

KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) HASIL INDUKSI ORYZALIN SECARA *IN-VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
LILA BIAR ROHMAH
NIM. 15620079



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) HASIL INDUKSI ORYZALIN SECARA *IN-VITRO*

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh :
LILA BIAR ROHMAH
NIM. 15620079**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) HASIL INDUKSI ORYZALIN SECARA *IN-VITRO*

SKRIPSI

Oleh:

LILA BIAR ROHMAH
NIM. 15620079

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal 12 Desember 2019

Dosen Pembimbing I



Shinta, M.Si
NIP. 19880110201608012064

Dosen Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.PdI
NIDT. 19890113201802011244

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si.,D.Sc
NIP. 198102012009011019

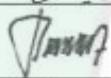
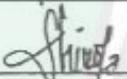
KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) HASIL INDUKSI ORYZALIN SECARA *IN-VITRO*

SKRIPSI

Oleh :

LILA BIAR ROHMAH
NIM. 15620079

Telah dipertahankan
Di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 12 Desember 2019

Penguji Utama	<u>Suvono, M.P</u> NIP. 19710622 200312 1 002	
Ketua Penguji	<u>Didik Wahvudi, M.Si</u> NIP. 19860102201801 1 001	
Sekretaris Penguji	<u>Shinta, M.Si</u> NIP. 198801102016080 1 2064	
Anggota Penguji	<u>Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I</u> NIDT. 19890113 20180201 1244	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi



Richardi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

HALAMAN PERSEMBAHAN

الحمد لله رب العالمين

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat dan ridhonya, saya dijadikan manusia yang senantiasa berpikir, berusaha, sabar, dalam melaksanakan kewajiban. Semoga dengan terselesaikannya tugas akhir ini, Engkau berikan manfaat terhadap ilmu untuk kedepannya. Senantiasa Engkau jadikan ini sebagai salah satu jalan dalam meraih ridhomu untuk tercapainya tujuan-tujuan baik kedepannya.

Kupersembahkan karya yang jauh dari kata sempurna ini kepada orang-orang hebat yang telah memberikan motivasi dan dukungan, teruntuk:

1. Kedua orang tuaku tersayang, Bapak Suwadi dan Ibu Listiyani, yang senantiasa mendo'akan putrinya demi kebermanfaatan ilmu dan kelancaran dalam setiap usaha tanpa menuntut untuk menjadi yang terdepan.
2. Kepada Ibu Shinta, M.Si selaku dosen pembimbing I yang tanpa bosan dan lelah membimbing saya dengan caranya yang luar biasa sampai saya berada pada titik ini
3. Bapak Oky Bagus Prasetyo, M.Pd.I, selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan ilmu dan bimbingannya selama ini
4. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen wali yang senantiasa member masukan atas keluh kesah selama kurang lebih 9 semester ini, dan selalu memberi motivasi islami yang khas
5. Sahabat- sahabatku tercinta Sakhou, Siti, Atika, dan Nunatul yang selalu mendukung melalui do'a-do'anya. Yang sangat memaklumi perilaku dan menganggap saya sebagai anggota keluarganya. Dan selalu mengingatkan akan kesalahan yang saya lakukan dengan cara yang luar biasa
6. Teman "HahaHihi" Ria Akmalia dan Ilul Inayah, Sahabat SPSS Siti Nur Annisa, dan sahabat Laa Tahzan Uul dan juga mbak Fitriah Sarah. Terimakasih kalian penyemangatku

7. Tak lupa “sahabat Oryzalin” Miftah Farid, Alifah Nur Fauziah, dan Hikmatul Maulidina yang selalu membantu lancarnya penelitian. Dan juga M. Farid Annas yang selalu kurepotkan perihal pengamatan.
8. Adik-adik tercinta Lina Hidayatur, Yunita, Humay, dan Maslaha yang senantiasa membantu tanpa pamrih. Kalian *The Best*. Semangat pejuang oryzalin. Mbak Miftahur Rohmah, Mbak I’anatur Rofiqoh yang tanpa bosan membimbing saya
9. Teman-teman Biologi C dan Genetist’15 yang sudah saya anggap sebagai keluarga. Terimakasih telah menemani selama proses menempuh S1.
10. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu terealisasinya tugas akhir ini.

Atas dukungan, motivasi, canda tawa dan nasihatnya, semoga Allah membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Semoga karya ini mampu memberikan nilai manfaat khususnya bagi saya dan bagi orang lain. Aamiin.



MOTTO

“خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ni:

Nama : Lila Biar Rohmah
NIM : 15620079
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Karakter Stomata dan Fenotipik Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Hasil Induksi Oryzalin secara *In Vitro*.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 12 Desember 2019

Yang membuat pernyataan,



Lila Biar Rohmah

NIM.15620079

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



ABSTRAK

Rohmah, Lila B. 2019. KARAKTER STOMATA DAN FENOTIPIK TANAMAN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) HASIL INDUKSI ORYZALIN SECARA *IN-VITRO*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Shinta, M.Si.; Pembimbing Agama: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.

Kata Kunci: *Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)*, poliploidi, oryzalin, stomata, fenotipik/morfologi

Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) merupakan tanaman yang berpotensi dijadikan sebagai pemanis rendah kalori sehingga aman dikonsumsi oleh penderita gangguan metabolisme darah. Kebutuhan akan tanaman ini cukup tinggi, namun belum banyak dikembangkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya pemuliaan tanaman melalui induksi poliploidi menggunakan oryzalin, untuk menghasilkan tanaman dengan jumlah kromosom yang berlipat ganda, sel yang lebih besar, karakter morfologi yang lebih baik, dan kandungan biomassa yang meningkat. Penggunaan oryzalin jauh lebih efektif dalam meningkatkan poliploidi tanaman, dengan penggunaan konsentrasi yang rendah (μM). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap stomata dan karakter morfologi tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktorial, faktor pertama yaitu konsentrasi oryzalin 15, 25, dan 35 μM . Faktor kedua yaitu waktu inkubasi selama satu dan dua minggu, diulang sebanyak 5 kali. Parameter yang diamati yaitu karakter stomata (Panjang, lebar, dan kerapatan), dan karakter morfologi (Hari muncul tunas, Panjang tunas, Jumlah Tunas, Jumlah daun, Jumlah nodus, panjang daun dan lebar daun). Analisis data secara factorial menggunakan aplikasi SPSS dengan uji lanjut Duncan 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pemberian oryzalin mampu mempengaruhi karakter stomata dan morfologi yang berbeda dengan tanaman kontrol. Perlakuan yang paling berpengaruh adalah konsentrasi 35 μM dengan waktu inkubasi satu minggu.

ABSTRACT

Rohmah, Lila B. 2019. THE CHARACTER OF STOMATE AND THE PHENOTYPE OF STEVIA PLANTS (*Stevia rebaudiana* Bertoni) IN-VITRO ORYZALIN INDUCTION RESULTS. Thesis. Department of Biology. Faculty of Science and Technology. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. Advisor of Biology: Shinta, M.Si. ; Advisor of Religion: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.

Key Words: *Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)*, *polyploidy*, *oryzalin*, *stomata*, *phenotypic/morphology*

Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) is a plant which is potentially used as a low-calorie sweetener so that it is safe to be consumed by patients with blood metabolic disorders. The need for this plant is quite high, but it has not been developed much. Therefore, efforts should be made to plant breeding through induction of polyploidy using oryzalin, to produce plants with multiple chromosomes, larger cells, better morphological characters, and increased biomass content. The use of oryzalin is far more effective in increasing plant polyploidy, with the use of low concentrations (μM). The aims of this research are to determine the effect of oryzalin concentration, incubation time on stomata and morphological characters of the *Stevia rebaudiana* Bertoni plant. The research design used is a two factorial Randomized Block Design (RBD), the first factor being the concentration of oryzalin 15, 25, and 35 μM . The second factor is the incubation period of one and two weeks, repeated 5 times. The parameters observed are stomata characters (length, width, and density), and morphological characters (days of shoots appearing, shoot lengths, number of shoots, number of leaves, number of nodes, leaf length, and width of leaves). Data analysis uses ANOVA with Duncan further test of 5%. The results show that, administration of oryzalin is able to influence stomata and morphological characters are different from control plants. The most influential treatment is the concentration of 35 μM with an incubation period of one week.

مستخلص البحث

رحمة، ليلا. ب. ٢٠١٩. شخصية الثغور و صور ستيفيا النباتية (ستيفيا ريبوديانا بيرتوني) نتائج تحفيز الأوريزالين في المختبر. البحث العلمي. قسم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا ، الجامعة مولانا مالك إبراهيمية الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الحياتي: صننا الماجستر. المشرف الديني: أوكي باغاس فراستيو الماجستر.

الكلمات المفتاحية: ستيفيا (ستيفيا ريبوديانا بيرتوني) ، oryzalin ، polyploidy ، الثغور، المظهرية.

ستيفيا (ستيفيا ريبوديانا بيرتوني) هو النبات له قدرة على استخدامه كمحليات منخفضة السعرات الحرارية ، لذلك، فهو آمن للاستهلاك للمرضى باضطرابات استقلاب الدم. الحاجة لهذا النبات مرتفعة للغاية ، ولكنها غير متطورة. لذلك ، يجب بذل الجهود لتربية النباتات من خلال تحفيز polyploidy باستخدام oryzalin ، لإنتاج نباتات ذات كروموسومات متعددة ، وخلايا أكبر ، وشخصيات مورفولوجية أفضل ، وزيادة محتوى الكتلة الحيوية. يعتبر استخدام oryzalin أكثر فاعلية في زيادة داء النبات ، باستخدام التركيزات المنخفضة (μM). كان الغرض من هذا البحث هو تحديد تأثير تركيز oryzalin و وقت حضانة إلى الطابع المورفولوجي للنباتات لنباتات ستيفيا ريبوديانا بيرتوني. كان تصميم البحث المستخدم عبارة عن تصميمين عاملين في تصميم البلوك العشوائي (RBD) ، العامل الأول هو تركيزات الأوريزالين من ١٥ ، ٢٥ ، ٣٥ μM . العامل الثاني هو وقت الحضانة لمدة أسبوع أو أسبوعين ، يتكرر ٥ مرات. كانت الملاحظات التي تمت ملاحظتها هي شخصية الثغور (الطول والعرض والكثافة) والشخصيات المورفولوجية (عدد أيام ظهور البراعم وأطوال التقاطها وعدد مرات التقاطها وعدد الأوراق وعدد العقد وطول الورقة وعرض الأوراق). تحليل البيانات باستخدام ANOVA مع اختبار ٥ ٪ دنكان. يظهر النتائج أن إدارة oryzalin قادرًا على التأثير على الثغرات والمورفولوجية التي كانت مختلفة عن النباتات الضابطة. كان العلاج الأكثر تأثيراً تركيز ٣٥ μM مع فترة حضانة من أسبوع واحد.

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan pada kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Berkah, Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan Skripsi ini dengan baik.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr.Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Shinta, M.Si dan Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku pembimbing skripsi dan pembimbing agama, yang telah banyak memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
4. Suyono,M.P dan Didik Wahyudi, M.Si selaku penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran yang membangun.
5. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen wali
6. Moh. Basyarudin, S.Si selaku Laboran Penanggung jawab Greenhouse dan Mahrus Ismail, S.Si selaku Laboran Penanggung jawab Laboratorium Fisiologi Tumbuhan yang telah mengizinkan peneliti dalam melakukan Penelitian di laboratorium.
7. Bapak Ibu tersayang, yang senantiasa memberikan doa dan supportnya kepada penulis dalam menuntut ilmu selama ini.
8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi.

Amin Ya Rabbal Alamin.

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Malang, 5 Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	viii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACK	xi
مستخلص البحث.....	xii
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Hipotesis Penelitian	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	9
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni).....	10
2.2 Pemuliaan Tanaman dengan Mutasi	14
2.3 Oryzalin.....	16
2.4 Pengaruh Oryzalin terhadap Karakter Stomata dan Fenotipik	18
2.5 Deteksi Poliploidi.....	21
2.6 Kultur Jaringan Tumbuhan (Teknik <i>In-Vitro</i>)	21
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	24
3.2 Variabel Penelitian	24
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.4 Alat dan Bahan.....	25
3.5 Prosedur Kerja	25
3.6 Analisis Karakter Morfologi	28
3.7 Analisis Stomata	29
3.8 Analisis Data	30
3.9 Skema Kerja Penelitian	31

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin, Waktu Inkubasi, dan Interaksinya terhadap Karakter Stomata Tanaman Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	32
4.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin, Waktu Inkubasi, dan Interaksinya terhadap Karakter Stomata Tanaman Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	40
4.3 Pertumbuhan Morfologi Abnormal pada <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Akibat Perlakuan Oryzalin	60
4.4 Tanaman Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) dalam Perspektif Islam	62

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	65
5.2 Saran	65

DAFTAR PUSTAKA	66
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	74
-----------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Glikosida Steviol dalam Stevia.....	13
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi dan Waktu Inkubasi.....	24



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Stevia	11
Gambar 2.2 Proses Pembentukan Sel Poliploid.....	16
Gambar 2.3 Struktur Oryzalin.....	17
Gambar 3.1 Desain Penelitian.....	31
Gambar 4.1 Pengaruh Konsentrasi terhadap Ukuran Stomata.....	32
Gambar 4.2 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Ukuran Stomata	33
Gambar 4.3 Pengaruh Interaksi perlakuan terhadap Ukuran Stomata	34
Gambar 4.4 Pengaruh Konsentrasi dan waktu Inkubasi terhadap Panjang dan Lebar Stomata	35
Gambar 4.5 Pengaruh Konsentrasi terhadap Kerapatan Stomata	37
Gambar 4.6 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Kerapatan Stomata	37
Gambar 4.7 Pengaruh Interaksi Perlakuan terhadap Kerapatan Stomata	38
Gambar 4.8 pengaruh Konsentrasi dan Waktu Inkubasi terhadap Kerapatan Stomata	39
Gambar 4.9 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin terhadap Waktu Muncul Tunas.....	41
Gambar 4.10 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Hari Muncul Tunas	42
Gambar 4.11 Pengaruh Interaksi Perlakuan terhaap Hari Muncul Tunas....	43
Gambar 4.12 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin terhadap Panjang Tunas	44
Gambar 4.13 Pengaruh Waktu Ikubasi terhadap Panjang Tunas	45
Gambar 4.14 Pengaruh Konsentrasi Perlakuan terhadap Panjang Tunas	46
Gambar 4.15 Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Inkubasi terhadap Morfologi	47
Gambar 4.16 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin terhadap Jumlah Tunas.....	48
Gambar 4.17 Pengaruh Waktu Ikubasi terhadap Jumlah Tunas	49
Gambar 4.18 Pengaruh Interaksi Perlakuan terhadap Jumlah Tunas.....	50
Gambar 4.19 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin terhadap Jumlah Nodus	52
Gambar 4.20 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Jumlah Nodus.....	52
Gambar 4.21 Pengaruh Interaksi Perlakuan terhadap Jumlah Nodus	53
Gambar 4.22 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin terhadap Jumlah Daun.....	54
Gambar 4.23 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Jumlah Daun	55
Gambar 4.24 Pengaruh Interaksi Perlakuan terhadap Jumlah Daun.....	56
Gambar 4.25 Pengaruh Konsentrasi terhadap Ukuran Daun	57
Gambar 4.26 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Ukuran Daun	58
Gambar 4.27 Pengaruh Interaksi Perlakuan terhadap Ukuran Daun	59
Gambar 4.28 Morfologi Abnormal pada Tanaman <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni setelah Perlakuan Oryzalin	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data Hasil Pengamatan.....	74
Lampiran 2 Hasil Analisis SPSS.....	77
1. Hasil Analisis Panjang Stomata.....	77
2. Hasil Analisis Lebar Stomata	79
3. Hasil Analisis Kerapatan Stomata	81
4. Hasil Analisis Hari Muncul Tunas	83
5. Hasil Analisis Panjang Tunas	85
6. Hasil Analisis Jumlah Tunas	87
7. Hasil Analisis Jumlah Nodus.....	89
8. Hasil Analisis Jumlah Daun.....	91
9. Hasil Analisis Panjang Daun	93
10. Hasil Analisis Lebar Daun.....	94
Lampiran 3 Bukti Konsultasi	



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan makhluk hidup yang memiliki manfaat bagi makhluk hidup yang lain. Peranan tumbuhan sangat penting karena tumbuhan berperan sebagai produsen yang bertugas memberikan suplai nutrisi bagi makhluk hidup selainnya. Seperti firman Allah SWT yang telah dipaparkan dalam surah Asy-Syu'ara ayat 7:

﴿ وَأَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (Tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (Q.S. Asy-Syu'ara:7).

أَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ memiliki arti *dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi* maksudnya adalah memikirkan apa saja yang ada di bumi, *كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا* memiliki arti *berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi ini* maksudnya adalah menunjukkan bahwa bukan hanya satu tetapi banyak jumlahnya, *مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* memiliki arti *dari berbagai tumbuh-tumbuhan yang baik* maksudnya adalah bukan hanya satu macam melainkan berbagai macam jenis, penjelasan tersebut dari Tafsir Jalalain (2010). Mengacu pada lafad *زَوْجٍ كَرِيمٍ* yang memiliki arti *Jenis yang baik* dan lafad *كَرِيمٍ* memiliki arti *baik* yang berasal dari kata *Al-Karam* dengan *الفضل* (keutamaan) dalam Bahasa Arabnya. Kata tersebut digunakan untuk menunjukkan makna muliadan unggul menurut (Al-Qurthubi, 2009).

Penjelasan terkait adanya tumbuhan yang baik telah Allah SWT jelaskan di dalam Al-Qur'an surah Asy-Syu'ara ayat 7. Melalui Ayat tersebut, Allah mempunyai kuasa atas apa yang diciptakanNya di muka bumi ini termasuk tumbuhan lengkap dengan manfaat yang terkandung di dalamnya. Penjelasan serupa diutarakan dalam Tafsir Ibnu Katsir (2007) bahwasanya Allah SWT menunjukkan keagunganNya di dalam ciptaanNya, yaitu bumi dengan segala

isinya termasuk makhluk hidup (tumbuh-tumbuhan dan hewan) yang berada di dalamnya. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang memiliki nilai guna atau manfaat. Allah SWT memberikan berbagai macam tumbuhan di muka bumi bukan sebagai sesuatu yang sia-sia. Melainkan, Allah memberikan pesan tersirat untuk senantiasa memanfaatkannya dalam berbagai hal seperti obat-obatan, makanan, dan lain sebagainya.

Stevia merupakan tumbuhan yang dapat dikonsumsi dan bermanfaat untuk kesehatan (Ermayanti dkk, 2017). Stevia menyerupai tumbuhan liar lainnya, merupakan tumbuhan dari family *Asteraceae* yang memiliki perawakan herba serta merupakan tanaman yang berasal dari Paraguay (Amerika Selatan). Di Negara asalnya, tumbuhan ini memang ditemukan tumbuh liar, jika ada dibudidayakan hanya oleh beberapa orang untuk dijadikan pemanis (Edi dan Dini, 2015). Genus *Stevia* memiliki 154 anggota spesies tetapi, hanya *Stevia rebaudiana* Bertoni yang memproduksi senyawa steviol glikosida sehingga berpotensi dalam menghasilkan rasa manis (Kinghorn, 2002).

Rasa manis yang dihasilkan Stevia berasal dari kandungan yang dinamakan steviol glikosida. Ada 11 jenis steviol glikosida namun, senyawa khas yang digunakan sebagai penanda mutu Stevia adalah *Steviosida* (Yadav dan Guleria, 2012; Prakash dkk, 2014). Semua bagian tanaman Stevia mampu menghasilkan rasa manis kecuali akarnya (Kinghorn, 2002; Ramesh dkk, 2006). Kandungan steviol glikosida paling tinggi ditemukan pada daun (Mageji dkk, 2005). Tingkat kemanisannya mencapai 300 kali sampai 400 kali jika dibandingkan dengan pemanis biasa (Das dkk, 2011; Hadiyana dkk, 2015). Keunggulan lain dari Stevia adalah rendah kalori (Edi dan Dini, 2015), sehingga aman digunakan bagi penderita gangguan metabolisme gula darah.

Stevia banyak dicari dan dibudidayakan seiring dengan meningkatnya permintaan gula oleh masyarakat Indonesia dan meningkatnya jumlah penduduk. Menurut Kemenperin (2019) kebutuhan gula nasional mencapai 6,6 juta ton pada tahun 2018. Sedangkan produksi belum mampu mencukupi angka kebutuhan nasional. Sehingga pentingnya pengembangan Stevia sebagai pemanis untuk menekan nilai impor.

Penggunaan gula (non-stevia) sebagai pemanis dalam jangka waktu lama akan menyebabkan terganggunya metabolisme darah, karena kalori yang cukup tinggi (Sugiyanto, 2007). Alternatif yang dapat digunakan adalah menggantinya menggunakan gula berbahan Stevia. Kandungan kalori pada daun Stevia sebesar 2,42 Kcal/g, lebih rendah daripada pemanis lain seperti aspartam sebesar 4 Kcal/g (Arora, 2010), dan pada gula tebu sebesar 4,5 kalori (Sutardjo 2002). Dengan demikian, Stevia semakin banyak dibutuhkan terutama untuk penyakit yang berkaitan dengan metabolisme gula dalam darah (Ermayanti dkk, 2017), seperti diabetes mellitus, obesitas, dan karies pada gigi (Ghanta dkk, 2007).

Stevia merupakan tanaman yang tergolong baru Indonesia, karena Balai Pertanian dan Perkebunan (BPP) mulai melakukan penelitian pada tahun 1984 dan dihasilkan bibit unggul pada tahun 2013 (Sukayat, 2018). Sehingga, keragaman genetik Stevia masih tergolong rendah dan perlu dilakukan upaya dalam meningkatkan keragaman genetik untuk mendapatkan Stevia yang unggul dan hasil produksi yang meningkat.

Upaya pemuliaan tanaman dalam meningkatkan hasil produksi dapat dilakukan dengan cara konvensional melalui persilangan, tetapi tanaman Stevia jarang ditemukan berbunga karena kandungan steviol glikosida mengalami penurunan ketika tanaman sudah berbunga. Sehingga, penggunaan cara persilangan kurang sesuai (Ramesh dkk, 2006; Ivancic dkk, 2008). Pemuliaan tanaman dapat pula dilakukan dengan induksi mutasi menggunakan mutagen fisik dan kimia. Beberapa mutagen fisik yang biasa digunakan adalah sinar Gamma, sinar X, dan Ultra violet (Arumingtyas dkk, 2016), sedangkan mutagen kimia yang biasanya digunakan adalah Kolkisin dan oryzalin dengan tujuan menghasilkan tanaman poliploidi (Hansen & S.B Andersen, 1996; Yadav dkk, 2013; Ebrahimzadeh dkk, 2018).

Poliploidi merupakan kondisi organisme yang mempunyai lebih dari satu pasang set kromosom (Wulansari dkk, 2016). Stevia sendiri merupakan tanaman diploid dengan jumlah kromosom $2n=22$ (Yadav dkk, 2010). Secara umum, individu normal memiliki 2 set kromosom (diploid). Istilah ploidi sendiri merupakan sebutan untuk set kromosom yang diberi notasi berupa huruf "x" (Ranney, 2006). Tanaman poliploidi memiliki jumlah kromosom yang lebih

banyak apabila dibandingkan dengan tanaman diploid. Memiliki bagian tanaman seperti batang, daun, bunga, buah, dan akar yang lebih besar, ukuran sel bertambah sehingga terlihat lebih jelas, inti sel lebih terlihat jelas, warna daun lebih hijau dari tanaman diploid pada umumnya, memiliki stomata dengan ukuran yang lebih besar, dan mengalami peningkatan kandungan metabolit (Suryo, 1995). Stevia yang diinduksi poliploidi memiliki jumlah buku atau nodus yang meningkat (Sinta, 2017). Selain itu, tanaman poliploidi cenderung lebih tahan terhadap kondisi cekaman baik biotik maupun abiotik (Yang dkk, 2011; Song dkk, 2012). Sehingga, dengan upaya peningkatan ploidi pada Stevia diharapkan mampu meningkatkan hasil produksi Stevia dan menghasilkan Stevia yang unggul.

Upaya penggandaan kromosom telah banyak dilakukan menggunakan kolkisin. Namun, penggunaan kolkisin memiliki beberapa kekurangan. Afinitas kolkisin rendah terhadap tubulin tumbuhan, sehingga memerlukan konsentrasi yang tinggi dalam penggunaannya. Konsentrasi yang tinggi menyebabkan kolkisin memiliki sifat toksik (Ebrahimzadeh dkk, 2018). Dampak lain yang disebabkan oleh penggunaan kolkisin adalah terjadinya sterilitas, abnormalitas pada pertumbuhan dan morfologinya, pengaturan ulang atau bahkan kehilangan kromosom, dan menyebabkan mutasi gen (Thao, 2003; Miguel dan Leonhardt, 2011). Alternatif yang dapat menggantikan kolkisin pada poliploidi tanaman adalah oryzalin, dikarenakan oryzalin mempunyai afinitas yang lebih tinggi pada tubulin tanaman (Wan dkk, 1991; Eeckhaut dkk, 2001), efektif digunakan dalam konsentrasi kecil (Jones dkk, 2008). Bouvier dkk (1994) menyebutkan bahwa, oryzalin dalam satuan μM (mikromolar) lebih efisien dari pada kolkisin dengan konsentrasi mM (milimolar). Penelitian yang mendukung dilakukan oleh Viehmannova dkk (2009) bahwa, oryzalin dengan konsentrasi 25 μM mempunyai efisiensi dalam menyebabkan poliploidi sebesar 10% dibandingkan dengan kolkisin yang hanya 2,5% dengan konsentrasi 3 mM.

Oryzalin ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$) merupakan senyawa herbisida yang mampu menghambat pembentukan mikrotubul pada saat pembelahan mitosis sel, mengakibatkan DNA yang bereplikasi tetap berada di dalam satu sel sehingga sel memiliki jumlah kromosom berlipat ganda (Strachan dan Hess, 1983).

Penggunaan oryzalin dalam induksi poliploid telah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya, seperti penelitian yang dilakukan oleh Viehmannova dkk (2009) pada tanaman *Smallanthus sonchifolius* (Family *Asteraceae*), oryzalin efisien dalam menginduksi poliploidi sebesar 10% dengan konsentrasi oryzalin 25 μM . Penelitian yang sama dilakukan oleh Xie dkk (2015) pada tanaman anggur (*Vitis x Muscadinia hybrids*) dengan memberikan konsentrasi oryzalin 15 μM , mampu menghasilkan 24.45% kromosom yang tetraploid. Hasil serupa pada penelitian yang dilakukan oleh Tome (2016) dengan pemberian oryzalin 10 μM efektif dalam menginduksi kromosom tanaman *Solanum comersonii* menjadi tetraploid. Banyak parameter yang dapat digunakan sebagai penanda peningkatan ploidi. Alternatif yang dapat digunakan untuk mendeteksi terjadinya peningkatan ploidi pada tanaman adalah melalui pengamatan karakter fenotipik atau morfologi dan stomata (Modin dkk, 2018).

Karakter stomata dan fenotipik sering digunakan sebagai penanda pada penelitian poliploid menggunakan senyawa antimitotik. Karakter stomata yang sering dijadikan sebagai penanda peningkatan ploidi adalah ukuran stomata (panjang dan lebar) dan kerapatan stomata (Gallone dkk, 2014; Tavan dkk, 2015; Tome dkk, 2016; Modin dkk, 2018). Terbukti dari beberapa penelitian sebelumnya, seperti yang dilakukan oleh Rahman dkk (2017) pada tanaman *Artemisia annua* L. dengan perlakuan oryzalin 60 μM mampu meningkatkan panjang stomata dari 28,52 μm menjadi 50,14 μm , dan lebar stomata dari 17,43 μm menjadi 28,5 μm pada tanaman tetraploidnya. Hal yang sama ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Xie dkk (2015) bahwa, pemberian oryzalin sebanyak 30 μM pada tanaman *Vitis x Muscadinia* optimal dalam meningkatkan panjang stomata menjadi 30,5 μm dari kontrolnya 22,8 μm . Diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Agogbua dkk (2015), dengan pemberian oryzalin 150 μM pada tanaman *Zehneria capillacea* (Shumach.) C. Jeffrey mampu meningkatkan panjang stomata 15,56 μm dari kontrolnya yang hanya 13,38 μm , dan lebar stomata 11,13 μm dari kontrolnya 9,50 μm .

Meningkatnya ukuran stomata akan berpengaruh pada penurunan kerapatan stomata. Hal ini dibuktikan oleh Tome dkk (2016) bahwa, kerapatan stomata pada *Solanum commersonii* ssp. Mengalami peningkatan pada

pemberian oryzalin 30 μM . Hasil serupa ditunjukkan oleh Rahman dkk (2017) bahwa, kerapatan stomata pada *Artemisia annua* L. mengalami penurunan dari 106,72 mm^2 menjadi 58,41 mm^2 dengan pemberian oryzalin sebesar 60 μM . Penelitian lain yang serupa dilakukan oleh Xie dkk (2015), dengan pemberian oryzalin sebesar 30 μM berpengaruh pada kerapatan stomata tanaman *Vitis x Muscadini* dari 186,6 mm^2 menjadi 104 mm^2 .

Karakter fenotipik yang biasanya digunakan sebagai parameter dalam menentukan ploidi adalah jumlah ruas, jumlah nodus, panjang tanaman, jumlah daun, panjang dan lebar daun. Agogbua dkk (2015) menunjukkan bahwa, hasil penelitian dengan pemberian oryzalin 150 μM meningkatkan jumlah nodus, jumlah daun, dan panjang internodus berkurang, pada tanaman hias untuk memperjelas warna dan ukuran bunga seperti pada bunga Anggrek (Miguel dan Leonhardt, 2011) dan pada bunga Mawar (Kermani dkk, 2003). Dapat meningkatkan kandungan fitokimia pada *Artemisia annua* (Banyai dkk, 2010), *Cantella asiatica* L. (Kaensaksiri dkk, 2011), *Phenylpropanoid* pada *Solanum commersonii* Dun. (Caruso dkk, 2011), *Steviosida* pada *Stevia rebaudiana* Bertoni (Sinta, 2017).

Teknik pemberian senyawa animitotik pada penelitian dilakukan dengan cara induksi pada media agar. Seperti yang dilakukan oleh Nilanthi dkk (2009) pada tanaman *Echinacea purpurea* L. menggunakan kolkisin dengan durasi inkubasi pada media perlakuan selama 7, 14, 21, dan 28 hari. Metode yang sama dilakukan oleh Rahman dkk (2017) pada *Artemisia annua* L. menggunakan kolkisin dan oryzalin di dalam media perlakuan selama 5 sampai 7 minggu kemudian diaklimatisasi. Tanaman yang sudah diinkubasi di dalam media perlakuan perlu dilakukan pemindahan (subkultur) ke dalam media baru untuk melihat pertumbuhan setelah terpapar senyawa antimitotik. Hal ini dikarenakan pertumbuhan serta pengaruh antimitotik secara optimal terlihat apabila eksplan sudah mampu beradaptasi pada media baru (Carvalho dkk, 2016). Hasil serupa dinyatakan oleh Costa dkk (2011) pada eksplan pisang, bahwa penilaian terbaik terhadap morfogenetik ketika eksplan sudah disubkultur pada media baru.

Teknik yang digunakan untuk menerapkan induksi poliploidi menggunakan oryzalin pada tanaman *Stevia* dapat dilakukan melalui stek, perkecambahan biji,

dan kultur jaringan tumbuhan (*In Vitro*) (Sinta, 2017). Mageji (2005) menjelaskan bahwa, penggunaan biji sangat tidak disarankan karena germinasi biji hanya berkisar 25%-40% sehingga rendahnya kemampuan biji Stevia untuk berkecambah. Selain itu, perbanyakan menggunakan biji akan menghasilkan tanaman Stevia yang tidak seragam. Djajadi (2014) menjelaskan bahwa, teknik yang sering digunakan pada umumnya adalah melalui stek karena hasil tanaman akan seragam. Namun, cara ini memiliki kelemahan karena akan mengurangi keragaman genetik jika dilakukan terus-menerus (Wulansari dkk, 2016). Teknik yang tepat digunakan adalah melalui kultur jaringan (*In Vitro*) karena memiliki kondisi lingkungan hidup tanaman yang lebih terkontrol (Murashige & Nakano, 1966). Selain itu, produktivitas akan cenderung meningkat karena dalam satu kali penanaman dapat dihasilkan banyak individu baru. Hal ini mengacu pada prinsip *Totipotensi* sel pada teknik *In Vitro* (Mastuti, 2017).

