

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kenaikan jumlah penduduk Indonesia yang cukup besar mengakibatkan keperluan gula tebu dan pemanis sintetis lain seperti sakarin dan siklamat semakin meningkat. Hal ini nampak pada industri makanan, minuman, dan suplemen menggunakan pemanis sebagai penambah cita rasa pada produknya. Selain itu, penambahan bahan tambahan ini bertujuan untuk meningkatkan gizi makanan, dan memperpanjang umur simpan.

Gula merupakan bahan pemanis makanan dan minuman yang diproses secara alami maupun sintetis. Dewasa ini banyak pemakaian bahan pemanis selain sukrosa dalam pembuatan makanan dan minuman, terutama bahan pemanis buatan. Disamping harganya murah, pemanis buatan dapat memberikan rasa manis yang berlipat ganda dibandingkan sukrosa. Akan tetapi, akhir-akhir ini banyak penduduk Indonesia yang mengurangi penggunaan gula tebu dan pemanis sintetis tersebut, karena alasan kesehatan seperti kegemukan, diabetes, dan karies gigi. Keadaan ini mendorong dilakukannya penelitian kearah penemuan pemanis alami yang aman, rendah atau tanpa kalori, dan murah harganya (Atmawinata, 1984).

Bahan pemanis dapat dibagi menjadi 2 golongan, yaitu pemanis alami dan pemanis buatan (sintetis). Pemanis alami biasanya berasal dari tanaman, contohnya adalah tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan bit (*Beta vulgaris* L.). Bahan pemanis yang dihasilkan oleh kedua tanaman tersebut

dikenal sebagai gula alam atau sukrosa. Namun gula tersebut memiliki beberapa kelemahan yaitu memiliki nilai kalori tinggi yang dapat menyebabkan kegemukan dan diabetes. Sedangkan pemanis sintetis merupakan bahan tambahan yang dapat menyebabkan rasa manis pada pangan, tetapi tidak memiliki nilai gizi. Bahan sintetis ini memiliki sifat yang karsinogenik yaitu penyebab kanker. Beberapa pemanis sintetis yang telah dikenal dan banyak digunakan contohnya yaitu sakarin, siklamat dan aspartam (Cahyadi, 2008). Untuk itu dicari alternatif pemanis alami yang memiliki tingkat kemanisan yang tinggi, rendah kalori dan tidak bersifat karsinogenik. Keberadaan stevia sangat sesuai dengan harapan yang diinginkan karena stevia mempunyai potensi tersebut.

Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) merupakan tanaman semak yang digunakan sebagai pemanis alami pengganti gula tebu dengan kadar kemanisan mencapai 300-400 kali gula tebu (Debnath, 2008 dan Huda, 2007). Daun stevia mengandung 8 bahan pemanis yang merupakan diterpen glikosida, antara lain steviosida, steviolbiosida, rebaudiosida (A, B, C, D, E) dan dulcoside A (Dossier, 1999). Gula stevia digunakan sebagai pengganti gula bagi penderita diabetes karena aman digunakan, tidak bersifat karsinogen, dan tanpa kalori (Megeji, 2005). Stevia dapat digunakan sebagai bahan pemanis alami yang tidak mempunyai efek serta sebagai pemanis buatan. Potensi lain dari tanaman stevia juga dapat dijadikan bahan obat-obatan seperti hypoglikemia, sistem pembuluh darah, gangguan pencernaan, pemeliharaan gigi, bahan perawatan kulit, antimikroba, dan anti jamur (Das, 2006 dan Gardana, 2003).

Kitab suci Al-Qur'an banyak menyebutkan tentang tumbuhan yang bermanfaat untuk kemaslahatan umat manusia. Diantaranya dalam surat Thahaa (20) ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”.

