

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Pertumbuhan penduduk yang semakin bertambah dari tahun ke tahun menyebabkan permintaan kebutuhan pokok juga semakin meningkat. Salah satu kebutuhan pokok yang menjadi peranan penting yaitu gula. Sebagai salah satu sumber bahan pemanis, gula banyak digunakan untuk keperluan konsumsi rumah tangga maupun bahan baku industri pangan. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2021) Indonesia dalam memenuhi kebutuhan konsumsi gula nasional masih mengandalkan impor gula mencapai 4,72 juta ton pada periode Januari-Oktober. Dengan demikian diperlukan solusi dalam menanggulangi permasalahan konsumsi gula yang tinggi tersebut salah satunya dengan sumber pemanis alternatif yang aman dikonsumsi yaitu berasal dari tanaman stevia. Produktivitas daun tanaman stevia yaitu berkisar 4,38 ton daun kering ha<sup>-1</sup>.tahun<sup>-1</sup> (Sumaryono dan Sinta, 2018).

Stevia telah digunakan sebagai pemanis minuman teh lokal dan obat-obatan oleh penduduk asli Paraguay suku Guarani sejak ratusan tahun yang lalu. Rebaudiosida A (reb A), salah satu senyawa utama dalam gula stevia diberi status GRAS (*generally recognized as safe* = secara umum dianggap aman) oleh FDA (*Food and Drug Administration*) Amerika Serikat pada tahun 2008 dan Uni Eropa tahun 2011. Sejak saat itu, permintaan terhadap gula stevia meningkat dengan tajam, pada tahun 2010 penjualan ekstrak stevia seluruh dunia mencapai 3.500 ton dengan nilai pasar US\$ 285 juta dan meningkat tiga kali lipat menjadi 11.000 ton pada tahun 2014 (Sumaryono dan Sinta, 2018).

Stevia dikenal luas sebagai pengganti gula dan pemanis, oleh sebab itu diperlukan pengembangan tanaman stevia. Stevia dapat dikembangkan dengan perbanyakan generatif dan vegetatif. Perbanyakan generatif dari stevia dapat dilakukan melalui benih sedangkan perbanyakan vegetatif stevia dapat dilakukan melalui tunas, stek batang dan kultur jaringan (Sari, 2014). Penyediaan benih konvensional memiliki tingkat keberhasilan rendah, sedangkan perbanyakan dengan stek batang dan pucuk akan menghasilkan tanaman yang tidak identik

pada kualitas tanaman yang diharapkan. Perbanyakkan melalui kultur jaringan lebih cepat, menghasilkan lebih banyak bibit, dan identik sehingga didapatkan kualitas tanaman yang diharapkan (Staba, 2000)

Untuk mengatasi permasalahan ini diperlukan budidaya kultur jaringan (*in vitro*). Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuh kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi kultur yang aseptik secara *in vitro* (Hapsoro dan Yusnita, 2018). Perbanyakkan secara kultur jaringan akan menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat. Selain itu kultur jaringan juga dapat mempertahankan sifat induk yang unggul dan dapat menghasilkan bibit yang bebas cendawan, bakteri, virus dan hama penyakit. Keberhasilan inisiasi eksplan ditentukan oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) yang diberikan pada media. Umumnya, ZPT sering digunakan untuk kultur jaringan adalah orang jenis auksin, Sitokinin dan giberellin (Abbas, 2011). Fungsi auksin dan sitokinin untuk pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel dan pembentukan organ (Zulkarnain, 2011).

Benzyl Amino Purin (BAP) adalah hormon tumbuhan turunan adenin yang berfungsi untuk merangsang pembelahan sel, morfogenesis, merangsang pertumbuhan cabang samping, merangsang perluasan daun atau merangsang pemanjangan titik tumbuh daun, merangsang pembentukan akar cabang, merangsang tumbuhnya tunas, serta mematahkan dormansi biji (Rahmi dkk, 2010).