Carvalho dkk (2016) menyebutkan bahwa, ada beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan teknik *In Vitro* dalam menunjang terjadinya ploidisasi seperti jenis tanaman yang digunakan, perlakuan senyawa antimetabolit yang digunakan, dan jenis eksplan yang digunakan. Menurut Mastuti (2017) pada dasarnya hampir semua bagian tanaman bisa digunakan sebagai eksplan dalam perbanyakan secara *In Vitro*. Namun, bagian yang sering digunakan adalah tunas aksilar, tunas pucuk, akar, nodus, dan daun. Pemilihan eksplan disesuaikan dengan tujuan perbanyakan yang dilakukan peneliti. Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang dilakukan, didapatkan eksplan Stevia yang mudah digunakan dan memiliki daya hidup yang lebih tinggi adalah bagian nodus kedua. Selain itu, salah satu faktor yang menunjang keberhasilan penggunaan teknik *in vitro* adalah penggunaan media. Media dasar yang umumnya digunakan adalah media *Murashige and Skoog* (MS). Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Sinta (2017) yang menggunakan media MS tanpa zat pengatur tumbuh untuk pertumbuhan tunas dan akar secara *in vitro* pada Stevia.

Berdasarkan pemaparan sebelumnya, penelitian terkait perlakuan induksi poliploidi terhadap tanaman Stevia secara *In Vitro* sudah dilakukan dengan menggunakan senyawa mitotik berupa kolkisin. Namun, induksi poliploidi menggunakan oryzalin secara *in vitro* belum pernah dilakukan pada tanaman

Stevia. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian induksi poliploidi tanaman Stevia menggunakan oryzalin secara *In Vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi oryzalin, waktu inkubasi dan interaksinya terhadap karakter stomata tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) ?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi oryzalin, waktu inkubasi dan interaksinya terhadap karakter morfologi tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi oryzalin, waktu inkubasi dan interaksinya terhadap karakter stomata tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi oryzalin, waktu inkubasi dan interaksinya terhadap karakter morfologi tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.).

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh pemberian konsentrasi oryzalin, waktu inkubasi, dan interaksinya terhadap karakter stomata tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.).
2. Ada pengaruh konsentrasi oryzalin, waktu inkubasi dan interaksinya terhadap karakter morfologi tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang optimasi konsentrasi Oryzalin dalam menginduksi poliploidi kromosom tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)
2. Memberikan informasi tentang optimasi waktu inkubasi di dalam media oryzalin dalam menginduksi poliploidi kromosom tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

3. Memberikan informasi tentang optimasi interaksi konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi di dalam media oryzalin dalam menginduksi poliploidi kromosom tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)
4. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai bahan acuan dalam melakukan penelitian selanjutnya maupun sebagai referensi dalam penelitian yang serupa.

1.6 Batasan masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) yang digunakan berasal dari hasil kultur jaringan di PT. Condido Agro dan ditumbuhkan di *Greenhouse* Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Jenis Stevia yang digunakan adalah *Stevia rebaudiana* Bertoni.
3. Bagian dari tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) yang digunakan sebagai eksplan adalah nodus kedua.
4. Eksplan dipotong dengan panjang 1 cm
5. Media pertumbuhan tunas yang digunakan untuk penanaman adalah Murashige dan Skoog (MS) tanpa Zat Pengatur Tumbuh
6. Senyawa yang digunakan untuk induksi poliploidi adalah oryzalin
7. Konsentrasi oryzalin yang digunakan adalah 0 μM , 15 μM , 25 μM dan 35 μM .
8. Waktu inkubasi adalah satu minggu dan dua minggu
9. Hasil inisiasi diinkubasi pada ruangan dengan suhu 21 °C
10. Pengamatan dilakukan selama 6 minggu dengan 2 kali subkultur.
11. Karakter stomata yang diamati adalah panjang, lebar, dan kerapatan stomata
12. Karakter morfologi yang diamati adalah hari muncul tunas, jumlah tunas, panjang tunas, panjang dan lebar daun, jumlah daun, dan jumlah ruas

BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

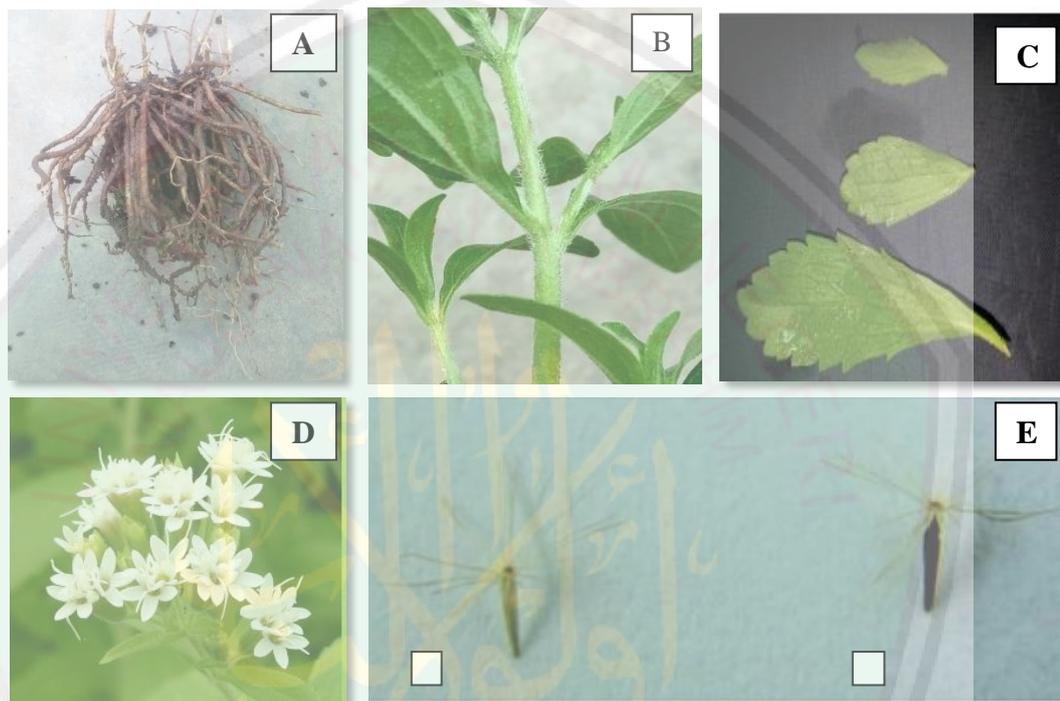
2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Stevia merupakan tumbuhan yang berasal dari Paraguay. Ilmuwan pertama yang melakukan identifikasi terkait taksonominya adalah ilmuwan yang berasal dari Eropa yaitu Dr. Moises Santiago Bertoni pada tahun 1887. Tumbuhan ini hidup pada daerah dengan iklim tropis hingga sub tropis di wilayah barat Amerika Utara, Amerika tengah, sampai Amerika selatan (Edi dan Dini, 2015).Rukmana (2003) menjelaskan bahwa, tumbuhan Stevia memiliki beberapa nama pada daerah asalnya seperti *caa-ehe*, *ca-enhem* atau *azucacaa*. Jenis tumbuhan Stevia pertama yang ditemukan di daerah tersebut adalah *Stevia rebaudiana* Bertoni. Selanjutnya, ditemukan Stevia jenis lain yaitu *Stevia ovate* yang tumbuh di Meksiko. Tanaman Stevia masuk ke Indonesia diperkirakan pada tahun 1977 dengan kerjasama pengusaha Jepang dan Indonesia sendiri.

Tumbuhan Stevia merupakan tumbuhan dari suku *Asteraceae* (Compositae) yang bisa memiliki tinggi antara 60 sampai 90 cm. Tumbuhan ini memiliki tipe akar yang terbagi menjadi dua jenis yaitu perakaran yang halus dan tebal. Menurut Djajadi (2014) perakaran pada Stevia termasuk ke dalam bentuk Rhizom dan mempunyai cabang. Rukmana (2003) menjelaskan bahwa, sistem perakaran pada Stevia menyebar (Gambar 2.1A). Batang tanaman Stevia memiliki trikoma halus dan berwarna hijau (Gambar 2.2B) daun memiliki tepi bergerigi serta berbentuk memanjang atau lanset dan ada pula yang berbentuk oval (Gambar 2.1C). Tata letak daunnya berhadapan.

Stevia memiliki bunga dengan ukuran yang kecil (15 – 17 mm) dengan warna putih. Bunga memiliki corolla dengan warna ungu pucat di bagian lekukan. Bunga Stevia tergolong hermafrodit, memiliki anther (kepala sari) sebanyak 5 dan berukuran kecil. Stigma terletak di bagian tengah dan dikelilingi oleh anther (Rukmana, 2003) (Gambar 2.1D). Biji Stevia memiliki bulu pada bagian ujungnya. Perbedaan warna pada biji Stevia mempengaruhi kualitasnya dalam berkecambah. Umumnya viabilitasnya sangat kecil, hanya sekitar 25 – 40% saja. Biji Stevia memiliki tingkat perkecambahan yang sangat rendah dan memiliki

daya simpan yang pendek. Biji Stevia mempunyai endosperma yang kecil yang tersebar di alam. Selain itu, biji stevia memiliki warna hitam dan coklat. Biji Stevia yang mempunyai warna hitam mempunyai 59 % sampai 86 % daya untuk berkecambah, sedangkan biji stevia yang berwarna coklat memiliki 0% daya perkecambahan (Huber, 2017) (Gambar 2.1E).



Gambar 2.1. Morfologi Stevia A) Akar, B) Batang, C) Daun, D) Bunga dan E) Biji (Yadav, 2011)

Budidaya Stevia dapat dilakukan menggunakan beberapa manipulasi lingkungan yang terkait dengan pertumbuhannya. Secara umum manipulasi yang dilakukan terhadap area pertumbuhan Stevia adalah kelembapan tanah 70%, ketersediaan air, komposisi bahan organik tanah 5%, dan suhu tanah 35%. Tumbuhan ini hidup pada kisaran suhu 15 sampai 35 ° C. Stevia merupakan tumbuhan hari pendek, sehingga perlu adanya manipulasi penyinaran jika dianggap tidak sesuai. Lamanya waktu penyinaran yang dibutuhkan oleh Stevia adalah kurang dari 13 Jam. Hal ini dilakukan apabila budidaya ingin sampai pada proses pembungaan (Edi dan Dini, 2015).

Tanaman Stevia merupakan tanaman hari pendek (Kinghorn, 2002). Tanaman Stevia akan cenderung mengalami penurunan kandungan *steviosida* nya jika sudah mengalami pembungaan (Ramesh, 2006). Di Indonesia, tanaman Stevia bisa dipanen sebanyak 6 sampai 12 kali per tahun sedangkan pada daerah dengan iklim subtropis hanya bisa dipanen sebanyak 1 sampai 2 kali per tahunnya. Terlalu sering melakukan pemanenan akan berpengaruh pada meningkatnya biaya produksi. Di Indonesia memiliki lama waktu penyinaran 13 jam pada umumnya sehingga waktu pembungaan cepat dan mengakibatkan pemanenan yang lebih cepat namun kondisi tanaman masih kecil. Hal ini mengakibatkan rendahnya kandungan glikosida steviol yang didapatkan dari tanaman Stevia (Edi dan Dini, 2015).

Stevia termasuk dalam tumbuhan yang tidak tahan terhadap kondisi kering, sehingga keberadaan air sangat mempengaruhi pertumbuhannya. Hal ini berkaitan dengan kelembapan lingkungan tumbuh Stevia, kelembapan yang dibutuhkan dalam pertumbuhan Stevia cukup tinggi. Di Indonesia, Stevia mampu tumbuh dengan baik pada kondisi ketinggian 700–1500 mdpl, curah hujan 1400mm setiap tahunnya dengan suhu berkisar 20 sampai 24 °C. Kondisi lain yang menunjang pertumbuhannya adalah kondisi tanah (Edi dan Dini, 2015).

Secara taksonomi, tumbuhan Stevia memiliki klasifikasi sebagai berikut: Kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, Sub-Divisi Angiospermae, Kelas Dicotyledonae, Ordo Campanulatae, Familia Compositae (Asteraceae), Genus Stevia, dan Spesies *Stevia rebaudiana* Bertoni. (Rukmana, 2003).

2.1.2 Kandungan dan Manfaat Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Senyawa glikosida steviol dapat ditemukan pada semua bagian tanaman Stevia kecuali akar, hal ini diutarakan oleh Ramesh dkk (2006). Kadar paling banyak dapat ditemukan pada bagian daun Stevia dengan kandungan *steviosida* sekitar 3,17 sampai 9,94 % dari glikosida steviol total (Mageji dkk, 2005).

Daun Stevia memiliki beberapa manfaat, diantaranya adalah mampu mengatur kadar gula darah, dan dapat digunakan sebagai alternatif dalam mengurangi berat badan (Edi dan Dini, 2015). Berdasarkan penjelasan dari Murtie (2014) manfaat lain dari daun Stevia adalah dapat digunakan untuk menstabilkan

tekanan darah pada penderita hipertensi, dan mampu menghambat pertumbuhan plak pada gigi.

Tabel 2.1 Kandungan glikosida steviol yang terdapat dalam Stevia (Prakash, 2014).

No	Nama	R1	R2	Ketersediaan
1	Steviosida	β -glc-	(β -glc)- β -glc-	Komp.Utama
2	Reb-A	β -glc-	(β -glc) ₂ - β -glc-	Komp.Utama
3	Reb-B	H	(β -glc) ₂ - β -glc-	Komp.Utama
4	Reb-C	β -glc-	(β -glc, α -rha)- β -glc-	Komp.Utama
5	Reb-D	β -glc- β -gl-c	(β -glc) ₂ - β -glc-	Komp.Utama
6	Reb-E	β -glc- β -glc-	β -glc- β -glc-	Komp.Utama
7	Reb-F	β -glc-	(β -glc, β -xyl)- β -glc-	Komp. Minor
8	Reb-M	(β -glc) ₂ - β -glc-	(β -glc) ₂ - β -glc-	Komp. Minor
9	Rubusosida	β -glc-	β -glc-	Komp. Minor
10	Steviobiosida	H	β -glc- β -glc-	Komp. Minor
11	Dulcosida-A	β -glc-	α -rha- β -glc-	Komp.Utama

Konsumsi daun Stevia sebagai pemanis aman bagi penderita. Diabetes. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Carakostas (2008), dengan mengonsumsi *Rebaudiosida A* (Reb A) tidak berpengaruh terhadap homeostasis pada darah maupun pada kadar gula darah atau glukosa sehingga menjadi komponen yang aman jika dikonsumsi bagi penderita gangguan pada gula darah. Selain itu, pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Phansawan dan Pounghangpho (2006) menyatakan bahwa, Stevia juga berpotensi sebagai antioksidan.

Pemaparan terkait banyaknya keunggulan dari Stevia membuat permintaan gula oleh masyarakat menjadi meningkat, hal ini diutarakan oleh Sugiyanto (2007) bahwa permintaan gula oleh masyarakat Indonesia semakin meningkat beriringan dengan meningkatnya jumlah penduduk. Gula (pemanis) sendiri merupakan salah satu sumber kalori nomor 4 setelah padi-padian, bahan pangan hewani, dan juga lemak. Namun, penggunaan gula sebagai pemanis dalam jangka waktu lama akan menyebabkan terganggunya metabolisme darah karena gula yang biasa digunakan adalah gula dengan kalori yang cukup tinggi. Penggunaan gula pasir (non Stevia) sebagai pemanis dengan kadar kalori yang cukup tinggi dapat diminimalisir dengan mengganti penggunaan gula yang berbahan daun tumbuhan Stevia. Kandungan kalori pada daun Stevia sebesar 2,42 Kcal/g. Kadar tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan kadar pada pemanis lain seperti aspartam sebesar 4 Kcal/g (Arora, 2010). Sedangkan menurut Sutardjo (2002), pada gula tebu mengandung sekitar 20% sukrosa. Pada satu gram sukrosa terdapat 4,5 kalori jika dibandingkan dengan kadar kalori yang dimiliki oleh tanaman Stevia.

