

**PENGARUH KONSENTRASI SITOKININ DAN JENIS MEDIA TERHADAP
PERTUMBUHAN EKSPLAN BUKU STEVIA
(*Stevia rebaudiana* Bert.) TETRAPLOID**

**THE EFFECT OF CYTOKININ AND TYPE OF MEDIA ON GROWTH OF
INTERNODE EXPLANTS OF STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bert.)
TETRAPLOID**

Teja Mirah¹, Undang¹, Yaya Sunarya¹, Tri Muji Ermayanti²

¹Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi, Jln. Siliwangi No. 24,
Tasikmalaya 46115

²Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jalan Raya Bogor Km 46 Cibinong, 16911

Korespondensi : mirahteja11@gmail.com

ABSTRAK

Stevia adalah tanaman mengandung pemanis alami *steviol glukosida* yang mempunyai kadar manis 70-400 kali lebih tinggi dibandingkan dari gula tebu. Perbanyakkan stevia dapat dilakukan dengan kultur jaringan untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terbaik antara konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap pertumbuhan eksplan buku stevia tetraploid. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 2 faktor dimana faktor pertama adalah konsentrasi sitokinin dengan 12 taraf yaitu kontrol, Kinetin 0,25; 0,5; 0,75 mg/L kombinasi dengan BAP 1; 2 mg/L dan faktor kedua adalah jenis media dengan 2 taraf yaitu MS dan DKW. Setiap perlakuan mempunyai 12 ulangan. Data dianalisis menggunakan sidik ragam dengan uji F dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap semua parameter pertumbuhan. Penambahan BAP 1 mg/L pada media DKW menghasilkan tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah tunas lateral lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya dengan rata-rata tinggi tunas 10,63, rata-rata jumlah daun 111,17 dan rata-rata jumlah tunas lateral 23,42. Kinetin 0,25 mg/L dan kontrol pada media MS serta kombinasi Kinetin 0,5 mg/L dan kontrol pada media DKW menghasilkan jumlah akar lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya. Kinetin 0,25 mg/L pada media MS menghasilkan akar lebih banyak yaitu 6,50.

Kata kunci: Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.), Pertumbuhan *in vitro*, Sitokinin, Media MS dan DKW.

ABSTRACT

Stevia is a plant containing the natural sweetener steviol glucoside which has a sweet content 70-400 times higher than sugar cane. Propagation of stevia can be done by tissue culture to increase the growth and development of explants. This study aimed to determine the effect of cytokinin concentration and the type of media that have the best effect on the growth of tetraploid stevia internode explants. The study used a completely randomized design with a factorial pattern with 2 factors where the first factor was the concentration of cytokines with 12 levels control, Kinetin 0,25; 0,5; 0,75 mg/L combined with BAP 1; 2 mg/L, and the second factor was the type of media with 2 levels MS and DKW. Each treatment had 12 replicates. Data were analyzed using variance with F test followed by Duncan's Multiple Range Test at 5%. The results showed that there was an interaction between the type of cytokinin concentration and the type of media on all growth parameters. BAP 1 mg/L added on DKW media produced shoot height, number of leaves and number of lateral shoots better than other treatments with an average shoot height of 10,63, an average number of leaves 111,17 and an average number of lateral shoots 23,42. Kinetin 0,25 mg/L and control on MS media and Kinetin combination 0,5 mg/L and control on DKW media produced a higher number of roots than other treatments with Kinetin 0,25 mg/L on MS medium had more roots with an average of 6,50.

Keywords: Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.), *in vitro* growth, Cytokinins, MS and DKW Media.

PENDAHULUAN

Stevia rebaudiana Bert. adalah spesies dari keluarga Asteraceae mengandung pemanis alami. Daun tanaman stevia menghasilkan rasa manis 70-400 kali lebih tinggi dibandingkan dengan gula tebu (Yadav, 2011) sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengganti gula tebu (Geuns, 2003).

