

Pengaruh Kinetin dan Glukosa terhadap Kandungan Steviosida dalam Kalus dan Planlet Daun Stevia

Effect of Kinetin and Glucose against Content Steviosida in Stevia Leaf Callus and Plantlets

Kartinah Wiryosoendjyo¹ dan Supriyadi²

¹Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta, email: kartinahws@yahoo.com

²Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta

ABSTRAK

Tanaman Stevia merupakan salah satu tanaman sumber pemanis alami. Rasa manis daun Stevia adalah steviosida, rebaudiosida dan dulkosida. Penanaman eksplan daun Stevia pada medium *New Phaleonopsis* (NP) ditambah kinetin dan glukosa bertujuan untuk mendapatkan senyawa steviosida dalam waktu yang singkat dalam jumlah banyak. Kinetin ditambahkan sebanyak 0,5; 1; 1,5 dan 2 mg/L. Glukosa ditambahkan 20 g/L dan 25 g/L. Hasil pertumbuhan berupa kalus atau planlet diekstraksi dengan metanol. Pemeriksaan kadar steviosida dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Kadar steviosida tertinggi diperoleh pada planlet yang tumbuh pada medium NP ditambah kinetin 2 mg/L dan glukosa 25 g/L.

Kata kunci: eksplan daun Stevia, medium NP, glukosa, kadar steviosida.

ABSTRACT

Stevia plant is a plant source of natural sweetener. The sweet taste of stevia leaves are stevioside, rebaudioside and dulkoside. Planting of Stevia leaf explants on New Phaleonopsis (NP) medium plus kinetin and glucose was aimed to get stevioside compounds in a short time in large quantities. Kinetin was added about 0.5 ; 1 ; 1.5 and 2 mg/L. Glucose was added 20 g/L and 25 g/L. The result of the growth in the forms of callus or plantlets, were extracted with methanol. Stevioside level was checked by High Performance Liquid Chromatography. Stevioside highest level was obtained in plantlet grown on medium NP plus kinetin 2 mg / L and glucose 25 g/L.

Key words: explant Stevia leaf, NP medium, glucose, steviosida level.

PENDAHULUAN

Stevia rebaudiana mempunyai daun yang manis, karena mengandung steviosida. Terdapat kira-kira 230 jenis Stevia di Amerika Utara dan Selatan, tetapi hanya *Stevia rebaudiana* yang mengandung senyawa manis pada konsentrasi tinggi. Daun tanaman *Steviare baudiana* mengandung steviosida, rebaudisida A, dan senyawa manis lainnya (Kingham, 2003).

Steviosida yang terutama terdapat di dalam daun Stevia, merupakan pemanis alami yang unggul. Keunggulannya yaitu tidak toksik, bukan senyawa karsinogenik dan rendah kalori; sehingga aman dikonsumsi. Steviosida aman dikonsumsi oleh penderita diabetes mellitus dan penderita obesitas. Steviosida tidak difermentasi oleh bakteri di mulut, sehingga tidak menyebabkan gigi berlubang (Anonim, tt).

Murashige Skoog (MS) merupakan medium yang baik untuk menumbuhkan herba. Medium

ini mengandung garam-garam mineral yang tinggi; mengandung senyawa nitrogen dalam bentuk senyawa nitrat dan amonium (George & Sherrington, 1984). Medium *New Phaleonopsis* (NP) mengandung garam-garam mineral yang baik untuk menumbuhkan eksplan. Eksplan daun Stevia berhasil tumbuh baik pada medium NP. Pertumbuhan eksplan daun Stevia lebih cepat membentuk kalus bila dibandingkan pada medium MS Kartinah (2009).

Dilakukan penanaman eksplan daun Stevia pada medium NP. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah kinetin 0,5; 1; 1,5 dan 2 mg/L. Sumber karbon adalah glukosa 20 g/L dan 25 g/L. Tujuan penanaman eksplan daun Stevia pada medium ini adalah untuk mendapatkan senyawa steviosida dalam waktu yang singkat. Inkubasi dilakukan selama 3 minggu. Pada minggu ke tiga pertumbuhan planlet sudah mencapai bibir botol. Hasil pertumbuhan berupa planlet. Planlet

diekstraksi dengan metanol. Pemeriksaan kadar steviosida dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Tanaman Stevia yang tumbuh di Surakarta, kinetin, glukosa, medium NP, larutan NaOCl 5%, aquadest, aquadest steril, larutan alkohol 70 %, alkohol 96%; metanol Pro HPLC, aquadestilata Pro HPLC dan asetonitril kualitas pro HPLC.

Alat

Bolol-botol tanam, otoklaf, entkas, *hot plate stirer*, ruang inkubasi yang dilengkapi dengan penerangan lampu TL; timbangan analitis; lemari pendingin; oven; pinset, skalpel *disposable*, cawan Petri dan botol-botol medium bertutup karet;gunting, kertas Aluminium Foil; gelas ukur; pipet tetes; pengaduk kaca; lampu spirtus; pH stick. Mortir, kertas saring, corong gelas, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Cara Kerja

Pengambilan bahan eksplan

Eksplan (bahan tanam untuk kultur jaringan) berasal dari helaian daun Stevia tumbuh di Solo. Sebagai eksplan digunakan helaian daun yang masih muda, yaitu di nodus pertama dan ke dua dari ujung batang.