Untuk meminimalisasi terjadinya kontaminasi dan adanya senyawa-senyawa beracun yang dihasilkan eksplan selama perbanyakkan melalui teknik *in vitro*, perlu ditambahkan bahan lain yang sifat bahan tersebut dapat menyerap kontaminasi dan senyawa penghambat pertumbuhan. Dapat digunakan Arang Aktif yang difungsikan sebagai bahan tambahan dalam media kultur jaringan (*in vitro*). Arang Aktif (*activated charcoal*) berfungsi mengadsorpsi (menyerap) persenyawaan-persenyawaan beracun yang terdapat dalam media yang dapat menghambat pertumbuhan kultur, merangsang perakaran dengan mengurangi tingkat cahaya yang sampai ke bagian eksplan yang terdapat dalam media, merangsang morfogenesis serta dapat menstabilkan pH media. Penggunaan arang aktif berfungsi mengurangi terjadinya pencoklatan pada media akibat pemanasan

tinggi selama tahap sterilisasi (Madhusudanan dan Rohiman, 2000).

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mendapatkan konsentrasi BAP terbaik pada pertumbuhan stevia secara *in vitro*
2. Mendapatkan konsentrasi Arang Aktif terbaik pada pertumbuhan stevia secara *in vitro*
3. Mendapatkan interaksi antara konsentrasi BAP dan arang aktif terbaik pada pertumbuhan stevia secara *in vitro*

## **1.3 Kerangka Pemikiran**

Stevia adalah tanaman yang memiliki manfaat bagus untuk pengganti kebutuhan gula terutama bagi para penyandang obesitas maupun diabetes atau bagi sebagian orang yang sedang menjalani diet makanan non kalori. Stevia sendiri mempunyai keunggulan yaitu menghasilkan rasa manis 200-300 kali lebih manis dari gula tebu dan yang paling pentingnya gula hasil dari tanaman stevia tidak mengandung kalori.

Saat ini produksi tanaman stevia masih cukup rendah namun permintaan mengenai bibit terus meningkat berbanding lurus dengan permintaan/ kebutuhan pasar, oleh sebab itu perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan produktivitas tanaman stevia. Salah satu upaya dalam meningkatkan produksi tanaman stevia adalah dengan menggunakan teknik kultur jaringan. Teknik kultur jaringan sendiri memiliki kelebihan yaitu dapat menghasilkan perbanyakan klonal dalam jumlah besar, keseragaman varietas, membutuhkan waktu yang singkat, dan tidak memerlukan tempat yang luas.

Proses mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan sangat penting dalam kultur jaringan tanaman. Banyak hasil penelitian menunjukkan arah pertumbuhan dan perkembangan eksplan sangat bergantung pada Zat Pengatur Tumbuhan (ZPT). Itu sebabnya penggunaan ZPT merupakan suatu bahan yang dibutuhkan dalam melakukan kultur jaringan tanaman.

Pada umumnya penggunaan ZPT dalam kultur jaringan terdiri atas 2 golongan yaitu auksin dan sitokinin, dan yang sering digunakan adalah NAA (*Naphthale Acetic Acid*) dan BAP (*Benzhyl Amino purin*). BAP berfungsi merangsang pembelahan sel dalam jaringan eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas. Penggunaan Arang Aktif pun bertujuan sebagai anti bakterial alami yang dapat menyerap senyawa fenol yang keluar dari jaringan tanaman yang teluka pada saat proses inisiasi. Selain itu arang aktif mampu membantu proses pertumbuhan akar secara maksimal.

#### **1.4 Hipotesis**

Berdasarkan kerangka pemikiran, diajukan hipotesis yaitu didapatkan pengaruh konsentrasi serta interaksi terbaik antara BAP (*Benzyl Amino Purin*) dan Arang Aktif pada pertumbuhan tanaman stevia secara *in vitro*.

#### **1.5 Kontribusi**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam memberikan ilmu pengetahuan bagi individu maupun instansi tentang pemberian BAP (*Benzyl Amino Purin*) dan Arang Aktif dalam berbagai konsentrasi pada pertumbuhan tanaman stevia secara *in vitro*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Stevia

Stevia pertama kali dibawa ke Eropa pada tahun 1887 ketika MS Bertoni mempelajari sifat unik dari stevia di Paraguay India dan Mestizo. Stevia sudah lama diketahui di dataran tinggi Guarani Indian dari Paraguay dan disebut *caa-ehe*, yang berarti “ramuan manis”. Daun stevia digunakan untuk memermanis *mate* atau sebagai agan pemanis. Benih ini dikirim ke Inggris pada tahun 1942. Sebuah upaya dilakukan untuk mengembangkan tanaman stevia sebagai tanaman di Jepang. Sejak saat itu tanaman stevia sudah diperkenalkan di sejumlah negara termasuk Brazil, Meksiko, Korea, Amerika Serikat, Tanzania, Indonesia dan Kanada pada tahun 1990. Saat ini produksi stevia berpusat di China dan pasar utama adalah Jepang (Brandle 1998).

