) (Mendrofa et al., 2021).

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh TDZ yang menurunkan peubah pertumbuhan planlet stevia dan tidak terdapat pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA pada tinggi, jumlah daun, dan jumlah buku multiplikasi tunas stevia. Tidak terdapat pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh TDZ dan NAA pada pembentukan kalus stevia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. (2011). *Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan*. Alfabeta.
- Asmono, S. L. (2020). In vitro regeneration of *Stevia rebaudiana* Bertoni from internode and leaf explants using different concentrations of BAP (6-Benzyl Amino Purine). *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 411, No. 1, p. 012004). IOP Publishing.
- Asmono, S. L., Sari, V. K., & Wardana, R. (2018). Respons pertumbuhan tunas mikro stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) secara in vitro pada beberapa jenis sitokinin dan konsentrasi air kelapa. *Agrin*, 21(2), 146-154.
- Dewanti, P. (2018). *Teknik Kultur Jaringan Tanaman: Prinsip Umum dan Metode Aplikasi di Bidang Bioteknologi Pertanian*. Universitas Jember.
- Dinarti, D., Sayekti, U., & Alitalia, Y. (2010). Kultur Jaringan Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*). *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 1(2), 59-65.

- Habibah, N. A., Rahayu, E. S., & Anggraito, Y. U. (2021). *Buku Ajar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Deepublish.
- Hadiyana, A., & Syabana, M. A. (2015). Iniasi tunas secara kultur jaringan pada stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dengan konsentrasi indole butyric acid (IBA) and benzyl amino purine (BAP) yang berbeda. *Jurnal Agroekoteknologi*, 7(2), 147-152.
- Harahap, R. A. (2018). *Pengaruh Pemberian NAA (Naphtalene Aceitc Acid) dan TDZ (Thiadiazurone) terhadap Pertumbuhan Planlet Tanaman Kentang (Solanum tuberosum L.)* [Unpublished undergraduate thesis, Univeritas Muhammadiyah Sumatera Utara].
- Immallasari, R. N. (2018). *Variasi Media dan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh TDZ pada Induksi Kalus Pucuk Jati (Tectona grandis) secara In Vitro* [Unpublished undergraduate thesis, Universitas Hasanuddin].
- Lestari, E. 2010. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal Agrobioteknologi*, 7(1), 63-68.
- Limanto, A. (2017). Stevia, pemanis pengganti gula dari tanaman *Stevia rebaudiana*. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 23(61), 1-12. <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v23i61.1466>
- Madhusudhanan, K., & Rahiman, B. A. (2000). The effect of activated charcoal supplemented media to browning of in vitro cultures of Piper species. *Biologia Plantarum*, 43(2), 297-299.
- Mahadi, I., Syafi'i, W., & Agustiani, S. (2015). Kultur jaringan jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) dengan menggunakan hormon kinetin dan naftalen acetyl acid (NAA). *Dinamika Pertanian*, 30(1), 37-44.
- Manullang, A. 2019. *Pengaruh Pemberian Jenis Sitokinin dan Auksin terhadap Pembentukan Tunas Mikro Lili Putih (Lilium longiflorum Thunb. var. Liani)* [Unpublished undergraduate thesis, Universitas HKBP Nommensen].
- Mirah, T., Undang, U., Sunarya, Y., & Ermayanti, T. M. (2021). Pengaruh konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap pertumbuhan eksplan buku stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) Tetraploid. *Media Pertanian*, 6(1), 1-11
- Mendrofa, F. N. E., Saputro, N. W., & Afifah, L. (2021). Induction shoots from callus of cucumber apple (*Cucumis* sp.) using a combination of benzil amino purine and naphtalene acetic acid concentrations in vitro. *Jurnal Mangifera Edu*, 5(2), 103-120.
- Ni'mah, A. (2018). *Multiplikasi Tunas Stevia (Stevia rebaudiana) pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi 6-Benzyl Amino Purin (BAP) secara In Vitro* [Unpublished undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Malik Ibrahim].
- Pamungkas, S. S. T., & Nopiyanto, R. (2020). Pengaruh zat pengatur tumbuh alami dari ekstrak tauge terhadap pertumbuhan pembibitan budchip tebu (*Saccharum officinarum* L.) varietas Bululawang. *Mediagro*, 16(1), 68-80.
- Rahman, N., Fitriani, H., Rahman, N., & Hartati, N. S. (2021). Pengaruh beragam zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus organogenik dari ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) Genotipe Gajah dan Kuning. *Jurnal Ilmu Dasar*, 22(2), 119-126.
- Restiani, R., Semiarti, E., & Indrianto, A. (2016). Konservasi anggrek hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) melalui mikropropagasi pada berbagai medium kultur. *Prosiding Simposium Nasional Pendidikan Biologi (Symbion 2016)*, 27, 393-404.

Sakinah, N. A. (2017). *Pengaruh Kombinasi 2, 4 D dan Thidiazuron (TDZ) terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Legundi (Vitex trifolia Linn) pada Media MS* [Unpublished undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim].