Menurut Tafsir al Mishbah Surat Thaha ayat 53 menjelaskan bahwa Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam dengan perantara air hujan. Dari air hujan tersebut mengurai aneka tumbuhan dengan beberapa tingkatan dan jenis tumbuhan yaitu mulai dari tingkat rendah sampai ketinggian tinggi, jenis tumbuhan berkeping dua (dikotil) dan tumbuhan berkeping satu (monokotil) (Shihab, 2002).

Al-Quran surat Thahaa ayat 53 menerangkan bahwa tanaman merupakan ciptaan-Nya, dan Dialah yang menumbuhkan berbagai jenis tanaman yang mempunyai manfaat sangat besar terutama bagi kepentingan manusia. Sebagian besar produk atau hasil tanaman tersebut dimanfaatkan oleh manusia untuk kepentingan hidup dan kehidupannya. Maka dari itulah, sudah seharusnya manusia memperhatikan tumbuhan yang ditumbuhkannya dengan cara memelihara, memperbaiki, menjaga dan dapat melestarikan jenis tumbuhan tersebut dengan cara perbanyak vegetatif ataupun untuk mendapatkan metabolit sekunder secara *in vitro*.

Stevia dapat dikembangbiakkan dengan cara generatif dan vegetatif. Secara vegetatif umumnya diperbanyak dengan stek batang. Perkembangbiakan secara generatif dilakukan dengan menggunakan biji. Cara ini jarang dilakukan karena untuk mendapatkan biji cukup sulit, waktu pertumbuhan juga lebih lama disamping kandungan steviosida tanaman induk lebih rendah. Menurut Yuwono (2006), tanaman juga dapat diperbanyak secara vegetatif menggunakan kultur *in vitro* dengan teknik kultur kalus. Kalus adalah massa sel yang aktifitas pembelahannya tidak terorganisasi dan belum terdeferensiasi. Sel-sel ini secara alamiah dapat terbentuk dari bagian tanaman yang terluka atau dari kultur yang telah dilukai.

Dalam budidaya *in vitro*, menginduksi kalus merupakan salah satu langkah penting (Yuwono, 2006). Karena menurut Santoso dan Nursandi (2003), ada beberapa tujuan yang bisa dicapai dengan menguasai kultur kalus, diantaranya dapat digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder. Pada pendekatan ini, budidaya kalus tidak sekedar diarahkan untuk proliferasi kalus tetapi, diarahkan bagaimana kalus dapat terdorong memproduksi metabolit lebih tinggi.

Menurut Sitorus (2011), metabolit yang dihasilkan dari kalus seringkali kadarnya lebih tinggi dari pada metabolit yang diambil langsung dari tanamannya. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan kalus adalah dengan menambahkan prazat ke dalam media. Pemilihan media kultur jaringan merupakan kunci sukses dalam kultur jaringan. Dengan cara pengambilan metabolit sekunder dari kalus, dapat

diperoleh kandungan lain yang lebih banyak jenisnya yang sangat berguna bagi manusia (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Selain itu, manfaat kultur kalus juga dapat menjamin kesinambungan kerja kultur. Artinya, dengan pendekatan kultur kalus yang baik suatu produk dari kegiatan kultur yang terdahulu akan terus punya arti pada kegiatan kultur selanjutnya. Setidaknya ketersediaan kalus akan selalu ada tanpa harus menginisiasi ulang yang kadang tidak mudah, meningkatkan jumlah kalus, menyangkut hal ini umumnya di latar belakang untuk tujuan produksi, baik untuk memperbanyak tanaman atau yang lain.

Media tumbuh pada kultur jaringan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Penggunaan media dengan komposisi yang tepat akan memberikan kondisi yang baik bagi pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Gunawan, 1988). Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), dari sekian banyak formulasi yang ada, media MS adalah media yang paling sering digunakan dalam kegiatan kultur jaringan, karena medium MS termasuk media kultur yang komposisi unsur hara mikro dan makronya lebih lengkap dibandingkan media dasar lainnya. Media MS mempunyai konsentrasi garam-garam mineral yang tinggi dan senyawa N dalam bentuk NO_3^- dan NH_4^+ . Selain itu, media MS dapat digunakan untuk tanaman apa saja.