Tanaman stevia dapat berguna untuk penderita diabetes (Beneford *et al*, 2006) dan untuk membantu mengontrol berat badan (Djajadi, 2014) karena mempunyai indeks glikemik nol (Kusuma, 2020). Stevia juga dilaporkan bermanfaat sebagai bahan antiseptik (Seema, 2010) dan antioksidan (Thomas dan Glade, 2010). Oleh karena banyak manfaatnya, stevia mempunyai nilai komersial tinggi (Chiew *et al*, 2016).

Perbanyakan stevia secara alami menggunakan biji namun viabilitas dan vigor benih stevia rendah. Kultur jaringan merupakan metode perbanyakan tanaman di laboratorium yang diharapkan menghasilkan bibit baru dalam jumlah

banyak dan dalam waktu relatif singkat. Tanaman baru yang dihasilkan mempunyai sifat-sifat sama dengan induknya. (Rantau *et al*, 2017).

Keberhasilan pertumbuhan eksplan ditentukan oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan pada media (Abbas, 2011). Beberapa ZPT yang pernah dipergunakan kultur stevia adalah BAP, Kinetin, TDZ (Sepdian, 2017), NAA dan 2,4-D (Buana, 2018). Media MS (Murashige & Skoog) pada umumnya digunakan sebagai media dasar pada kultur *in vitro* stevia. (Sumaryono dan Sinta, 2011) sedangkan media DKW masih belum banyak digunakan.

Dalam beberapa hal, stevia tetraploid lebih unggul dibandingkan diploidnya (Sinta *et al*, 2018; Zhang, 2018). Tanaman tetraploid memiliki penampilan morfologi lebih baik dibandingkan dengan tanaman diploidnya sehingga menghasilkan biomassa lebih tinggi dan menghasilkan kadar metabolit sekunder lebih tinggi. (Zhang; 2018; Al- Hafiizh dan Ermayanti, 2019). Perbanyakan stevia tetraploid secara

kultur jaringan telah banyak dilakukan (Sinta *et al*, 2017; Zhang, 2018; Adabiyah; 2019; Al Hafiih dan Ermayanti, 2019) namun perlu optimalisasi media untuk mendapatkan pertumbuhan yang lebih baik.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Bogor, Jawa Barat.

Peralatan yang digunakan antara lain, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), *dissecting set*, *autoclave*, pH meter, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan analitik, mistar, bunsen, pipet tetes, botol kultur, korek api, *tissue*, kamera, masker, dan *hot plate*.

Bahan yang digunakan adalah eksplan tunas buku *in vitro* stevia tetraploid klon B-60 berumur 4-6 minggu, ZPT sitokinin (Kinetin dan BAP), alkohol 70%, *aquadest*, media MS (Murashige & Skoog, 1962) (Caisson No Catalog MSP09), media DKW (Driver and Kuniyaki Walnut) (Caisson No Catalog DKP02), gula, dan agar.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen dengan rancangan percobaan RAL (Rancangan Acak Lengkap) pola faktorial dengan 2 faktor dan 12 ulangan.

Faktor pertama adalah konsentrasi sitokinin (s) yang terdiri dari 12 taraf yaitu kontrol, Kinetin 0,25, 0,5; 0,75 mg/L kombinasi dengan BAP 1 ; 2 mg/L. Faktor kedua adalah jenis media (m) yang terdiri dari 2 taraf, yaitu: m1 = MS dan m2 = Media DKW.

Eksplan buku/ruas batang *in vitro* dikeluarkan dari media MS, dipotong sepanjang sekitar 1,5 cm (memiliki 1 buku dan 2 daun) kemudian ditanam pada media perlakuan. Kultur diinkubasi di dalam ruang kultur pada suhu $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan intensitas

cahaya 1000 ± 200 lux selama 6 minggu. Pengamatan dilakukan setiap minggu sampai dengan 6 minggu setelah tanam. Parameter yang diamati adalah tinggi tunas, jumlah daun, jumlah tunas lateral dan jumlah akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh konsentrasi sitokinin terhadap tinggi tunas, jumlah daun, jumlah tunas lateral dan jumlah akar berbeda nyata. Pengaruh jenis media terhadap tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah tunas lateral berbeda nyata tetapi tidak berbeda nyata terhadap jumlah akar. Terdapat interaksi antara jenis media (MS dan DKW) dengan konsentrasi sitokinin (Kinetin dan BAP) untuk semua parameter pertumbuhan (Tabel 1).