Tanaman *Stevia rebaudiana* memiliki ketinggian rata-rata antara 30-90 cm. tanaman ini mempunyai batang berbentuk bulat lonjong langsing sampai oval, bergerigi halus, dan terletak berhadapan. Bunga stevia merupakan bunga sempurna (*hermaphrodite*) dengan mahkota berbentuk tabung dan berbunga sepanjang tahun. Tanaman stevia mempunyai perakaran serabut yang terbagi menjadi dua bagian, yaitu perakaran halus dan perakaran tebal.

Klasifikasi tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* B) berdasarkan *United States Department of Agriculture* (USDA) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Campanulatae
Famili	: Compositae
Genus	: Stevia
Spesies	: <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni M

Senyawa pemanis diisolasi dari daun Stevia yang disebut sebagai “stevioside” yang terdiri dari tiga molekul kompleks glukosa dan satu molekul aglikon steviol, alkohol karbosilat diterpenic. Stevioside memiliki kadar manis yang sangat tinggi hingga 300 kali lebih manis dari sukrosa namun mempunyai nilai kalori yang

sedikit. Manisnya stabil terhadap fermentasi panas dan ragi serta digunakan oleh para penyandang obesitas, diabetes melitus, karies gigi dan penyakit jantung. Steviol dan stevioside juga telah dilaporkan memiliki nilai terapeutik sebagai diuretik dan juga sebagai obat diabetes. Stevia sudah diusulkan menjadi tanaman berpotensi sebagai agen antihiperqlikemik dengan merangsang sekresi insulin dari pankreas. Konsumsi lanjutan ekstrak stevioside selama tiga bulan menurunkan tekanan darah pada pasien hipertensi.

## **2.2 Kultur Jaringan Tanaman (*In Vitro*)**

Teknik perbanyakan menggunakan teknik kultur jaringan merupakan upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman (sel, jaringan, dan organ), kemudian mengkulturkannya pada nutrisi buatan yang steril dibawah kondisi lingkungan terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat bergenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Manfaat prospek kultur jaringan dibandingkan vegetative konvensional adalah produksi banyak klon, suatu alternatif bagi jenis tanaman yang resisten dengan perlakuan manipulasi terhadap faktor-faktor lingkungan (ZPT), kemungkinan mempercepat pertukaran bahan tanaman di tingkat internasional, dan tidak tergantung pada musim (Zulkarnain 2009).

Menurut Heriansyah (2020) perbanyakan secara kultur jaringan akan menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat. Selain itu kultur jaringan juga dapat mempertahankan sifat induk yang unggul dan dapat menghasilkan bibit yang bebas cendawan, virus, bakteri dan hama penyakit.

Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah bagian masih muda yang sedang tumbuh aktif. Jaringan yang masih muda mempunyai daya regenerasi lebih tinggi, sel-selnya masih aktif membelah dan relatif lebih bersih (lebih sedikit kontaminan), sedangkan jaringan yang sudah tua lebih sulit bergenerasi, dan biasanya lebih banyak terkontaminasi. Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuh-kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini dicirikan oleh kondisi aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT (zat pengatur tumbuh), serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Hapsoro dan Yusnita 2018).

Nugroho dan Sugito (2001), menyimpulkan bahwa keberhasilan teknik *in vitro* ditunjang oleh empat langkah dasar, yaitu pemilihan eksplan yang jelas asal usul dan varietasnya, pengaruh media kultur yang tepat, aseptik, serta penyesuaian udara yang baik. Media yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung hara makro dan mikro dalam kadar perbandingan tertentu serta bahan sumber energi.