Komposisi formulasi dari suatu media, harus mengandung nutrient makro dan mikro serta sumber tenaga (umumnya digunakan sukrosa), biasanya ditambahkan zat pengatur tumbuh sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan diferensiasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Jenis

hormon tanaman yang sekarang banyak dipakai dalam propagasi secara *in vitro* adalah auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh yang paling sering digunakan dan paling efektif adalah 2,4-D (Santoso dan Nursandi, 2003). 2,4-D merupakan golongan auksin sintesis yang mempunyai sifat lebih stabil daripada IAA, karena tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau pemanasan pada proses sterilisasi (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Penambahan auksin dalam jumlah yang lebih besar, atau penambahan auksin yang lebih stabil, seperti 2,4-D cenderung menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus dari eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman (Wetherell, 1982). Peran auksin adalah merangsang pembelahan dan perbesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru.

Hasil penelitian Naz (2008) menyebutkan bahwa 2,5 mg/L 2,4-D mampu menumbuhkan kalus menggunakan eksplan stevia yang berbeda hingga 80% dengan tekstur kalus kompak dan berwarna hijau keputihan. Pada penelitian Preethi (2011) tentang perbaikan tunas dari eksplan daun stevia menggunakan perlakuan 1-2 mg/L 2,4-D sudah dapat menumbuhkan kalus dengan baik dengan tekstur remah (*fragile*). Sedangkan pada penelitian Ali (2010), konsentrasi 2,4-D sebanyak 3,0 mg/L dapat menumbuhkan kalus dari eksplan berbeda yang digunakan (daun, batang, dan ruas batang) pada perbanyakan stevia. Adapun tekstur kalus kompak berwarna hijau kekuningan.

Sitokinin sering digunakan sebagai bahan kombinasi untuk induksi kalus. Selain dari bahan kimia sintetik yang umumnya cenderung mahal (1 gr

BAP seharga Rp450.000), aplikasi sitokinin dalam perbanyak tanaman *in vitro* dapat berasal dari bahan alami seperti air kelapa. Menurut Kristina (2012), aplikasi ZPT alami air kelapa telah diteliti dapat mengurangi mahal biaya operasional di tingkat laboratorium.

Air kelapa merupakan bahan alami yang mempunyai aktivitas sitokinin untuk pembelahan sel dan mendorong pembentukan organ (Pierik, 1987). Kandungan kimia air kelapa menunjukkan komposisi ZPT kinetin (sitokinin) sebanyak 41,13 mg/L dan zeatin 34,16 mg/L, sedangkan kandungan IAA (auksin) adalah 38,57 mg/L. George dan Sherington (1984) dalam Pishesha (2008) menyatakan bahwa air kelapa mengandung asam organik, asam nukleotida, purin, gula, alkohol, vitamin, zat pengatur tumbuh dan mineral. Senyawa penting bagi kultur jaringan yang terdapat dalam air kelapa adalah zat pengatur tumbuh. Kandungan zat pengatur tumbuh dalam air kelapa bermanfaat untuk menginduksi kalus serta menginduksi proses morfogenesis.

Penggunaan air kelapa sebagai media substitusi ini diharapkan dapat menggantikan hormon sitokinin, karena dalam air kelapa mengandung Diphenil urea yang fungsinya sama seperti sitokinin untuk menumbuhkan kalus Stevia. Selain kandungan ZPT, kandungan vitamin dalam air kelapa dapat dijadikan substitusi vitamin sintetik yang terkandung pada media MS. Kandungan hara makro seperti N, P, dan K, serta beberapa jenis unsur mikro dalam air muda juga berpeluang dikembangkan lebih lanjut sebagai upaya substitusi unsur hara makro dan mikro serta sumber karbon, yakni sukrosa. (Kristina, 2012).