Tinggi Tunas

Tabel 2 menunjukkan bahwa jenis media terhadap sitokinin 0 (kontrol), Kinetin 0,25 dan 0,5 mg/L tidak berbeda nyata namun berbeda nyata terhadap Kinetin 1 mg/L, BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP. Perlakuan dengan media DKW lebih baik dibandingkan dengan media MS.

Pada media MS, Kinetin 1 mg/L tidak berbeda nyata sedangkan BAP 1 dan 2 mg/L dan kombinasi Kinetin dengan BAP berbeda nyata dengan kontrol, Kinetin 0,25 dan 0,5 mg/L. Kontrol media MS merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya, sedangkan pada media DKW perlakuan kontrol, Kinetin 0,25 dan 0,5 mg/L, BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP berbeda nyata kecuali BAP 2 mg/L + Kinetin 1 mg/L dan Kinetin 1 mg/L tidak berbeda nyata. Penambahan BAP 1 mg/L merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya pada media DKW. Media DKW dengan penambahan

BAP 1 mg/L memberikan tunas lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan

lainnya baik pada media MS maupun media DKW.

Tabel 1. Anova pada setiap parameter pengamatan tunas stevia umur 6 MST.

No.	Parameter	F hitung & Signifikasi			CV (%)
		Media	Sitokinin	Media x Sitokinin	
1.	Tinggi Tunas (cm)	286,44*	10,91*	6,77*	40,64
2.	Jumlah Daun (helai)	269,81*	12,95*	13,81*	57,94
3.	Jumlah Tunas Lateral	230,92*	22,77*	13,93*	56,51
4.	Jumlah Akar	0,23 ^{ns}	51,01*	5,71*	1,05

Keterangan : * : signifikan pada taraf α : 5%
ns : nonsignifikan

Meningkatnya tinggi tunas *S. rebaudiana* pada media DKW disebabkan sebagian besar unsur hara makro antara lain N, P, K, C, H, O, S, Ca, dan Mg dan vitamin (Thiamin-HCl, Nicotinic acid) lebih tinggi dibandingkan pada media MS (Aviles *et al*, 2009 dalam Al Hafiih dan Ermayanti, 2019). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi hara pada media DKW lebih cocok untuk pertumbuhan stevia dibandingkan dengan unsur hara pada media MS sehingga lebih banyak memenuhi kebutuhan unsur hara tanaman stevia

Media DKW juga memiliki kalsium tinggi dalam bentuk $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ sebesar 1367 mg/L dan $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebesar 112,5 mg/L yang lebih tinggi dibandingkan pada media MS yang hanya memiliki unsur kalsium dalam bentuk $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebesar 332,2 mg/L. Kalsium berperan dalam pembentukan sel tanaman, sedangkan nitrat memberikan efek yang baik dalam membantu penyerapan nutrisi karena mudah larut dalam air. (Nursetiadi, 2016).

Pada komposisi hara makro media DKW, unsur N lebih tinggi dibandingkan dengan media MS. Unsur N berperan penting dalam pembentukan asam amino di dalam sel. Jumlah asam amino yang cukup mengakibatkan proses metabolisme pada tumbuhan menjadi tidak terhambat. (George dan Sherington, 1984).

Pada penelitian ini perlakuan media MS kontrol memberikan tunas paling tinggi di antara media MS dengan penambahan sitokinin. Penambahan sitokinin memperlambat pertumbuhan tinggi tunas. Media DKW merupakan media yang baik untuk pertumbuhan tinggi tunas stevia, hal ini dibuktikan dengan tunas pada media DKW kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan tunas pada media MS kontrol. Penambahan BAP 1 mg/L pada media DKW memberikan tunas tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena setiap tanaman memerlukan ambang unsur hara yang berbeda yang dapat ditoleransi oleh tanaman.