2.2 Pemuliaan Tanaman dengan Mutasi

Upaya-upaya pemuliaan tanaman untuk mendapatkan tanaman yang unggul dapat melalui persilangan, mutasi, maupun rekayasa genetika tanaman (Anggraito, 2004). Umumnya, perbanyakan Stevia dapat dilakukan dengan menggunakan tiga cara yaitu stek, perbanyakan generatif dengan biji, dan perbanyakan menggunakan teknik *In Vitro*. Perbanyakan menggunakan stek merupakan perbanyakan yang sering dilakukan karena dinilai paling mudah dan ketahanan tanaman untuk hidup cukup tinggi (Djajadi, 2014). Namun, semakin lama akan menurunkan keragaman genetik dan penurunan hasil produksi tanaman (Wulansari dkk, 2016). Cara perbanyakan kedua adalah menggunakan biji atau disebut perbanyakan secara generatif. Perbanyakan menggunakan biji ini tidak disarankan karena sulitnya menemukan biji yang *viable*. Selain itu, perkecambahan biji Stevia memerlukan lingkungan yang terkontrol. Daya perkecambahan biji Stevia hanya sekitar 25% sampai 40% karena biji bersifat steril. Perbanyakan menggunakan biji cenderung akan memberikan hasil yang tidak seragam karena sifat biji yang merupakan hasil

perkawinan dari 2 individu serta memungkinkan menunjukkan sifat beragam tidak sesuai dengan yang diharapkan (Mageji, 2005).

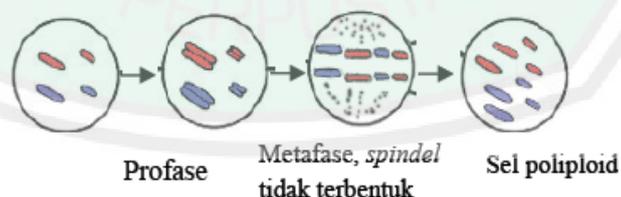
Mutasi merupakan proses perubahan genetik yang terjadi kepada makhluk hidup. Baik perubahan gen tunggal, sejumlah gen, ataupun susunan kromosomnya. Perubahan gen tersebut bisa terjadi pada beberapa bagian tanaman, khususnya pada sel yang masih aktif membelah (Micke & Donini, 1993). Tujuan dari adanya induksi mutasi adalah pemuliaan tanaman dengan meningkatkan keragaman genetik tanaman yang diinginkan. Stevia merupakan tanaman yang dikembangkan secara vegetatif karena rendahnya viabilitas biji (Mageji, 2005), sehingga perlu dilakukan upaya untuk membentuk keragaman serta meningkatkan kualitas unggul dari Stevia. Salah satu upaya yang dilakukan dalam hal ini adalah induksi mutasi. Menurut Roslim (2015) mutasi dapat terjadi secara spontan maupun dengan cara diinduksi.

Mutasi dapat terjadi secara alami maupun buatan, mutasi alami dapat disebabkan oleh sinar surya maupun energi listrik, misalkan petir. Sedangkan mutasi buatan dapat berupa pemuliaan tanaman dengan memberikan mutagen. Mutagen umumnya ada tiga macam, yaitu mutagen biologi, mutagen fisik, dan mutagen kimia. Mutagen biologi dapat terjadi disebabkan oleh adanya organisme seperti virus dan bakteri yang berakibat pada perubahan struktur kromosom inang sehingga terjadi mutasi. Selain itu, mutagen biologi bisa terjadi secara alami seperti peristiwa *Transposable element* (elemen loncat). Mutagen fisik dapat terjadi disebabkan oleh beberapa bahan fisik seperti radiasi sinar Gamma, sinar UV (Ultraviolet), partikel α dan β , dan muatan negatif (neutron). Adanya paparan dari beberapa bahan fisik di atas dapat menyebabkan terjadinya mutasi. Beberapa diantaranya sering digunakan dalam perlakuan pemuliaan tanaman secara *In Vitro* seperti radiasi sinar Gamma. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Martin dkk (2013) pada tanaman Talas satoimo yang berhasil meningkatkan potensi genetiknya dengan perlakuan iradiasi sinar Gamma. Mutasi kimia dapat terjadi karena adanya senyawa-senyawa kimia yang berperan dalam menghambat kromosom memisah. Beberapa senyawa kimia yang dapat menjadi mutagen adalah kafein, formaldehid, Pestisida DDT, Kolkisin, Oryzalin, dan lain sebagainya (Arumingtyas, 2016).

Mutagen kimia yang sering digunakan dalam induksi mutasi adalah Kolkisin dan oryzalin (Ebrahimzadeh dkk, 2018). Keduanya memiliki persamaan dalam meningkatkan ploidi kromosom. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Bouvier (1994) pada tanaman apel menunjukkan bahwa, perbandingan kolkisin dan oryzalin sangat nyata terlihat pada tingkatan ploidi, *survival rate*, dan efisiensi. Selain itu, sebagian besar keberhasilan terjadi pada perlakuan oryzalin. Hampir seluruhnya eksplan mampu bertahan hidup. Hal ini menunjukkan bahwa oryzalin memiliki efisiensi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kolkisin pada penggandaan kromosom. Selain itu, dijelaskan oleh Sattler (2016) bahwa, oryzalin memiliki daya afinitas yang lebih kuat pada tubulin tanaman sehingga penggunaannya hanya memerlukan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan kolkisin. Penggunaan oryzalin cukup dengan menggunakan konsentrasi mikromolar (μM) sedangkan pada kolkisin memerlukan konsentrasi milimolar (mM) karena afinitasnya yang lebih rendah terhadap tubulin.

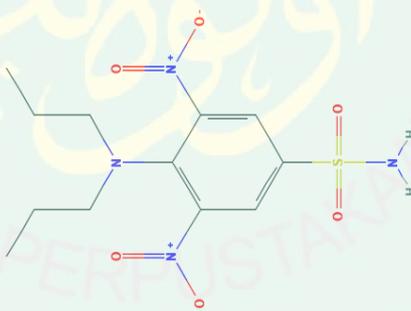
2.3 Oryzalin $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ (19044-88-3)

Oryzalin merupakan senyawa herbisida sulfonamide dengan rumus kimia $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$. Proses yang terjadi dimana paparan oryzalin terhadap sel tanaman akan menyebabkan benang spindel gagal terbentuk sehingga pada saat anafase kromosom tidak berpisah menuju kutub masing-masing. Hasilnya tidak terjadi pembelahan sel atau sitokinesis (Gambar 2.3)



Gambar 2.2. Proses pembentukan sel yang bersifat poliploidi sesudah terinduksi senyawa antimitotik (Sinta, 2017)

Oryzalin memiliki nama kimia lain (synonym) seperti sulfan, dirimal, 4-(Dipropoli-amino)-3,5-dinitrobenzenesulfonamide, Ryzelan, 3,5-dinitro-N4,N4-dopropylsufabilamide, dan lain sebagainya. Oryzalin memiliki rumus molekul $C_{12}H_{18}N_4O_6S$ (Pubchem.ncbi). Oryzalin merupakan jenis herbisida yang memiliki tingkatan toksik dibawah kolkisin sehingga lebih aman digunakan. Oryzalin merupakan agen pengganda kromosom sebagaimana telah banyak dilakukan penelitian seperti pada apel (*Pyrus malus*), yang membandingkan kolkisin dan oryzalin sehingga didapatkan hasil perlakuan oryzalin lebih efektif (Bouvier, 1994). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Wulansari (2016) pada tanaman *Colocasia* dengan hasil terbaik pada konsentrasi 60 μM dengan lama perendaman 3 hari. Penelitian poliploid yang dilakukan oleh Thao (2003) pada tanaman *Alocasia*, membandingkan antara oryzalin dan kolkisin sehingga didapatkan hasil yang lebih baik pada perlakuan oryzalin. Viehmannova dkk (2009) melakukan penelitian pada tanaman *Smallanthus sonchifolius* dari family *Asteraceae*, dan dihasilkan tanaman mengalami peningkatan pada ploidi kromosomnya dengan pemberian oryzalin 25 μM . Struktur kimia oryzalin dapat dilihat pada (Gambar 2.3)



Gambar 2.3. Struktur Oryzalin (Pubchem.ncbi)

Menurut penjelasan dari Stracahan dan Hess (1983) proses oryzalin dalam menyebabkan poliploidi pada kromosom tanaman disebabkan oleh penghambatan pembentukan mikrotubula pada sel, akibatnya proses pembelahan mitosis menjadi terganggu. Apabila proses pembelahan mitosis terganggu, maka pembelahan sel juga akan terganggu terutama pada pemisahan kromosomnya. Oryzalin mencegah

terbentuknya kromosom pada saat fase metaphase, dimana kromosom gagal misah menuju kutub sel masing-masing. DNA yang sudah melakukan replikasi akan tetap berada dalam satu sel, akibatnya dalam sel akan memiliki kromosom dua kali lipat dari jumlah awalnya. Kondisi yang demikian dinamakan sel dalam keadaan poliploidi atau mengganda.

Gelendong pembelahan atau spindel tersusun dari mikrotubula dublet dan mikrotubula dublet disusun oleh mikrotubula singlet. Susunan dari masing-masing mikrotubula singlet terdiri dari protofilamen. Protofilamen merupakan dimer atau polimer protein tubulin a dan b. Kinerja dari oryzalin pada dasarnya adalah menghambat terbentuknya mikrotubula. Oryzalin berikatan dengan dimer tubulin a dan b sehingga tidak terbentuk protofilamen. Tidak terbentuknya protofilamen tersebut mengakibatkan tidak terbentuknya mikrotubul singlet dan dublet sehingga gelendong pembelahan tidak terbentuk. Tidak adanya gelendong pembelahan akan menyebabkan kromosom yang sudah mengganda tetap berada dalam satu sel, karena tidak dipisahkan pada kutub masing-masing saat fase anaphase (Albert dkk, 1991).

2.4 Pengaruh Oryzalin Terhadap Karakter Stomata dan Fenotipik pada Berbagai Tanaman

Oryzalin merupakan zat antimitotik yang menghambat pembentukan mikrotubula sehingga terbentuk tanaman yang mengalami peningkatan ploidi atau disebut tanaman poliploid (Albert dkk, 1991). Pengaruh oryzalin dapat dilihat melalui penampakan luar tanaman. Suminah dkk (2002) menjelaskan bahwa, tanaman poliploidi pada umumnya memiliki ciri bertambahnya ukuran morfologi menjadi lebih besar dari pada ukuran normalnya. Sehingga, pada penelitian banyak digunakan parameter morfologi dalam menganalisis perubahan hasil mutasi yang dilakukan. Bahkan, pengamatan kromosom dan analisis kandungan juga dilakukan untuk memperkuat hasil pengamatan morfologi.

Penelitian yang menunjukkan adanya pengaruh oryzalin seperti yang dilakukan Allum dkk (2007) pada tanaman *Rosa rugosa* bahwa, terjadi penambahan ukuran morfologi pada tanaman hasil induksi oryzalin dibandingkan tanaman normalnya yang diploid. Nugraha (2012) menunjukkan bahwa pada

tanaman jati (*Tectona grandis* L.) terjadi penambahan jumlah kloroplas yang letaknya di bagian sel penjaga dalam stoma. Hasil yang ditunjukkan menjadi dua kali lebih banyak dari tanaman normalnya. Perubahan morfologi yang nampak akibat induksi poliploid ditunjukkan oleh tanaman *Rodhomyrtus tomentosa* yang mampu menghasilkan daun dengan warna yang lebih hijau dari tanaman normalnya, memiliki ketebalan yang lebih dibandingkan tanaman normalnya, serta didapati lebih bergelombang (Normasiwi dan Nurlaeni, 2014).

Tanaman hasil induksi poliploid umumnya memiliki panjang yang lebih rendah dibandingkan dengan tanaman diploidnya (Awoleye dkk, 1994). Dibuktikan oleh penelitian Carvalho dkk (2014) yang menunjukkan bahwa, pemberian konsentrasi 30 μM oryzalin menyebabkan berkurangnya panjang internodus yang berakibat pada berkurangnya panjang tunas yang terbentuk. Selain itu, jumlah nodus akan bertambah, kemudian hal tersebut akan berpengaruh pada peningkatan jumlah tunas dan jumlah daun. Penelitian yang dilakukan oleh (Contreras dan John, 2009) pada tanaman *Hibiscus acetosella* menunjukkan bahwa, tanaman hasil induksi ploidi lebih pendek dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Pengaruh oryzalin dapat pula dilihat dari perubahan yang terjadi pada karakter stomata. Sukamto dkk (2010) memaparkan bahwa, tanaman garut (*Maranta arundinacea*) menghasilkan stomata yang lebih besar dan panjang serta daun yang lebih tebal setelah diberi perlakuan oryzalin. Penelitian serupa dilakukan oleh Rahayu dkk (2015) yang menunjukkan hasil bahwa induksi poliploid yang dilakukan pada tanaman *Phalaenopsis amabilis* dan *Phalaenopsis amboensis* dapat meningkatkan ukuran panjang stomata mencapai 1,25 kali lebih besar jika dibandingkan dengan stomata pada planlet kontrol. Lu dan Bridgen (1997) melaporkan bahwa tanaman *Alstroemaria* sp. diploid mempunyai 39 stomata per mm^2 sedangkan dalam kondisi tetraploid mempunyai kerapatan stomata lebih rendah, yaitu 22 stomata per mm^2 . Hasil penelitian yang mendukung adanya peningkatan ukuran stomata pada tanaman poliploid seperti yang dilakukan oleh (Agogbua dkk, 2015), dengan pemberian oryzalin sebesar 150 μM mampu meningkatkan panjang dan lebar stomata pada tanaman *Zehneria capillacea* (Shumach.) C. Jeffrey. Pertambahan panjang stomata yang terjadi

adalah 13,38 μm menjadi 15,56 μm . Peningkatan lebar stomata yang terjadi adalah 9,50 μm menjadi 11,13 μm . Terjadinya peningkatan ukuran stomata juga ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan Rahman dkk (2017), pada tanaman *Artemisia annua* L. yang diberi perlakuan oryzalin 60 μM mampu meningkatkan panjang stomata sebesar 50,14 μm dibandingkan dengan kontrolnya 28,5 μm , dan peningkatan lebar stomata sebesar 28,52 μm dibandingkan dengan perlakuan kontrolnya 17,43 μm . Xie dkk (2015) juga menunjukkan hasil penelitian serupa, dengan pemberian oryzalin sebanyak 30 μM pada tanaman *Vitis x Muscadinia* optimal dalam meningkatkan panjang stomata 30,5 μm dari kontrolnya 22,8 μm .

Penggunaan oryzalin dalam menginduksi poliploid telah dilakukan pada beberapa tanaman seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Viehmannova dkk (2009) pada tanaman *Smallanthus sonchifolius* (Family *Asteraceae*) memiliki efisiensi dalam menginduksi poliploid sebesar 10% dengan perlakuan oryzalin 25 μM dan perendaman 48 jam. Penelitian yang dilakukan oleh Xie dkk (2015) pada tanaman anggur (*Vitis x Muscadinia hybrids*) didapatkan hasil terbaik pada konsentrasi 15 μM oryzalin dan lama perendaman 24 jam dengan hasil 24.45% kromosom yang tetraploid. Tome (2016) menyatakan bahwa, pemberian oryzalin 10 μM dengan perendaman 24 jam efektif dalam menginduksi kromosom tanaman *Solanum comersonii* menjadi tetraploid dan stomata lebih besar dari kontrolnya. Tome (2016) menyatakan pemberian oryzalin 10 μM dengan perendaman 24 jam efektif dalam menginduksi kromosom tanaman *Solanum comersonii* menjadi tetraploid dan stomata lebih besar dari kontrolnya.