Pembuatan Medium Tanam

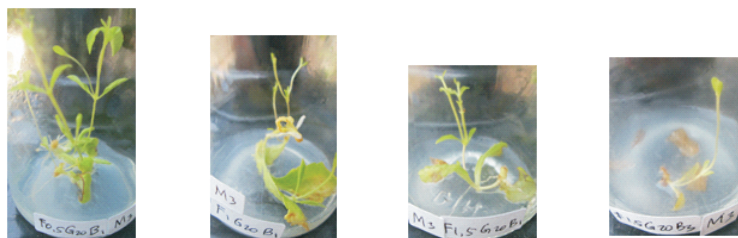
Disiapkan medium NP. Bahan-bahan makro ditimbang. Bahan-bahan mikro disiapkan dalam bentuk larutan stok 10 mg/100 mL atau 100 mg/100 mL. Semua bahan dilarutkan dalam aquadest. Disiapkan medium NP ditambah kinetin 0,5 ; 1; 1,5 dan 2 mg/L dan glukosa 20 g/L dan 25 g/L. Pembuatan medium dengan 3 ulangan.

Sterilisasi dan Penanaman Eksplan

Sterilisasi eksplan dengan larutan NaOCl 5% selama 10 – 15 menit, dicuci aquadest steril, dilanjutkan dengan larutan NaOCl 2,5% selama 10 – 15 menit, dicuci aquadest steril, dilanjutkan dengan larutan alkohol 70 % selama 1 - 2 menit, kemudian dibilas aquadest steril. Eksplan dipotong dalam cawan petri steril dengan *scalpel disposable*. Selanjutnya dilakukan penanaman eksplan pada medium NP ditambah kinetin 0,5 ; 1; 1,5 dan 2 mg/L dan glukosa 20 g/L dan 25 g/L.

HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN

Eksplan tumbuh pada hari ke tujuh sampai sembilan setelah inkubasi. Pada minggu ke tiga pertumbuhan eksplan sudah menyentuh tutup botol. Pemanenan planlet dilakukan pada minggu ke tiga. Pada medium NP ditambah kinetin kadar 1 mg/L dan 1,5 mg/L; glukosa 20 dan 25 g/L eksplan tumbuh membentuk planlet. Penambahan kinetin 0,5 mg/L dan 2 mg/L menunjukkan pertumbuhan eksplan hanya membentuk kalus saja.



Kinetin 0,5 mg/L Kinetin 1 mg/L Kinetin 1,5 mg/L Kinetin 2 mg/L

Gambar 1. Pertumbuhan pada minggu ke tiga, medium NP ditambah glukosa 20 g/L dan kinetin variasi 0,5; 1; 1,5 dan 2 mg/L, ulangan ke dua.



Kinetin 0,5 mg/L Kinetin 1 mg/L Kinetin 1,5mg/L Kinetin 2 mg/L

Gambar 2. Pertumbuhan pada minggu ke tiga, medium NP ditambah glukosa 25 g/L dan kinetin variasi 0,5; 1; 1,5 dan 2 mg/L, ulangan ke dua.

Penambahan kinetin sebagai zat pengatur tumbuh (zpt) tunggal ternyata mampu menyebabkan pertumbuhan eksplan membentuk kalus, bahkan hampir semua eksplan tumbuh membentuk planlet. Hal ini menunjukkan bahwa eksplan daun sudah mengandung hormon auksin. Sitokinin hanya efektif bila terdapat bersama dengan auksin (Sandra, 2013).

Hasil pertumbuhan planlet menunjukkan tunas tumbuh baik, sedangkan akar tumbuh kurang baik. Peristiwa ini sesuai dengan pendapat George & Sherrington (1984), menyatakan bahwa perbandingan auksin/sitokinin tinggi memacu pembentukan akar, perbandingan sebaliknya akan memacu pembentukan tunas. Jika perbandingan auksin – sitokinin seimbang hanya terbentuk kalus.

Dari hasil pertumbuhan eksplan, diketahui bahwa daun Stevia baik untuk digunakan sebagai eksplan. Daun diambil dari nodus pertama dan kedua dari ujung batang, karena masih muda, masih mengandung jaringan meristem. Kondisi ini mendukung terjadinya proses dediferensiasi, sehingga mudah terbentuk kalus.

Pertumbuhan yang diperoleh adalah planlet. Hal ini disebabkan karena kinetin termasuk zpt sitokinin. Sitokinin bermanfaat untuk memacu pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur jaringan. Perbedaan nisbah sitokinin dan auksin yang tinggi akan mendorong perkembangan sel

meristem tumbuh, berkembang menjadi kuncup, batang dan daun. Jika nisbah diperkecil akan memacu pertumbuhan akar menjadi tumbuhan baru (Sandra, 2013).