Adanya sitokinin endogen pada eksplan mampu mendorong pembentukan tunas sehingga memerlukan sitokinin yang tidak terlalu tinggi, hal ini berkaitan dengan keseimbangan antara auksin dan sitokinin yang terdapat pada eksplan (Nursetiadi, 2016). Hasil penelitian Sepdian (2017) tentang multiplikasi tunas stevia pada media MS dengan penambahan jenis sitokinin berbeda menunjukkan bahwa BAP memiliki kemampuan menginduksi tunas terbaik dibandingkan dengan Kinetin dan TDZ.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap tinggi tunas *S. rebaudiana* tetraploid umur 6 MST (cm).

Konsentrasi Sitokinin (mg/L)	Jenis Media	
	MS	DKW
Kontrol	9,59 c A	10,01 cd A
Kinetin 0,25	8,40 bc A	7,95 abc A
Kinetin 0,5	7,06 b A	8,66 abc A
Kinetin 1	3,29 a A	6,59 a B
BAP 1	3,03 a A	10,63 d B
BAP 1 + Kinetin 0,25	1,73 a A	9,18 bcd B
BAP 1+ Kinetin 0,5	2,07 a A	8,78 abcd B
BAP 1 + Kinetin 1	1,82 a A	9,82 cd B
BAP 2	2,09 a A	8,09 abc B
BAP 2+ Kinetin 0,25	1,63 a A	7,49 ab B
BAP 2 + Kinetin 0,5	2,03 a A	7,49 ab B
BAP 2 + Kinetin 1	2,10 a A	6,9 a B

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf besar yang sama pada baris yang sama dan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Jumlah Daun

Tabel 3 menunjukkan bahwa faktor jenis media terhadap konsentrasi sitokinin pada konsentrasi 0 (kontrol), Kinetin 0,25, 0,5 dan 1 mg/L tidak berbeda nyata namun berbeda nyata pada konsentrasi BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan

BAP. Media DKW merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan dengan media MS.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap jumlah daun tunas *S rebaudiana* tetraploid umur 6 MST

Konsentrasi Sitokinin (mg/L)	Jenis Media	
	MS	DKW
Kontrol	18,73 a A	20,17 a A
Kinetin 0,25	19,33 a A	18,67 a A
Kinetin 0,5	17,78 a A	16,33 a A
Kinetin 1	13,67 a A	22,33 a A
BAP 1	14,27 a A	111,17 e B
BAP 1 + Kinetin 0,25	11,00 a A	74,67 d B
BAP 1 + Kinetin 0,5	12,17 a A	66,83 bcd B
BAP 1 + Kinetin 1	18,08 a A	77,67 d B
BAP 2	15,33 a A	73,08 cd B
BAP 2 + Kinetin 0,25	12,33 a A	56,17 bc B
BAP 2 + Kinetin 0,5	16,83 a A	80,33 d B
BAP 2 + Kinetin 1	21,08 a A	53,33 b B

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf besar yang sama pada baris yang sama dan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Semua konsentrasi sitokinin pada media MS tidak berbeda nyata, sedangkan pada media DKW pada konsentrasi kontrol,

Kinetin 0,25, 0,5 dan 1 mg/L tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan konsentrasi BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP. Pada media DKW, penambahan BAP 1 mg/L merupakan perlakuan lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Penambahan BAP 1 mg/L pada media DKW juga merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya.

Pada penelitian ini, penambahan sitokinin pada media MS tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah daun stevia. Penambahan BAP maupun kombinasi Kinetin dengan BAP pada media DKW merangsang pertumbuhan jumlah daun lebih banyak dibandingkan dengan penambahan Kinetin. Media DKW dengan penambahan Kinetin saja tidak dapat merangsang pertumbuhan jumlah daun stevia.

Penambahan BAP pada media DKW merangsang pertumbuhan jumlah daun lebih maksimal. Hal ini dikarenakan media DKW lebih banyak komposisi unsur hara dibandingkan dengan media MS sehingga lebih banyak memenuhi kebutuhan unsur hara tanaman terutama untuk komposisi hara makro seperti unsur N, Ca, dan Mg.