Konsentrasi air kelapa yang biasa dipakai untuk medium kultur jaringan adalah antara 10%-15% /liter (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Seswita (2010) menambahkan bahwa, penggunaan ZPT air kelapa 15% dengan media cair sedikit lebih murah dibandingkan dengan ZPT Benzyl Adenin. Pengaruh sitokinin di dalam kultur jaringan tanaman antara lain berhubungan dengan proses pembelahan sel, proliferasi kalus (Santoso dan Nursandi, 2003).

Air kelapa dapat memberikan efek yang lebih baik pada pertumbuhan kalus bila dalam media juga diberikan auksin (Gunawan, 1988). Pemberian air kelapa digunakan untuk mendorong pertumbuhan jaringan, sedangkan ZPT untuk diferensiasi sel (Abidin, 1983).

Kombinasi antara auksin dan sitokinin dapat memberikan respon yang berbeda-beda tergantung dari spesies, macam organ, umur, dan konsentrasi dari hormon tumbuh itu sendiri (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Menurut Syahid (2010), aplikasi kombinasi auksin dan sitokinin pada konsentrasi tepat mampu menghasilkan kalus dengan struktur remah. Struktur kalus remah sangat berkorelasi dengan kecepatan daya tumbuh kalus sehingga produksi metabolit sekunder tertentu yang ingin diperoleh lebih cepat dicapai.

Hasil penelitian Surachman (2011) menunjukkan bahwa, penambahan air kelapa 10% pada media MS mampu menghasilkan tunas mencapai 100% pada perbanyakan nilam secara *in vitro*. Selain itu, Khadke (2013) juga berhasil menginduksi embrio somatik dari eksplan tangkai dan daun *Nothapodytes foetida* yang dikultur pada media MS dengan tambahan

0,5-3,0 mg/L Thidiazuron dan 20% air kelapa. Perlakuan yang sama juga dilakukan oleh Jameel (1992), dengan cara menambahkan air kelapa sebanyak 15% pada media kultur dan menunjukkan pertumbuhan kalus yang signifikan, serta pertumbuhan tunas dari eksplan daun bayam (*Spinacia oleracea* L.)

Berdasarkan acuan tersebut diatas, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa dalam media MS untuk menginduksi kalus stevia yang nantinya diharapkan menghasilkan pertumbuhan kalus stevia yang baik dan optimal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka, diperoleh rumusan masalah yaitu, bagaimanakah respon pertumbuhan kalus stevia (*Stevia rebaudiana* B.) pada media MS dengan penambahan 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa ?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui respon pertumbuhan kalus stevia (*Stevia rebaudiana* B.) pada media MS dengan penambahan 2,4-D yang dikombinasikan dengan air kelapa.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat, yakni:

1. Memperluas ilmu pengetahuan khususnya di bidang kultur *in vitro* yang berkaitan dengan kultur kalus tanaman (*Stevia rebaudiana* B.)
2. Memperoleh konsentrasi kombinasi 2,4-D dengan air kelapa yang terbaik untuk memacu pertumbuhan kalus *Stevia rebaudiana* B. secara kultur *in vitro*.
3. Memberikan informasi tentang penggunaan air kelapa sebagai bahan alami yang fungsinya sama seperti zat pengatur tumbuh sintetis khususnya sitokinin.
4. Sebagai tambahan informasi untuk penelitian selanjutnya di bidang kultur jaringan tumbuhan, yang berkaitan dengan metabolit sekunder.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini, antara lain:

1. Penelitian ini hanya terbatas pada pertumbuhan kalus.
2. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS.
3. Zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu, 2,4-D
4. Air kelapa yang digunakan adalah air kelapa muda, yang ditandai dengan daging buah tidak terlalu lunak dan tidak terlalu keras, dan kulit kelapa berwarna hijau.
5. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah daun muda tanaman *Stevia* (*Stevia rebaudiana* B.) yang diperoleh dari Materia Medica, Batu-Malang.