Hasil pertumbuhan hampir semuanya berupa planlet. Hanya medium dengan penambahan 0,5 mg/L dan kinetin 2 mg/L pertumbuhan eksplan ada yang hanya membentuk kalus. Kenyataan ini menunjukkan kinetin 2 mg/L sudah mampu menghambat pertumbuhan planlet.

Kadar steviosida berturut-turut pada medium NP ditambah kinetin 0,5 mg/L dan glukosa 20 g/L adalah 1,21%; medium NP ditambah kinetin 1 mg/L dan glukosa 20 g/L adalah 1%; medium NP ditambah kinetin 1,5 mg/L dan glukosa 20 g/L adalah 1,21%; Medium NP ditambah kinetin 2 mg/L dan glukosa 20 g/L adalah 1,28%; medium NP ditambah kinetin 0,5 mg/L dan glukosa 25 g/L adalah 1,16%; medium NP ditambah kinetin 1 mg/L dan glukosa 25 g/L adalah 1,57%; medium NP ditambah kinetin 1,5 mg/L dan glukosa 25 g/L adalah 1,7%; medium NP ditambah kinetin 2 mg/L dan glukosa 25 g/L adalah 1,8 %. Kadar steviosida pada daun tanaman Stevia adalah 1,09%.

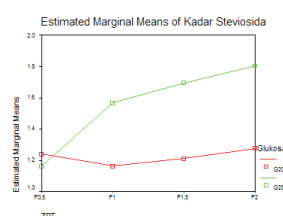
Kadar steviosida tertinggi pada planlet yang tumbuh pada medium NP ditambah kinetin 2 mg/L dan glukosa 25 g/L. Hasil analisa Anova dua jalan:

Tabel 1. Analisa Anova Dua Jalan Data Penelitian Univariate Analysis of Variance

Descriptive Statistics					
Dependent Variable	Kadar Steviosida				
ZPT	Glukosa	Mean	Std. Deviation	N	
F0.5	G20	1.2400	.13748	3	
	G25	1.1633	.11547	3	
	Total	1.2017	.12106	6	
F1	G20	1.1633	.06429	3	
	G25	1.5667	.40278	3	
	Total	1.3650	.33963	6	
F1.5	G20	1.2100	.01732	3	
	G25	1.6967	.38109	3	
	Total	1.4533	.35954	6	
F2	G20	1.2767	.05508	3	
	G25	1.8033	.44411	3	
	Total	1.5400	.40243	6	
Total	G20	1.2225	.08170	12	
	G25	1.5575	.39793	12	
	Total	1.3900	.32894	24	

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Kadar Steviosida					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.400 ^a	7	.200	2.939	.035
Intercept	46.370	1	46.370	681.447	.000
ZPT	.376	3	.125	1.860	.161
GLUKOSA	.673	1	.673	9.895	.006
ZPT * GLUKOSA	.351	3	.117	1.718	.203
Error	1.088	16	.068		
Total	48.859	24			
Corrected Total	2.489	23			

^a. R Squared = .562 (Adjusted R Squared = .371)



Gambar 3. Profile Plots

Dari analisa anova dua jalan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh glukosa terhadap kadar steviosida dimana kadar glukosa 25 gr/L menaikkan kadar steviosid lebih baik dibanding kadar 20 gr/L; dan tak ada pengaruh kadar kinetin terhadap kadar steviosida.

Rendahnya kadar steviosida dapat disebabkan karena eksplan berasal dari daun muda yang masih mengandung calon steviosida (steviol). Steviosida banyak didapatkan pada daun tua.

KESIMPULAN

Kadar steviosida dalam kalus daun Stevia yang ditumbuhkan pada medium NP ditambah kinetin 2 mg/L dan penambahan glukosa 25 g/L memberikan hasil steviosida paling banyak.

SARAN

Penelitian ini sebaiknya dilanjutkan dengan penanaman eksplan daun Stevia pada medium

selain NP, misalnya medium Murashige Skoog dengan kadar kinetin dan glukosa yang sama.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan pada Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah membeayai penelitian ini pada skim Hibah Bersaing tahun ke dua di tahun 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim .tt. *Mengenal Stevia (Sweat Honey Leaf) Sebagai Pemanis*. <http://www.florabiz.net/flora/mengenal-stevia-sweat-honey-leaf-sebagai-sumber-pemanis.html>. Sumber: ditjenbun.deptan.go.id. diunduh 15 Maret 2012.
- Sandra, Edhi. 2013. *Cara Mudah Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan*. IPB Press.
- George & Sherrington (1984): *Plant Propagation by Tissue Culture, Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegetic Limited. England.
- Wiryoendjoyo, Kartinah. 2009. Short Cut Penanaman Explant Daun Stevia Pada Medium New Phaleonopsis. *Biomedika, Jurnal Ilmiah Biologi dan Kesehatan*. Vol. 2. No 2. ISSN No. 1979 – 035 X. September 2009. Vol 2 no 2.
- Kinghorn. 2003. *Stevia. The Genus Stevia*. Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy University of Illinois at Chicago USA. London and New York.