Berdasarkan pemaparan di atas, penggunaan oryzalin sebagai agen pengganda kromosom banyak dilakukan dengan penerapan metode perendaman yang berbeda. Namun, pada beberapa penelitian yang dilakukan secara *In-vitro*, ada yang menggunakan teknik induksi di dalam media dasar. Seperti yang dilakukan oleh Nilanthi dkk (2009) pada tanaman *Echinacea purpurea* L. menggunakan kolkisin dengan durasi inkubasi pada media perlakuan selama 7, 14, 21, dan 28 hari. Metode yang sama dilakukan oleh Rahman dkk (2017) pada *Artemisia annua* L. menggunakan kolkisin dan oryzalin di dalam media perlakuan selama 5 sampai 7 minggu kemudian diaklimatisasi. Tanaman yang sudah diinkubasi di dalam media perlakuan perlu dilakukan pemindahan (subkultur) ke

dalam media baru untuk melihat pertumbuhan setelah terpapar senyawa antimetabolit. Pertumbuhan serta pengaruh antimetabolit secara optimal terlihat apabila eksplan sudah mampu beradaptasi pada media baru (Carvalho dkk, 2016).

2.5 Deteksi Poliploidi

Deteksi poliploidi bisa dilakukan melalui dua cara, yaitu dilakukan secara morfologi dan dilakukan secara molekuler (Yulita dkk, 2014). Proses deteksi mutan yang dilakukan dengan melihat karakter morfologi dilakukan dengan cara melihat adanya perubahan ukuran bagian tanaman seperti batang, daun, akar, jumlah anakan, diameter, dan ukuran bunga. Hasil penelitian dari Hedge dkk (2015) menunjukkan bahwa tanaman hasil induksi poliploidi memiliki tingkat ketebalan daun yang lebih tebal sehingga berpengaruh terhadap meningkatnya berat kering dan berat basah dari daun. Selain itu, tanaman Stevia yang dihasilkan mempunyai daun yang lebih luas dari tanaman diploid pada umumnya. Poerba dkk (2014) menunjukkan bahwa pada tanaman pisang mas lumut hasil penelitiannya memiliki batang semu dengan ukuran yang lebih besar (tebal) dan lebih panjang dari tanaman kontrol. Ditunjukkan dengan daun pisang yang lebih tebal dan merunduk serta mampu menghasilkan buah yang lebih berisi.

Selain morfologi, deteksi mutasi dapat dilakukan melalui pengamatan anatomi tumbuhan salah satunya adalah stomata. Penelitian serupa dilakukan oleh Rahayu dkk (2015) yang menunjukkan hasil bahwa induksi poliploidi yang dilakukan pada tanaman *Phalaenopsis amabilis* dan *Phalaenopsis amboensis* dapat meningkatkan ukuran panjang stomata mencapai 1,25x lebih besar jika dibandingkan dengan stomata pada planlet kontrol. Lu & Bridgen (1997) melaporkan bahwa tanaman *Alstroemariasp.* diploid mempunyai 39 stomata per mm^2 sedangkan dalam kondisi tetraploid mempunyai kerapatan stomata lebih rendah, yaitu 22 stomata per mm^2 .

2.6 Kultur Jaringan Tumbuhan (Teknik *In Vitro*)

Teknik *In Vitro* merupakan teknik yang banyak dilakukan karena prinsip totipotensi sel yang dimilikinya. Teknik ini mempunyai kelebihan karena penanaman dilakukan dalam keadaan aseptis (steril) (Mastuti, 2017). Teknik *In Vitro* atau teknik kultur jaringan tumbuhan termasuk salah satu teknik yang dapat

digunakan dalam menerapkan induksi poliploidi. Dalam upaya pemenuhan kebutuhan pemanis pada kehidupan sehari-hari, keamanan dalam jangka waktu lama merupakan hal yang perlu untuk dipertimbangkan. Dengan demikian, perbanyakan Stevia sangat diperlukan dengan teknik yang tepat dan mampu mempersingkat waktu. Teknik yang tepat dalam perbanyakan Stevia terutama pada kandungannya adalah melalui Kultur jaringan tumbuhan (Mastuti, 2017). Menurut Yuliarti (2010) kultur jaringan merupakan salah satu teknik dalam memperbanyak tumbuhan menggunakan bagian mikro dari tumbuhan itu sendiri dan dilakukan secara *In-vitro*. Proses perbanyakan dalam teknik kultur jaringan ini dilakukan dengan cara aseptis. Semua alat dan bahan yang digunakan harus dalam keadaan yang steril. Selain itu, kultur jaringan ini bisa disebut juga sebagai upaya perbanyakan tumbuhan secara vegetatif.

Kultur jaringan tumbuhan memiliki beberapa tujuan, diantaranya adalah untuk memperbanyak tumbuhan dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan membiakkan tanaman secara konvensional, dapat pula digunakan dalam perbanyakan tumbuhan yang mempunyai sifat unggul, menghasilkan tumbuhan baru yang bebas virus maupun bakteri, dan dapat digunakan dalam melestarikan tumbuhan yang hampir punah (Hendaryono dan Ari, 1994). Kultur jaringan berpacu pada prinsip totipotensi sel. Yuliarti (2010) menjelaskan bahwa, totipotensi sel merupakan kemampuan sel yang dapat tumbuh dan berkembang hingga menghasilkan tumbuhan baru yang utuh.

Keberhasilan perbanyakan tanaman menggunakan teknik *in vitro* ditentukan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah pemilihan eksplan, sterilisasi yang digunakan, dan kondisi lingkungan kultur (pH, Cahaya, dan suhu). Pemilihan bahan kultur (eksplan) bisa menyesuaikan dengan kebutuhan seorang peneliti. Ada beberapa bagian yang bisa digunakan atau yang umumnya digunakan menurut Lingga (2007) adalah biji, akar, dan tunas yang masih muda. Eksplan yang paling sering digunakan adalah tunas muda. Tunas muda yang seharusnya diambil berasal dari tumbuhan induk yang ditanam pada lingkungan sehingga dapat meminimalisir kontaminasi bakteri, jamur, dan lain sebagainya. Ukuran yang seharusnya digunakan acuan dalam pengambilan eksplan tunas adalah \pm 1/13 inci.

Tahapan dalam melaksanakan kultur jaringan secara singkat menurut Mastuti (2017) diawali dari tahap persiapan, inisiasi dan pemeliharaan kultur, multiplikasi, pemanjangan tunas dan induksi akar, serta diakhiri dengan transfer planlet ke lapang atau disebut dengan aklimatisasi. Perbanyakan secara *In Vitro* mampu meningkatkan laju multiplikasi dari perbanyakan hasil stek. Hal ini dikarenakan adanya kondisi lingkungan yang terkontrol dan steril sehingga tanaman akan tumbuh dengan stabil. Lain halnya apabila dilakukan penanaman di lapang, karena kondisi tanaman akan cenderung berubah mengikuti kondisi yang ada pada lingkungan tempat tumbuhnya.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi oryzalin yang digunakan meliputi 0 μM , 15 μM , 25 μM dan 35 μM . Sedangkan faktor kedua adalah lama waktu inkubasi di dalam media oryzalin, yang terdiri dari satu minggu dan dua minggu. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Kombinasi dari kedua perlakuan akan disajikan dalam bentuk (Tabel 3.1):

Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi yang digunakan:

Konsentrasi (μM)	0	15	25	35
Lama Inkubasi (minggu)				
1	K0W1	K15W1	K25W1	K35W1
2	K0W2	K15W2	K25W2	K35W2

Keterangan: K= Konsentrasi Oryzalin dan W= Waktu Inkubasi

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas meliputi konsentrasi oryzalin dan lama waktu inkubasi di dalam media oryzalin. Sedangkan variabel terikatnya meliputi karakter morfologi dan karakter stomata pada *Stevia*.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei -September 2019. Sumber eksplan dikembangkan di *Greenhouse*, proses inisiasi, inkubasi dan analisis morfologi dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan. Sedangkan untuk analisis stomata dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Laboratorium

Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian adalah cawan petri, gelas beker, pengaduk kaca, erlenmeyer, hotplate, botol infuse, timbangan analitik, gelas ukur, bunsen, LAF (Laminar Air Flow), autoklaf, spatula, botol selai, tisu, plastik tahan panas, aluminium foil, alat diseksi, dan karet bening.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar, gula, media *Murashige and Skoog* (MS), oryzalin (ID: 19044-88-3), spiritus, alkohol 70%, alkohol 96%, air steril, aquades, eksplan berupa nodus kedua *Stevia rebaudiana* Bert., dan Clorox.

3.5 Prosedur kerja

3.5.1 Pembuatan Media Pertumbuhan Tunas

Media yang dibuat adalah MS 0 sebagai media dasar pertunasan dan media perlakuan. Pembuatan media dilakukan dengan melarutkan larutan stok yang diambil sesuai takaran pengambilan untuk MS 0. Kemudian ditambahkan agar 10 gr/ Liter dan gula sebanyak 30 gr/ Liter. Gula dilarutkan dalam larutan stok full MS terlebih dahulu kemudian diukur PH (5,7 – 5,8), setelah diukur PH dimasukkan agar dan dimasak menggunakan hotplate sampai mendidih. Media yang sudah matang dimasukkan ke dalam botol kultur (botol infuse) masing-masing ± 10 ml media. Botol ditutup menggunakan plastik tahan panas dan ditali menggunakan karet bening, diberi label.

3.5.2 Sterilisasi Media

Sterilisasi media dilakukan menggunakan autoklaf dengan cara memasukkan botol yang sudah berisi media, sudah tertutup, dan sudah berlabel ke dalam autoklaf dengan suhu 121 °C dan bertekanan 1 atm selama 15-20 menit.

3.5.3 Pembuatan Larutan Oryzalin

Larutan oryzalin dibuat dengan membuat larutan stok 0,01 M yang dilarutkan dalam 5 ml DMSO 5%. Kemudian dibuat sesuai dengan konsentrasi yang akan dipakai dalam penelitian (0, 15, 25, 35 μ M). Berikut perhitungan pengambilan larutan oryzalin sesuai perlakuan:

- **Larutan Stok 0,01 M (10 mM) sebanyak 5 ml)**

$$\begin{aligned}
 0,01 \text{ M} &= n \text{ (mol)/ V (Liter)} \\
 0,1 \text{ M} &= \text{gram/ Mr} \times 1000/5 \\
 0,01 \text{ M} &= \text{gram/ 346,36} \times 200 \\
 0,01 \text{ M} &= 200. \text{ gr/ 346,36} \\
 \text{Gram} \times 200 &= 0,01 \times 346,36 \\
 &= 3,4636 \\
 \text{Gram} &= 3,4636/ 200 \\
 \text{Gram} &= 0,017318 \\
 \text{Mg} &= 17,318 \text{ oryzalin dilarutkan dalam DMSO 5\% mencapai 5ml}
 \end{aligned}$$

- **Perlakuan 15 μ M**

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 0.01 \times V1 &= 0.000015 \times 150 \\
 V1 &= 0.00225/ 0.01 \\
 V1 &= 0.225 \text{ ml (225 } \mu\text{L)}
 \end{aligned}$$

- **Perlakuan 15 μ M**

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 0.01 \times V1 &= 0.000025 \times 150 \\
 V1 &= 0.00375/ 0.01 \\
 V1 &= 0.375 \text{ ml (375 } \mu\text{L)}
 \end{aligned}$$

- **Perlakuan 15 μ M**

$$\begin{aligned}
 M1 \times V1 &= M2 \times V2 \\
 0.01 \times V1 &= 0.000035 \times 150 \\
 V1 &= 0.0052/ 0.01 \\
 V1 &= 0.525 \text{ ml (525 } \mu\text{L)}
 \end{aligned}$$

3.5.4 Pembuatan Media Perlakuan

Larutkan semua komposisi MS 0 ke dalam aquades sesuai kebutuhan media yang akan dibuat. Setelah semua bahan tercampur sampai volume yang

diinginkan kemudian dimasak menggunakan *hotplate* sampai mendidih. Setelah mendidih media dimasukkan ke dalam autoklaf bersama botol steril yang siap ditempati media. Kemudian, media yang masih panas langsung dibawa ke dalam LAF untuk ditambahkan oryzalin, karena sifat oryzalin yang tidak tahan panas sehingga tidak ikut dimasak bersama media. Setelah satu perlakuan selesai, proses penuangan diulang sesuai perlakuan yang ditentukan dan dilakukan di dalam LAF.

3.5.5 Sterilisasi Ruang

Sterilisasi ruang dilakukan dengan menyapu terlebih dahulu. Setelah bersih, lantai dipel menggunakan karbol yang diencerkan dengan air. LAF disterilkan menggunakan penyinaran UV dan disemprot menggunakan alkohol 70% setiap 1 jam sebelum penggunaan inisiasi. Blower dan lampu dinyalakan pada saat inisiasi.

3.5.6 Sterilisasi Alat

Alat diseksi yang meliputi pinset dan scalpel dibungkus menggunakan aluminium foil kemudian dimasukkan dalam satu plastik yang sama (plastik tahan panas) dan diikat menggunakan karet. Selanjutnya dimasukkan dalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama $\pm 15 - 20$ menit. Botol kultur dan alat gelas lain di sterilkan menggunakan oven.

3.5.7 Pengambilan Sampel

Sampel eksplan diperoleh dari PT. Condidio Agro, Pasuruan yang dikembangkan di *Greenhouse* Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pengambilan sampel dilakukan dengan memotong bagian tanaman berupa nodus kedua.

3.5.8 Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang sudah diambil kemudian dicuci bersih menggunakan air mengalir selama 1jam. Kemudian eksplan direndam menggunakan larutan detergen selama 5 menit. Setelah 5 menit eksplan dibilas menggunakan air mengalir sampai bersih dari detergen. Tahap sterilisasi selanjutnya dilakukan di dalam ruang inisiasi. Pertama eksplan direndam dalam Clorox 30% selama 10

menit, kemudian dibilas menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali dan masing-masing bilasan dilakukan selama 5 menit.

3.5.9 Tahap Inisiasi

3.5.9.1 Penanaman Eksplan dan Perlakuan Oryzalin

Eksplan yang sudah steril ditanam pada media MS + oryzalin sesuai konsentrasi (0, 15, 25, dan 35 μM). Media yang sudah ditanami eksplan diinkubasi pada ruangan khusus dengan suhu 21 °C selama satu minggu dan dua minggu.

3.5.9.2 Subkultur

Setelah tanaman diinkubasi selama satu minggu dan dua minggu pada media oryzalin, kemudian disubkultur pada media MS 0. Setiap 3 minggu sekali dilakukan subkultur. Hal ini dilakukan sebanyak 2 kali.

3.6 Analisis Karakter Morfologi

Karakter morfologi yang diamati meliputi hari muncul tunas, jumlah tunas, panjang tunas, panjang dan lebar daun, jumlah daun, jumlah ruas dan deteksi kelainan yang terjadi pada eksplan. Pengamatan dilakukan pada 3 minggu kedua subkultur (6 minggu setelah pindah media).

a. Hari Muncul Tunas

Hari muncul tunas diamati setiap hari sekali dengan melihat pertumbuhan tunas yang muncul. Dicatat waktu muncul tunas hari setelah tanam (HST).

b. Jumlah Tunas

Jumlah tunas dilakukan saat subkultur terakhir pada minggu ke 6 dengan cara menghitung jumlah tunas yang muncul setelah perlakuan.

c. Jumlah Ruas

Pengukuran jumlah ruas dilakukan saat subkultur terakhir pada minggu ke 6 dengan cara menghitung jumlah ruas yang muncul dari setiap eksplan

d. Jumlah Daun

Pengamatan jumlah daun dilakukan saat subkultur terakhir pada minggu ke 6 dengan cara menghitung daun yang muncul pada setiap perlakuan

e. Panjang Tunas

Pengukuran panjang tunas dilakukan saat subkultur terakhir pada minggu ke 6 menggunakan benang yang disejajarkan penggaris, dengan cara mengukur ujung tunas sampai pangkal tunas.

f. Lebar Daun.

Pengamatan lebar daun dilakukan saat subkultur terakhir pada minggu ke 6 dengan mengukur helaian daun terlebar pada setiap perlakuan menggunakan penggaris.

g. Panjang Daun.

Pengukuran panjang daun dilakukan saat subkultur terakhir pada minggu ke 6 di setiap perlakuan menggunakan penggaris. Pengukuran panjang daun dilakukan dengan mengukur mulai dari ujung daun sampai pangkal daun.