Menurut George dan Sherington (1984) unsur N diketahui berperan penting dalam pembentukan asam amino di dalam sel. Adanya asam amino yang cukup mengakibatkan proses metabolisme pada tumbuhan menjadi tidak terhambat. Nitrogen berfungsi untuk pembentukan daun. Unsur magnesium berperan dalam fotosintesis (Ni'mah, 2018). Menurut Hendaryono dan Wijayanti (1994) Magnesium dapat meningkatkan kandungan fosfat dalam tanaman yang berfungsi sebagai bahan mentah dalam pembentukan sejumlah protein. Terbentuknya protein membuat proses metabolisme dalam sel tumbuhan akan baik dan membuat pertumbuhan daun pun akan baik.

Sementara unsur kalsium berfungsi untuk membentuk dinding sel.

Mineral seperti unsur hara makro antara lain N, P, K, C, H, O, S, Ca, dan Mg serta unsur hara mikro seperti adalah Fe, B, Mn, Cu, Zn, Mo, dan Cl dan vitamin sebagai komponen dasar dari media kultur mempunyai peran penting dalam mempercepat pertumbuhan dan perkembangan jaringan serta kualitas morfogenesis jaringan (Narulita, 2018). Menurut Acima (2006) daun merupakan organ vegetatif, pertumbuhannya dipengaruhi oleh kandungan nitrogen dalam media. Media DKW mempunyai unsur hara lebih banyak dibandingkan dengan media MS sehingga memberikan jumlah daun lebih banyak.

Jumlah Tunas Lateral

Tabel 4 menunjukkan bahwa faktor jenis media terhadap konsentrasi sitokinin pada konsentrasi 0 (kontrol), Kinetin 0,25, 0,5 dan 1 mg/L tidak berbeda nyata namun berbeda nyata pada konsentrasi BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP. Media DKW merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan dengan media MS.

Sitokinin pada media MS tidak berbeda nyata pada semua perlakuan sedangkan pada media DKW pada konsentrasi 0 (kontrol), Kinetin 0,25, 0,5 dan 1 mg/L tidak berbeda nyata namun berbeda nyata pada BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP. Penambahan BAP 1 mg/L merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi lainnya pada media DKW. Penambahan BAP 1 mg/L pada media DKW juga merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya baik pada media MS maupun DKW.

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap jumlah tunas lateral tunas *S. rebaudiana* tetraploid umur 6 MST

Konsentrasi Sitokinin (mg/L)	Jenis Media	
	MS	DKW
Kontrol	1,91 a A	1,75 a A
Kinetin 0,25	2,33 a A	2,50 a A
Kinetin 0,5	2,11 a A	2,00 a A
Kinetin 1	3,08 a A	2,83 a A
BAP 1	2,73 a A	23,42 e B
BAP 1 + Kinetin 0,25	4,00 a A	17,11 cd B
BAP 1 + Kinetin 0,5	3,42 a A	12,83 b B
BAP 1 + Kinetin 1	5,75 a A	18,33 d B
BAP 2	4,75 a A	16,00 bcd B
BAP 2 + Kinetin 0,25	4,08 a A	14,58 bc B
BAP 2 + Kinetin 0,5	5,33 a A	15,58 bcd B
BAP 2 + Kinetin 1	6,00 a A	13,33 b B

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf besar yang sama pada baris yang sama dan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Peningkatan jumlah tunas lateral biasanya hampir selalu sejalan dengan peningkatan jumlah daun (Al Hafiih dan Ermayanti, 2019). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan sitokinin tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah tunas lateral pada media MS.

Sedangkan pada media DKW penambahan Kinetin tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah tunas lateral. Penambahan BAP 1 mg/L efektif dalam memacu pertumbuhan jumlah tunas lateral dibandingkan taraf konsentrasi sitokinin lainnya. Hal ini disebabkan bahwa penambahan BAP 1 mg/L cukup untuk memacu pembentukan tunas lateral, sehingga tidak memerlukan taraf konsentrasi yang lebih tinggi.