Keberhasilan kultur jaringan banyak ditentukan oleh media tanam. Pada kultur jaringan, media tanam harus berisi unsur-unsur yang diperlukan oleh tanaman dalam jumlah yang memadai. Unsur-unsur tersebut yaitu : karbon (C), hydrogen (H), oksigen (O), nitrogen (N), belerang/sulfur (S), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), dan magnesium (Mg). Kesembilan unsur tersebut dinamai unsur makro. Sedangkan seng (Zincum = Zn), mangan (Mn), tembaga (Cuprum = Cu), boron (B), molibdenum (Mo), silisium (Si), aluminium (Al), klor (Cl), kobal (Co), dan besi (Ferum = Fe) disebut dengan unsur hara mikro (Rahardja, 1994). Sitokinin yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan adalah Benzyl Amino Purin (BAP), dan kinetin. Sedangkan dari golongan auksin yang sering digunakan adalah IAA dan NAA (Zulkarnain, 2009).

### **2.3 ZPT Benzyl Amino Purin (BAP)**

Menurut Widyastuti (2006), Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan eksplan dalam kultur jaringan. Seiring berkembangnya biokimia dan dengan majunya industri kimia, kemudian ditemukan banyak senyawa-senyawa yang mempunyai pengaruh fisiologis yang serupa dengan hormon tanaman. Senyawa-senyawa sintetik ini umumnya dikenal dengan nama zat pengatur tumbuh tanaman. Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan nutrisi yang dalam konsentrasi rendah dapat mendorong, menghambat, atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

ZPT golongan sitokinin seperti Benzyl Amino Purin (BAP) berfungsi dalam pembelahan sel. Menurut Utami (1998), BAP berperan untuk memacu terjadinya sintesis RNA dan protein pada berbagai jaringan yang selanjutnya dapat mendorong terjadinya pembelahan sel. Selain itu, BAP juga dapat memacu jaringan untuk menyerap air dari sekitarnya, sehingga proses sintesis protein dan pembelahan sel dapat berjalan dengan baik. Adapun secara spesifik fungsi hormon sitokinin yaitu : merangsang sel-sel tanaman, morfogenesis, merangsang pertumbuhan cabang samping, merangsang

perluasan daun atau merangsang pemanjangan titik tumbuh daun, merangsang pembentukan akar cabang serta mematahkan dormansi biji (Rahmi dkk. 2010).

Hasil penelitian yang dikemukakan Mukhtar dkk. (2015), bahwa pemberian BAP konsentrasi 1 ppm menghasilkan presentase tunas tertinggi pada *Citrus reticulata*. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Kusumawati (2017), pemberian konsentrasi 1 mg/L BAP mampu mempercepat pertumbuhan dan pembentukan kalus pada tanaman Zodia (*Evodia suaveolens Scheff*).

## **2.4 Arang Aktif**

Arang aktif adalah arang yang mempunyai pori-pori terbuka, sehingga memiliki daya absorpsi tinggi. Sehingga arang aktif banyak digunakan dalam proses pemurnian air, gas, larutan atau cairan, safety mask dan respirator, industri nuklir, penyerap rasa dan bau pada air, penghilang senyawa organik dalam air. Arang aktif juga berperan untuk menyerap racun dan senyawa inhibitor yang disekresikan oleh planlet ke dalam media. Selain dapat menyerap senyawa etilen, arang aktif mampu menyerap senyawa fenol yang berasal dari eksplan, arang aktif mampu memicu eksplan untuk menghasilkan tunas lebih banyak (Melfi dkk, 2017).

Martin Urdiruz dkk. (2004) menyatakan bahwa pemberian arang aktif dalam media tumbuh menunjukkan adanya pertumbuhan akar terbaik. Hal ini disebabkan karena arang aktif dalam media tumbuh mampu mengurangi cahaya yang masuk dalam media. Intesitas cahaya yang rendah dapat merangsang zat tumbuh endogen untuk bekerja lebih aktif dalam melakukan proses pertumbuhan dan perkembangan akar, dan intesitas cahaya yang tinggi berpengaruh nyata terhadap perbaikan kemampuan regenerasi planlet. Agrawal (1999) pun menjelaskan bahawa senyawa-senyawa hasil oksidasi fenol sangat *toxic* bagi tanaman dan dapat menghalangi pertumbuhan dan proses differensiasi yang mengakibatkan kalus atau eksplan menjadi *browning*. Untuk mencegah terjadinya hal tersebut, perlu adanya penambahan arang aktif pada media tumbuh yang dapat menyerap senyawa fenol.