3.7 Analisis Stomata

Pengamatan stomata dilakukan saat sub kultur kedua pada minggu ke 6 dengan membuat preparat stomata. Pembuatan preparat dimulai dengan mengambil satu helai daun dari masing-masing perlakuan. Daun yang diambil adalah daun ketiga terhitung dari ujung atau pucuk tanaman. Daun diambil pada pukul 09.00 WIB (Sinta, 2017). Daun yang sudah diambil dilabeli sesuai dengan perlakuannya. Satu per satu daun diambil dan diolesi kutek bening pada bagian abaksial (permukaan bawah) daun dan ditunggu sampai 10 menit. Kemudian olesan kutek yang sudah kering ditempel isolasi bening. Isolasi dikelupas dan ditempelkan pada objek glass, diratakan, kemudian dilakukan pengamatan. Metode pembuatan preparat menurut (Haryanti, 2010).

a. Panjang Stomata

Panjang stomata diukur dengan menggunakan aplikasi *ImageRaster* dan bantuan mikroskop digital binokuler beserta PC yang sebelumnya dibuat

preparat menggunakan kutek bening dan selotip/ isolasi pada permukaan abaksial daun.

b. Lebar Stomata

Lebar stomata diukur dengan menggunakan aplikasi *Image Raster* dan bantuan mikroskop digital binokuler beserta PC yang sebelumnya dibuat preparat menggunakan kutek bening dan selotip/ isolasi pada permukaan abaksial daun.

c. Kerapatan Stomata

Pengamatan kerapatan stomata dihitung menurut rumus dari Willmer (1983):

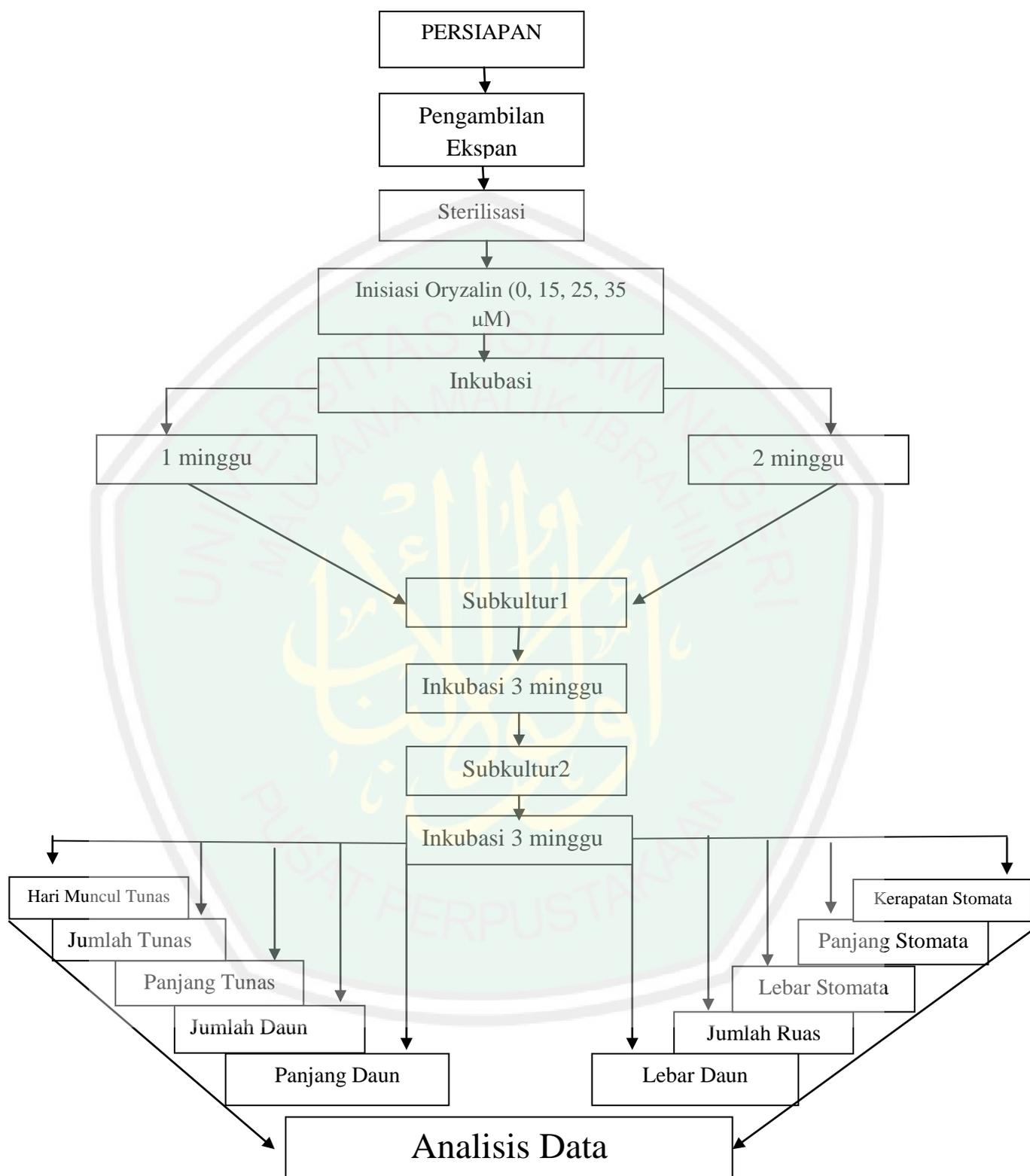
$$\text{Kerapatan} = \frac{\text{Jumlah Stomata}}{\text{LuasBidangPandang}} \dots\dots (1)$$

Keterangan: Luas bidang pandang = $\pi.r^2$

3.8 Analisis Data

Data yang ada pada pengamatan mencakup data kuantitatif yang meliputi, hari muncul tunas, panjang tunas, jumlah tunas, jumlah ruas, jumlah daun, panjang dan lebar daun, lebar dan panjang stomata, kerapatan stomata. Analisis data dilakukan menggunakan uji statistik berupa ANOVA (Analisis Of Varian) dengan taraf signifikansi 5%. Jika terdapat perbedaan nyata, maka dilakukan uji lanjut. Uji lanjut disesuaikan dengan hasil koefisien keragaman (KK). Jika KK besar lebih dari 10% maka dilakukan uji *Duncan*, jika nilai KK sedang (5-10%) dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT), dan jika nilai KK kecil (kurang dari 5%) maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) (Hanafiah, 2014). Pengolahan data dilakukan menggunakan *software* SPSS 16.0.

3.9 Skema Kerja Penelitian



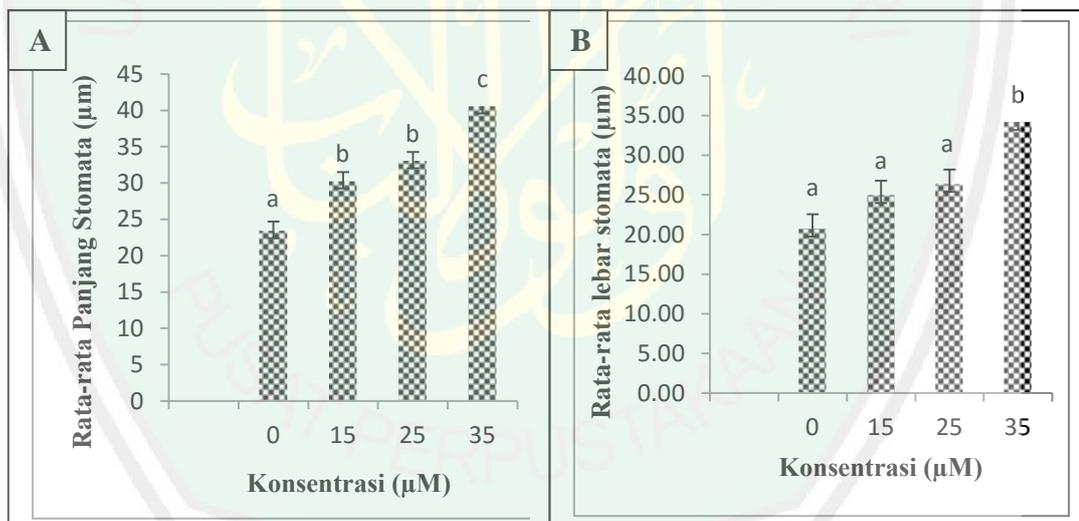
Gambar 3.1 Desain Penelitian

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin, Waktu Inkubasi dan Interaksinya Terhadap Karakter Stomata Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

4.1.1 Panjang dan Lebar Stomata

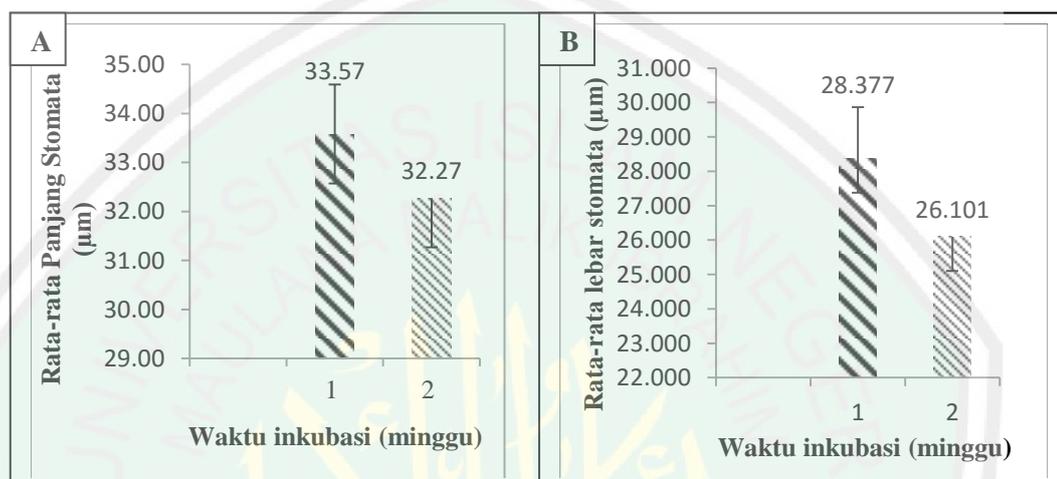
Macam konsentrasi oryzalin yang diberikan berpengaruh terhadap ukuran stomata. Hasil analisis menunjukkan bahwa, semakin tinggi konsentrasi oryzalin yang diberikan diikuti oleh semakin tingginya ukuran stomata. Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap ukuran stomata (panjang dan lebar) tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi 35 μM dengan rata-rata 40,56 μm dan 34,20 μm . Panjang dan lebar stomata terendah ditunjukkan oleh perlakuan kontrol dengan rata-rata 23,42 μm dan 20,74 μm (Gambar 4.1 A dan B)



Gambar 4.1. Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap ukuran (panjang dan lebar) stomata *Stevia rebaudiana* Bertoni. A) Panjang stomata B) Lebar stomata

Perlakuan waktu inkubasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap ukuran stomata tanaman Stevia. Semakin lama waktu inkubasi yang diberikan, menunjukkan bahwa semakin menurun ukuran stomata yang dihasilkan. Pengaruh

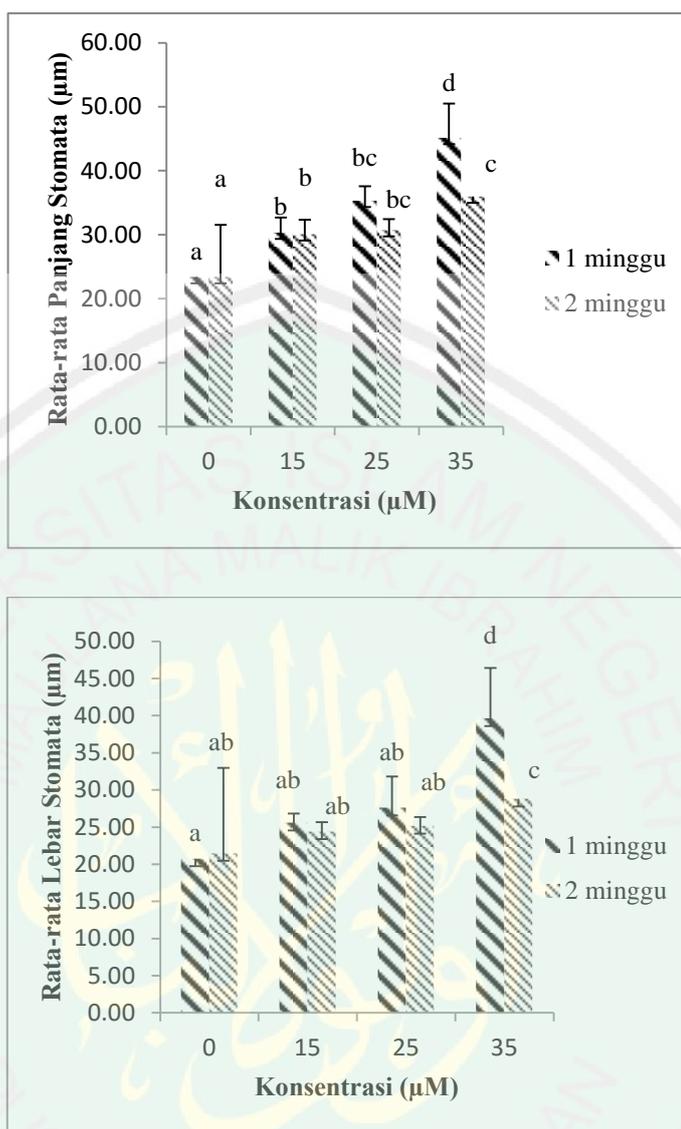
perbedaan waktu inkubasi yang ditunjukkan tidak memiliki perbedaan yang banyak. Nilai rata-rata panjang dan lebar stomata yang dihasilkan adalah 33,57 μm dan 28,37 μm pada perlakuan satu minggu. Sedangkan pada perlakuan dua minggu inkubasi dihasilkan nilai rata-rata yang lebih rendah yaitu 32,27 μm dan 26,10 μm (Gambar 4.2 A dan B)



Gambar 4.2. Pengaruh waktu inkubasi terhadap ukuran (panjang dan lebar) stomata *Stevia rebaudiana* Bertoni. A) Panjang stomata B) Lebar stomata

Interaksi perlakuan konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi yang diberikan berhasil meningkatkan ukuran stomata kecuali perlakuan konsentrasi 35 μM dengan waktu inkubasi dua minggu pada panjang stomata. Ukuran stomata terbesar dihasilkan oleh interaksi perlakuan konsentrasi 35 μM dan waktu inkubasi di dalam media oryzalin selama satu minggu dengan rata-rata ukuran stomata (panjang 45,1 μm dan lebar 29,61 μm). Hasil paling rendah ditunjukkan oleh perlakuan kontrol dengan rata-rata (23,4 μm dan 20,74 μm) (Gambar 4.3 A dan B)

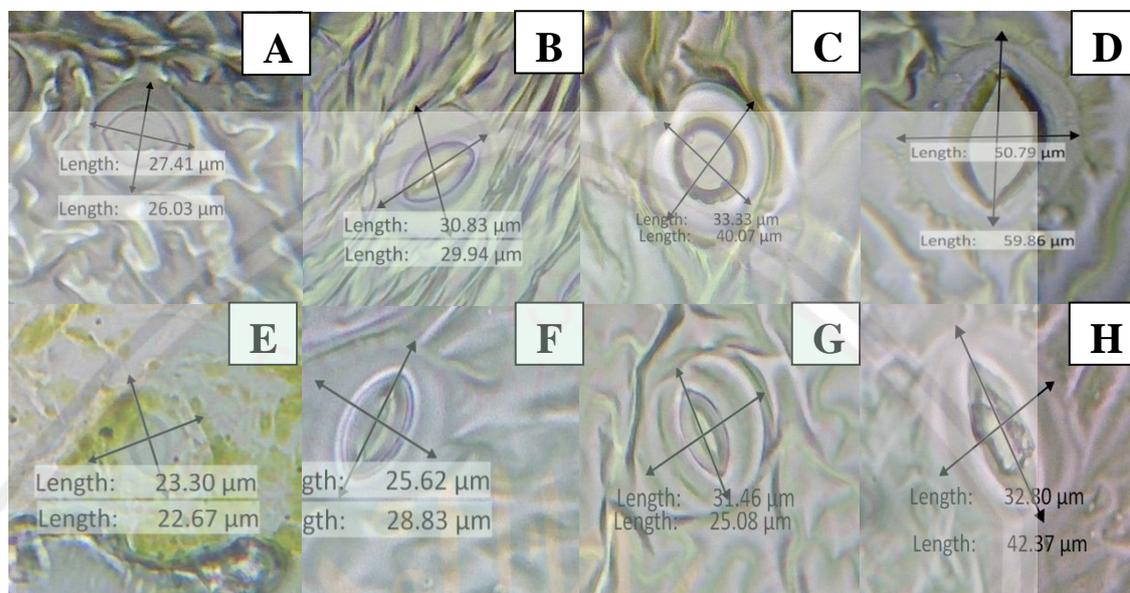
Bertambahnya ukuran stomata berkaitan dengan menggandanya kromosom tanaman poliploid sehingga ukuran sel bertambah. Tanaman poliploid memiliki ukuran sel yang lebih besar dibandingkan dengan tanaman diploid (Jovtchev dkk, 2006; Dunn dan Lindstrom , 2007; Campos dkk, 2009; Sajjad dkk, 2013).