Kemampuan suatu eksplan untuk berdiferensiasi tidak hanya ditentukan oleh hormon endogen saja, namun juga ditentukan oleh penambahan hormon eksogen pada media pertumbuhannya (Lestari, 2011). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan sitokinin dapat menginduksi tunas secara maksimal jika dibandingkan dengan tanpa sitokinin.

Menurut Sepdian (2017) BAP memiliki kemampuan menginduksi tunas terbaik pada tanaman stevia dibandingkan dengan Kinetin maupun TDZ. Bella *et al* (2016) melaporkan bahwa BAP merupakan jenis sitokinin yang superior dalam menginduksi tunas dibandingkan jenis sitokinin lainnya. Pada penelitian ini penambahan BAP maupun kombinasi Kinetin dengan BAP meningkatkan jumlah tunas lateral lebih banyak dibandingkan dengan penambahan Kinetin.

Jumlah Akar

Tabel 5 menunjukkan bahwa jenis media terhadap konsentrasi sitokinin pada konsentrasi 0 (kontrol), BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP tidak berbeda nyata namun berbeda nyata pada konsentrasi Kinetin 0,25, 0,5 dan 1 mg/L. Perlakuan pada media MS merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan dengan media DKW.

Pada media MS dengan penambahan Kinetin 1 mg/L, BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP tidak berbeda nyata. Pada media MS, perlakuan

kontrol dan konsentrasi Kinetin 0,25 mg/L merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya, sedangkan pada media DKW pada konsentrasi BAP 1 dan 2 mg/L serta kombinasi Kinetin dengan BAP tidak berbeda nyata namun berbeda nyata pada konsentrasi 0 (kontrol), Kinetin 0,25, 0,5 dan 1 mg/L. Kontrol dan konsentrasi Kinetin 0,5 mg/L merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya pada media DKW. Perlakuan kontrol dan Kinetin 0,25 mg/L pada media MS serta perlakuan kontrol dan Kinetin 0,5 mg/L pada media DKW merupakan perlakuan yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Konsentrasi 0,25 mg/L pada media MS memberikan jumlah akar lebih banyak.

Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa konsentrasi sitokinin dapat menghambat pertumbuhan akar dimana semakin besar taraf konsentrasi sitokinin maka semakin menghambat pertumbuhan akar. Hal ini dibuktikan bahwa media tanpa penambahan sitokinin (kontrol) baik MS maupun DKW membentuk lebih banyak jumlah akar dibandingkan dengan penambahan sitokinin. BAP merupakan sitokinin yang lebih aktif dibandingkan dengan Kinetin dalam merangsang pertumbuhan tunas sehingga menghambat pertumbuhan akar. Menurut Silalahi (2015) penggunaan konsentrasi sitokinin tinggi dapat menghambat pertumbuhan akar. Hasil penelitian Al Hafizh dan Ermayanti (2019) menunjukkan bahwa penambahan BAP juga menghambat secara nyata terhadap pertumbuhan akar.

Pada penelitian ini tunas yang tidak tumbuh akar mengalami pertumbuhan kalus. Apabila tunas tumbuh kalus, maka dapat menghambat pertumbuhan akar. Tanaman yang tumbuh kalus tidak berakar karena sel tanaman tidak berdiferensiasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap jumlah akar tunas *S. rebaudiana* tetraploid umur 6 MST

Konsentrasi Sitokinin (mg/L)	Jenis Media	
	MS	DKW
Kontrol	6,00 c A	5,58 c A
Kinetin 0,25	6,50 c B	3,25 b A
Kinetin 0,5	3,44 b A	5,33 c B
Kinetin 1	1,00 a A	3,08 b B
BAP 1	0,73 a A	0,00 a A
BAP 1 + Kinetin 0,25	0,00 a A	0,00 a A
BAP 1 + Kinetin 0,5	0,00 a A	0,00 a A
BAP 1 + Kinetin 1	0,00 a A	0,00 a A
BAP 2	0,00 a A	0,00 a A
BAP 2 + Kinetin 0,25	0,00 a A	0,00 a A
BAP 2 + Kinetin 0,5	0,00 a A	0,00 a A
BAP 2 + Kinetin 1	0,00 a A	0,00 a A