Gambar 4.3. Pengaruh interaksi konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap ukuran stomata tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.). A) Panjang Stomata B) Lebar Stomata

Spesies lain yang menunjukkan hal serupa seperti, *Astragalus membranaceus* (Chen dan Gao, 2007) dan *Tagetes erecta* (Murti dkk, 2012), panjang dan lebar stomata memiliki hubungan yang berbanding lurus dengan peningkatan ploidi pada tanaman. Semakin bertambahnya tingkat ploidi pada tanaman akan menyebabkan pembesaran sel dan berdampak pada pembesaran ukuran stomata. Sehingga panjang dan lebar stomata dinyatakan sebagai parameter yang efektif

digunakan dalam menentukan peningkatan ploidi pada tanaman (Joshi dan Verma, 2004; Chen dan Gao, 2007).



Gambar 4.4. Pengaruh konsentrasi dan waktu inkubasi terhadap panjang dan lebar stomata Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) perbesaran 400 kali. Keterangan: A) Kontrol, B) Konsentrasi 15 µM inkubasi satu minggu, C) Konsentrasi 25 µM inkubasi satu minggu, D) Konsentrasi 35µM inkubasi satu minggu, E) Kontrol, F) Konsentrasi 15 µM inkubasi dua minggu, G) konsentrasi 25 µM inkubasi dua minggu, H) Konsentrasi 35 µM inkubasi dua minggu

Hasil penelitian yang mendukung adanya peningkatan ukuran stomata pada tanaman poliploid seperti yang dilakukan oleh (Agogbua dkk, 2015), dengan pemberian oryzalin sebesar 150 µM mampu meningkatkan panjang dan lebar stomata pada tanaman *Zehneria capillacea* (Shumach.) C. Jeffrey. Peningkatan panjang stomata yang terjadi adalah 13,38 µm menjadi 15,56 µm. Peningkatan lebar stomata yang terjadi adalah 9,50µm menjadi 11,13µm. Terjadinya peningkatan ukuran stomata juga ditunjukkan oleh Rahman dkk (2017), pada tanaman *Artemisia annua* L. yang diberi perlakuan oryzalin 60µM mampu meningkatkan panjang stomata sebesar 50,14 µm dibandingkan dengan kontrolnya 28,5µm, dan peningkatan lebar stomata sebesar 28,52 µm dibandingkan dengan perlakuan kontrolnya 17,43 µm. Xie dkk (2015) juga

menunjukkan hasil penelitian serupa, dengan pemberian oryzalin sebanyak 30 μM pada tanaman *Vitis x Muscadinia* optimal dalam meningkatkan panjang stomata 30,5 μm dari kontrolnya 22,8 μm .

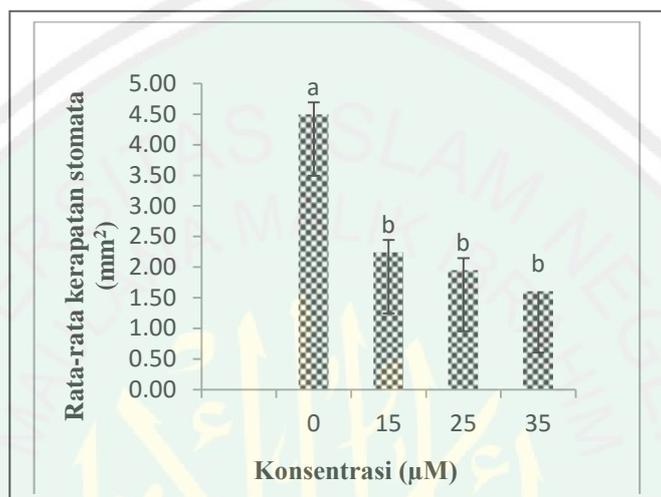
Stomata menjadi penting untuk diamati sebagai indikasi terjadinya ploidi pada tanaman karena berkaitan dengan proses transpirasi dan fotosintesis pada tanaman. Stomata merupakan tempat terjadinya transpirasi terbesar jika dibandingkan dengan lentisel dan kutikula (Izza dan Ainun, 2015). Bertambahnya ukuran panjang dan lebar stomata secara otomatis akan mempengaruhi laju transpirasi dan fotosintesis pada tanaman tersebut (Rohmah dkk, 2017). Terjadinya peningkatan laju fotosintesis pada tanaman poliploid maka dapat menghasilkan fotosintat dalam jumlah yang lebih banyak, dengan demikian cadangan makanan yang dimiliki tanaman tersebut akan lebih banyak untuk menunjang kelangsungan hidup (Rachmawati dkk, 2009).

Bertambahnya ukuran sel yang terjadi pada Stevia diduga karena adanya peningkatan jumlah kromosom dalam selnya. Peningkatan kromosom dalam sel akan memicu aktivitas gen-gen di dalam sel, sehingga berpengaruh pada peningkatan metabolisme dan sintesis protein (Syaifudin dkk, 2013). Dengan adanya peningkatan aktivitas gen dan sintesis protein di dalam sel, diharapkan mampu memicu terbentuknya kandungan *steviosida* yang lebih banyak pada Stevia yang poliploid dibandingkan dengan tanaman diploidnya.

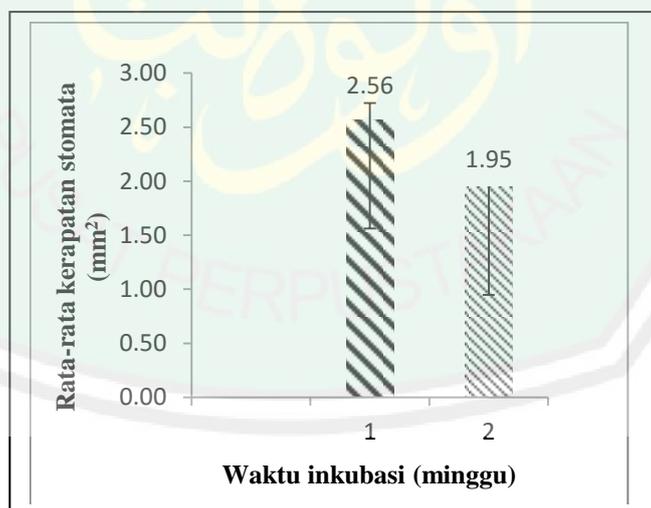
4.1.2 Kerapatan Stomata

Hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi yang diberikan pada Stevia berpengaruh terhadap kerapatan stomata. Terbukti bahwa semakin tinggi konsentrasi oryzalin yang diberikan, maka dihasilkan kerapatan stomata yang semakin rendah. Hasil terbaik adalah ketika kerapatan stomata menurun karena bertambahnya ukuran stomata. Maka, hasil terbaik dihasilkan oleh pemberian konsentrasi oryzalin 35 μM dengan kerapatan stomata paling rendah, yaitu 1,60 mm^2 . Hasil kerapatan stomata yang dihasilkan dari pemberian konsentrasi 35 μM berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 15 dan 25 μM . Hasil kerapatan stomata paling tinggi ditunjukkan oleh perlakuan kontrol dengan kerapatan 4,49 mm^2 (Gambar 4.5).

Perlakuan waktu inkubasi yang berbeda tidak menunjukkan hasil kerapatan stomata yang berbeda nyata antar perlakuannya. Meskipun memiliki total kerapatan yang berbeda, namun kerapatan yang dihasilkan berkisar antara 1,95 mm² sampai 2,56 mm². Semakin lama waktu inkubasi yang diberikan, nilai kerapatan stomata juga menurun (Gambar 4.6).



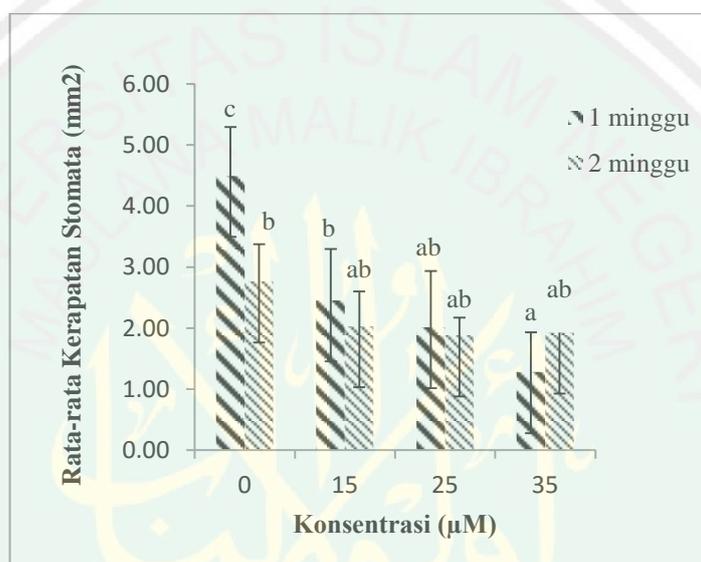
Gambar 4.5. Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap kerapatan stomata tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)



Gambar 4.6. Pengaruh waktu inkubasi terhadap kerapatan stomata tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Interaksi pemberian macam konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi menunjukkan hasil yang berbeda nyata antar perlakuan terhadap kerapatan

stomata tanaman Stevia. Kerapatan stomata semakin menurun seiring dengan penambahan konsentrasi dan penambahan waktu inkubasi, kecuali pada konsentrasi 35 μM dengan waktu inkubasi dua minggu. Kerapatan stomata paling tinggi terlihat pada tanaman kontrol (4,49 mm^2), sedangkan kerapatan paling rendah ditunjukkan oleh perlakuan konsentrasi 35 μM dan waktu inkubasi satu minggu dengan nilai kerapatan sebesar 1,28 mm^2 . Hasil tersebut berbeda nyata dengan hasil kerapatan pada interaksi perlakuan lainnya (Gambar 4.7)

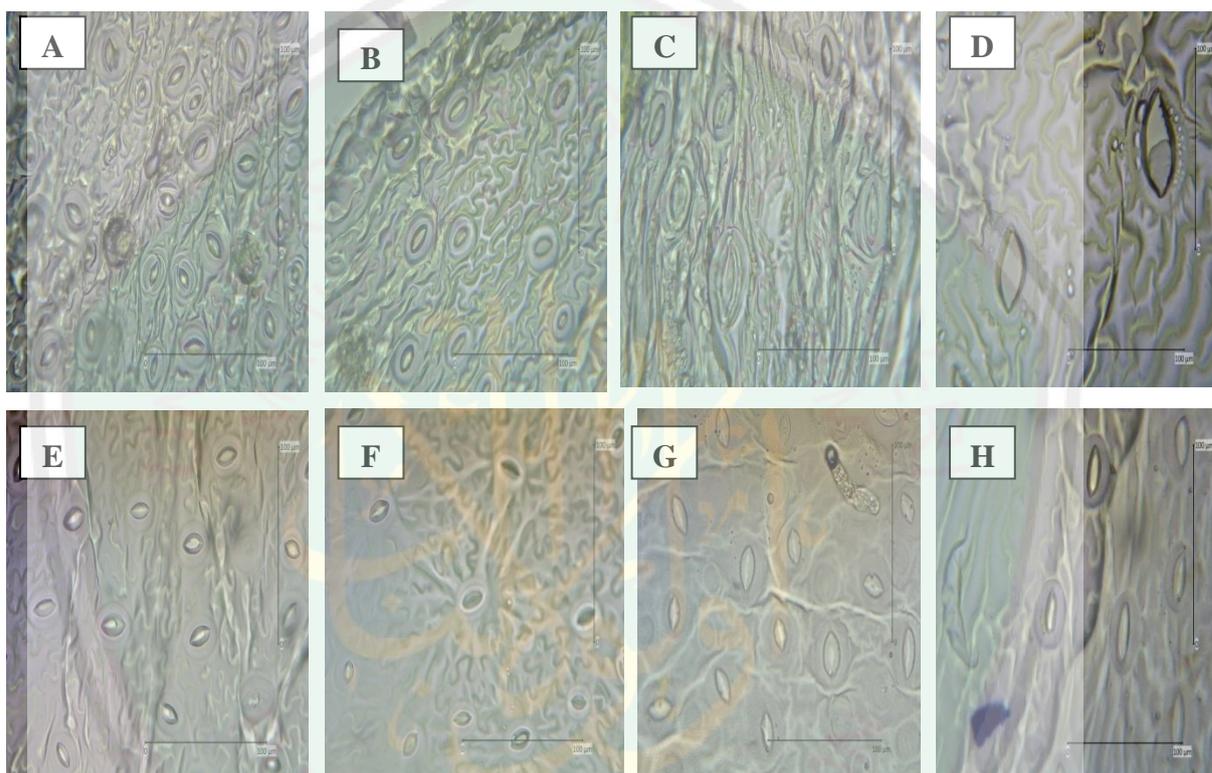


Gambar 4.7. Pengaruh konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap kerapatan stomata tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Kerapatan stomata berbanding lurus dengan jumlah stomata. Semakin banyak jumlah stomata maka nilai kerapatan akan semakin tinggi (Izza dan Ainun, 2015) (Gambar 4.8). Berkurangnya jumlah stomata dalam satuan luas terjadi karena adanya peningkatan ukuran sel pada tanaman poliploid (Joshi dan Verma, 2004).

Pemberian oryzalin 35 μM merupakan konsentrasi yang menunjukkan hasil kerapatan stomata terendah. Hal ini dapat dijadikan sebagai indikator dalam menentukan ploidi pada tanaman. Kerapatan stomata pada tanaman poliploid lebih rendah dari tanaman diploid dikarenakan ukuran stomata dan juga sel epidermis yang lebih besar pada tanaman poliploid (Yunus dkk, 2018). Sehingga,

dapat disimpulkan bahwa, meningkatnya ukuran stomata (panjang dan lebar) berbanding terbalik dengan kerapatan stomata. Semakin besar ukuran stomata akan mengurangi kerapatan, karena jarak antar stomata menjadi bertambah. Sedangkan semakin kecil ukuran stomata maka jarak antar stomata menjadi berkurang, sehingga terdapat banyak stomata dalam satu bidang pandang (Khazaei dkk, 2010; Miller dkk, 2012).



Gamba 4.8. Pengaruh konsentrasi dan waktu inkubasi terhadap kerapatan stomata *Stevia (Stevia rebaudiana Berton)* perbesaran 400 kali. Keterangan: A) Kontrol, B) Konsentrasi $15\mu\text{M}$ inkubasi satu minggu, C) Konsentrasi $25\mu\text{M}$ inkubasi satu minggu, D) Konsentrasi $35\mu\text{M}$ inkubasi satu minggu, E) Kontrol, F) Konsentrasi $15\mu\text{M}$ inkubasi dua minggu, G) konsentrasi $25\mu\text{M}$ inkubasi dua minggu, H) Konsentrasi $35\mu\text{M}$ inkubasi dua minggu

Kerapatan stomata juga mempengaruhi laju transpirasi yang terjadi pada tanaman. Jika jumlah stomata terlalu banyak dan jarak antar stomata terlalu berdekatan dapat berpengaruh pada penurunan laju transpirasi. Hal ini terjadi karena celah stomata akan menutupi penguapan yang terjadi pada celah lainnya

(Izza dan Ainun, 2015). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rahman dkk (2017) menunjukkan bahwa, pemberian oryzalin sebesar 60 μM pada tanaman *Artemisia annua* L. mampu mengurangi nilai kerapatan stomata sebesar 58,41 mm^2 jika dibandingkan dengan tanaman kontrolnya sebesar 106,72 mm^2 . Penelitian lain yang dilakukan oleh Agogbua dkk (2015) pada tanaman *Zehneria capillacea* (Shumach.) C. Jeffrey menunjukkan bahwa, setelah diberi perlakuan oryzalin sebesar 150 μM kerapatan stomata sebesar 17,40 mm^2 dari kontrolnya 18,79 mm^2 . Hal serupa ditunjukkan pada tanaman *Vitis x muscadinia* setelah diberi perlakuan oryzalin sebanyak 30 μM mempunyai kerapatan stomata sebesar 104 mm^2 dari kontrolnya 186,6 mm^2 (Xie dkk, 2015).