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf besar yang sama pada baris yang sama dan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Tahap pertumbuhan dan perkembangan terdapat tiga fase yaitu pembelahan sel, pemanjangan sel dan diferensiasi sel dimana sel berubah menjadi organ yang

mempunyai fungsi khusus (Harahap, 2012) tetapi kalus merupakan sel membelah secara terus menerus (Hendaryono dan Wijayani, 1994) sehingga menghambat pembentukan akar dikarenakan respon dari penambahan zat pengatur tumbuh dalam penelitian ini adalah sitokinin sehingga menghambat pertumbuhan akar.

SIMPULAN

1. Terdapat pengaruh interaksi antara konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah tunas lateral, dan jumlah akar.
2. Penambahan BAP 1 mg/L pada media DKW menghasilkan tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah tunas lateral lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Kinetin 0,25 mg/L dan kontrol pada media MS serta Kinetin 0,5 mg/L dan kontrol pada media DKW menghasilkan jumlah akar lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan untuk pembentukan jumlah akar perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai penambahan zat pengatur tumbuh auksin pada berbagai jenis media.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI yang telah memberikan ijin penelitian juga kepada PT. Tapanuli Investasi Agro yang telah memberikan bahan penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Erwin Al Hafiih M.Si yang telah memberikan banyak masukan selama penelitian, Pratika Estiaryani Putri S.Si dan

Rikha Anggia Ayuninda yang telah membantu dalam penelitian dan pengambilan data. Penelitian ini merupakan bagian kegiatan kerjasama Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI dengan PT. Tapanuli Investasi Agro.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. (2011). Prinsip Dasar Kultur Jaringan. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Acima. 2006. Pengaruh jenis media dan konsentrasi BAP terhadap multiplikasi adenium (*Adenium obesum*) secara *in vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Adabiyah, Rifatul. 2019. Karakter Morfologi dan Anatomi Tanaman Tetraploid *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni serta Kadar Steviosida dan Rebaudiosida-A. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Al Hafiih, E., dan T.M. Ermayanti. (2019). Perbanyakkan *Stevia rebaudiana* Bertoni Tetraploid secara *In Vitro* pada Berbagai Jenis Media Dasar dengan Penambahan BAP. Prosiding Seminar Nasional Agroteknologi 2019 Jurusan Agroteknologi Univesitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati “Mewujudkan Ketahanan Pangan Nasional dngn Zonasi Lahan dan Pemanfaatan Lahan Sub-optimal” Bandung, 2 Maret 2019.
- Bella, D. R. S., E. Suminar., A. Nuraini., dan A. Ismail. (2016). Pengujian Efektivitas Berbagai Jenis dan Konsentrasi Sitokinin terhadap Multiplikasi Tunas Mikro Pisang (*Musa paradisiaca* L.) secara *in vitro*. *Jurnal Kultivasi*, 15(2)74-80.

- Beneford, D.J.; DiNovi, M., Schlatter, J. (2006). "Safety Evaluation of Certain Food Additives: Steviol Glycosides. WHO Food Additives Series (World Health Organization Joint FAO/Expert Committee on Food Additives (JECFA)) 54: 140.
- Buana, A. S. (2018). Induksi Kalus *Stevia rebaudiana* Bertoni dengan Pemberian Kombinasi ZPT NAA (*Naphtalene Asetic Acid*), 24-D (*Diclorophenoxy Asetic Acid*) dan BAP (*Benzil Amino Purin*). *Jurnal Teknologi Terapan*, 1 (2).
- Chiew, M.S., K.S Lai., Hussein. (2016). A Review on induced mutagenesis of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *PJSSR*. 2(3):77-85.
- Dinas Pangan Pertanian dan Perikanan. (2019). Penangan Kontaminasi pada Kultur Jaringan. Artikel Dinas Pangan Pertanian dan Perikanan. <https://pertanian.pontianakkota.go.id/artikel/60-penanganan-kontaminasi-pada-kultur-jaringan.html>
- Djajadi. (2014). Pengembangan Tanaman Pemanis *Stevia rebaudiana* (Bertoni) di Indonesia. *Jurnal Perspektif*, 13: 25-33.
- George, E. F., dan P. D. Sherrington. (1984). Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directionary of Commercial Laboratories. Exegetic Ltd. England.
- Geuns, J.M.C. (2003). *Stevioside*. *Jurnal Phytochemistry*, 64 (5), 913-921.
- Harahap, S. (2012). Fisiologi Tumbuhan: Suatu Pengantar. Medan: Unimed Press.
- Hendaryono, D. P. S., dan A.Wijayani. (1994). Teknik Kultur Jaringan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Kusuma, B. S. (2020). Respon Naungan dan ekaman Air terhadap Pertumbuhan *Stevia rebaudiana* Bertoni). *Jurnal Produksi Tanaman*. 8 (7), 642-649.
- Lestari, E.G., (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakkan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63–68.
- Narulita, Erlia. (2018). Petunjuk Praktikum Bioteknologi. Pendidikan Biologi Universitas Jember. Jember: Universitas Jember Press.
- Ni'mah, Azimatun. 2018. Multiplikasi Tunas *Stevia rebaudiana* pada Berbagai Macam Media Dasar dan Konsentrasi 6-*Benzyl amino purin* (BAP) secara *In Vitro*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Nursetiadi, Eka. 2016. Kajian Macam Media dan Konsentrasi BAP terhadap Multiplikasi Tanaman Manggis (*Garcinia mangostena* L.) secara *In Vitro*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Rantau, D.E., E. Al Hafiih., dan T. M. Ermayanti. (2017). Pertumbuhan *Stevia rebaudiana* pada media MS dengan pengurangan Gula dan Penggunaan Jenis Tutup Tabung Berbeda. Prosiding Seminar Nasional 2017 Fakultas Pertanian Universitas Nasional Jakarta. "Pengembangan Potensi Sumerdaya Pertanian dan Perternakan untuk Mewudjukan Kedaulatan Pangan"
- Seema, T. (2010). *Stevia rebaudiana*: A Medicinal and Netraceutical Plant and Sweet Gold for Diabetic Patients. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 1; 451-457.
- Sepdian, L. A., V. K. Sari., R. Wardana. (2017). Induksi Tunas *Stevia rebaudiana* Bertoni) pada Beberapa Jenis Sitokinin. Seminar Nasional Hasil Penelitian. 978-602-14917-5-1

- Silalahi, Marina. (2015). Bahan Ajar Kultur Jaringan. Jakarta: Univesitas Kristen Indonesia Press.
- Sinta, M. M., N. M. A. Wiendi., S. L. Aisyah. (2018). Induksi mutasi *Stevia rebaudiana* dengan perendaman kolkisin secara *in vitro*. *Jurnal Menara Perkebunan* 86(1), 1-10.
- Sumaryono., dan M. M. Sinta. (2011). Peningkatan Laju Multiplikasi Tunas dan Keragaan Planlet *Stevia rebaudiana* pada Kultur *In Vitro*. *Jurnal Menara Perkebunan* 79(2): 49-56.
- Suyitno. (2005). Pengayaan Materi Fotosintesis bagi SMA. Yogyakarta: UNY Press.
- Thomas, J., M. Glade. (2010). Stevia: It's not just about Calories. *The Open Obesity Journal*, 2: 101-109.
- Yadav, A. K. S. Singh., D. Dhyani., dan P. S. Ahuja. (2011). A Review on The Improvement of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Jurnal Canadian Journal of Plant Science* ,91(1), 1-27.
- Zhang, H., S. An., J. Hu., Z. Lin., X. Liu., H. Bao., dan R. Chen. (2018). Induction, Identification and Characterization of Polyploidy in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Jurnal Plant Biotech.* 17(1227):1-6.