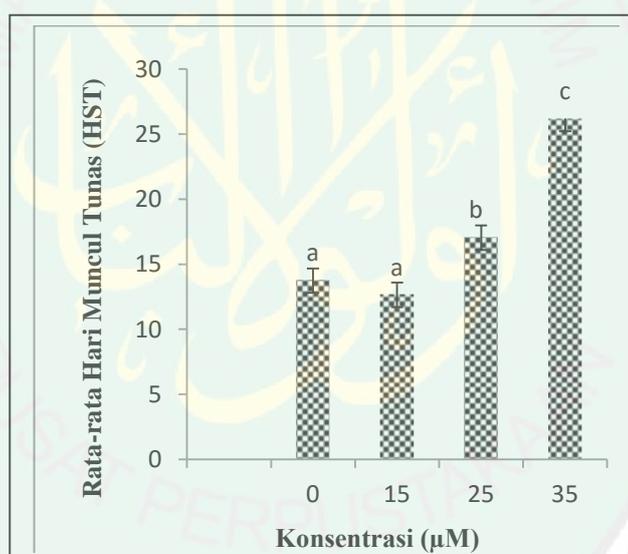
4.2 Pengaruh Konsentrasi Oryzalin, Waktu Inkubasi dan Interaksinya Terhadap Karakter Morfologi Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Karakter morfologi yang diamati dalam penelitian ini meliputi hari muncul tunas, jumlah tunas, jumlah nodus, jumlah daun, panjang tunas, lebar daun, dan panjang daun. Masing-masing data yang didapatkan dianalisis menggunakan program SPSS. Parameter yang diamati menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata dari setiap perlakuan seperti pada hari muncul tunas, panjang tunas, jumlah tunas, jumlah nodus, jumlah daun, dan lebar daun. Sedangkan parameter yang tidak menunjukkan adanya pengaruh nyata adalah panjang daun. Hal ini disebabkan oleh kurang optimalnya pengamatan yang dilakukan di dalam botol. Umumnya, pengamatan karakter morfologi akan sangat terlihat apabila tanaman sudah dipindah tanam pada media tanah. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sinta (2017) pada tanaman Stevia juga melaksanakan pengamatan morfologi setelah tanaman pindah tanam ke lingkungan di luar botol. Penelitian yang dilakukan oleh (Chauvin dkk, 2003) pada *Solanum* menyebutkan bahwa, beberapa planlet akan berkembang normal setelah perlakuan oryzalin secara *In Vitro* dengan diaklimatisasi. Modin dkk (2018) menyebutkan bahwa, pengamatan pengaruh ploidisasi terhadap morfologi tanaman tidak dilakukan secara *in vitro* pada beberapa spesies. Hal ini disebabkan karena terbatasnya periode tumbuh di dalam kondisi *in vitro* sehingga tidak cukup untuk melihat adanya perbedaan pada perkembangan tanaman. Teknik *In Vitro* membantu mendapatkan solid mutan

dengan mengacu pada prinsip totipotensi sel, sedangkan untuk melihat pertumbuhan morfologi yang optimal dilakukan setelah tanaman diaklimatisasi.

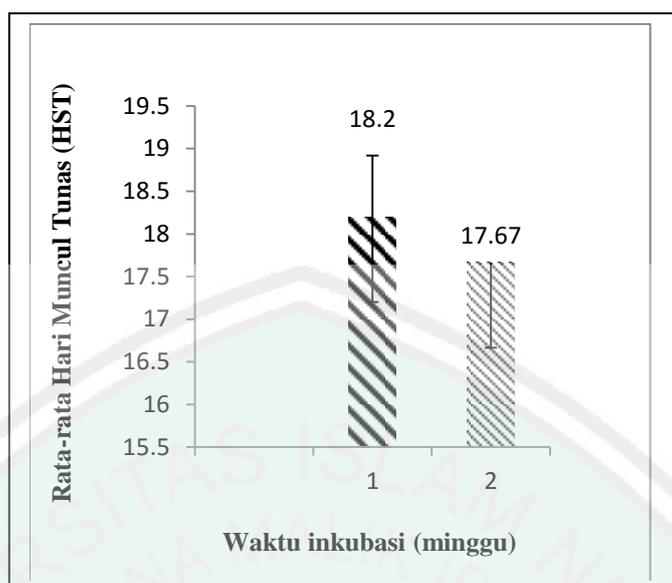
4.2.1 Hari Muncul Tunas

Hari muncul tunas merupakan salah satu parameter yang diamati dalam penelitian ini. Hari muncul tunas menjadi penting dilakukan untuk mengetahui respon tanaman setelah diberi perlakuan zat antimitotik. Hari muncul tunas mengalami perlambatan seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Tunas paling lambat muncul pada pemberian oryzalin 35 μM dengan waktu muncul tunas 26 Hari Setelah Tanam (HST). Hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 15 dan 25 μM . Tunas paling cepat muncul pada tanaman kontrol dengan waktu 12 HST (Gambar 4.9)



Gambar 4.9. Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap Hari Muncul Tunas tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Perbedaan waktu inkubasi yang diberikan tidak berpengaruh terhadap waktu muncul tunas tanaman Stevia. Terlihat pada waktu inkubasi dua minggu tunas muncul lebih awal dibandingkan pada perlakuan dua minggu inkubasi, yaitu (18,2 dan 17,6) pada satu minggu dan dua minggu inkubasi (Gambar 4.10). Namun, rata-rata tidak berbeda nyata.

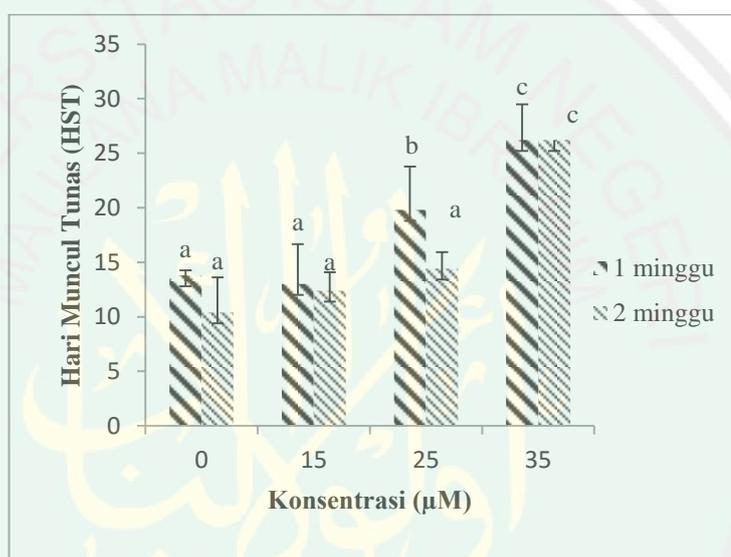


Gambar 4.10. Pengaruh waktu inkubasi terhadap Hari Muncul Tunas tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Interaksi antara kedua faktor menunjukkan adanya perbedaan terhadap hari muncul tunas. Hari muncul tunas paling lambat pada perlakuan konsentrasi oryzalin 35 μM inkubasi satu minggu dan dua minggu, yaitu 26 Hari Setelah Tanam (HST), sedangkan tunas muncul paling cepat pada perlakuan kontrol di hari ke 19 setelah penanaman. Interaksi konsentrasi 35 μM dengan waktu perendaman satu minggu menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan interaksi lainnya (Gambar 4.11).

Perbedaan hari muncul tunas pada planlet hasil induksi oryzalin disebabkan karena perbedaan konsentrasi dan lama inkubasi. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa, oryzalin mampu menghambat pertumbuhan apabila konsentrasi yang diberikan berlebihan. Tanaman yang diinduksi menggunakan senyawa antimitotik akan menunjukkan respon yang berbeda karena sel akan melakukan adaptasi terlebih dahulu sebelum melanjutkan pertumbuhan. Lama waktu paparan dan konsentrasi oryzalin berpengaruh terhadap pola adaptasi tanaman sehingga tanaman akan menunjukkan respon lambat dalam memunculkan tunas, lain halnya dengan tanaman kontrol yang cepat bertunas dalam waktu 13 hari setelah tanam (Nugraha, 2012). Adaptasi yang dilakukan

tanaman berbeda-beda. Ketika terpapar zat antimitotik, tanaman akan menunjukkan respon dengan lambatnya pertumbuhan. Namun, dalam waktu yang tepat tanaman akan meningkatkan kapasitas regeneratifnya menuju pertumbuhan terbaik jika konsentrasi yang diberikan sesuai (Carvalho dkk, 2016). Semakin lama paparan zat antimitotik terhadap tanaman akan berpengaruh pada lamanya waktu tanaman untuk melakukan *recovery* (pemulihan). Sel akan membelah ketika lingkungan mendukung, apabila lingkungan tidak mendukung maka sel akan berhenti berproses (Syukur dkk, 2013).



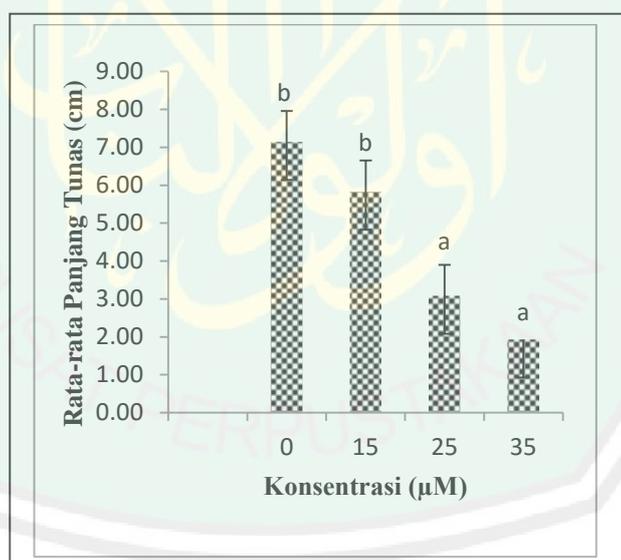
Gambar 4.11. Pengaruh interaksi konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap hari muncul tunas (HMT) tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Munculnya tunas juga disebabkan karena adanya dorongan hormon endogen dari dalam tanaman itu sendiri. Hormon endogen yang berperan dalam menginduksi munculnya tunas adalah sitokinin. Menurut (Carvalho dkk, 2016) perlakuan oryzalin yang diberikan pada tanaman akan berpengaruh terhadap keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam tanaman. Li dan Bangerth (2003) menyebutkan bahwa munculnya tunas tidak lepas dari hormon promotor seperti sitokinin dan auksin, yang diperjelas oleh Dun dkk (2006) jika auksin berdiri sendiri tidak mencukupi untuk memicu pertumbuhan awal tunas lateral. Sehingga

diduga terhambatnya perkembangan organ terjadi karena pengaruh fitotoksik dari oryzalin. Namun, dalam kondisi dan konsentrasi yang sesuai senyawa antimitotik akan memicu kerja hormon dalam meningkatkan pertumbuhan.

4.2.2 Panjang Tunas

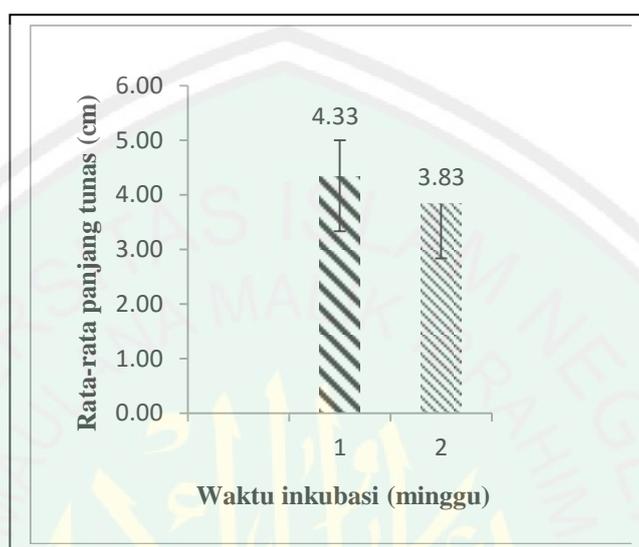
Pemberian konsentrasi oryzalin yang berbeda-beda juga menunjukkan pengaruh yang berbeda. Terbukti dari hasil analisis yang dilakukan pada tanaman Stevia. Pemberian macam konsentrasi oryzalin mampu mempengaruhi panjang tunas tanaman Stevia. Pengaruh panjang tunas paling nyata terlihat pada perlakuan kontrol dengan rata-rata panjang tunas 7,14 cm, sedangkan tunas paling pendek pada perlakuan konsentrasi oryzalin 35 μM (1,93 cm) (Gambar 4.12). Planlet yang memiliki panjang paling kecil dan memiliki banyak tunas adalah hasil yang diharapkan dalam penleitian poliploid. Sehingga, dalam hal ini perlakuan terbaik ditunjukkan oleh pemberian konsentrasi sebesar 35 μM .



Gambar 4.12. Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap panjang tunas tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Lama waktu inkubasi yang diberikan tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada panjang tunas tanaman Stevia. Namun, pada kedua waktu inkubasi memiliki hasil panjang tunas yang berbeda. Panjang tunas pada

perlakuan satu minggu inkubasi adalah 4,3 cm dan 3,8 cm pada perlakuan dua minggu inkubasi (Gambar 4.13). Perbedaan dari kedua panjang tunas tidak signifikan sehingga dinyatakan bahwa perlakuan waktu saja tidak berpengaruh pada panjang tanaman Stevia.

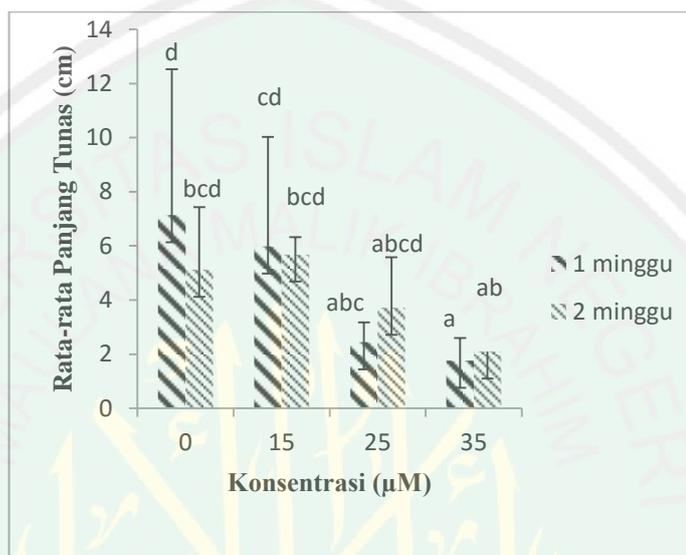


Gambar 4.13. Pengaruh waktu inkubasi terhadap panjang tunas tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Interaksi dari kedua faktor menunjukkan adanya perbedaan panjang tunas tanaman Stevia. Perbedaan panjang tunas yang dihasilkan berbeda nyata antar perlakuan. Hasil planlet yang memiliki tunas paling panjang dibandingkan lainnya adalah kontrol dengan rata-rata 5,2 cm dan panjang tunas terendah dihasilkan oleh perlakuan 35 μ M dengan lama inkubasi satu minggu dengan rata-rata 1,76 cm (Gambar 4.14).

Panjang tunas berpengaruh pada jumlah nodus yang dihasilkan oleh tanaman. Hasil pada penelitian ini menunjukkan perbedaan panjang tunas pada perlakuan 35 μ M dengan perlakuan kontrol. Hal ini diduga karena planlet telah mengalami ploidisasi, sehingga menunjukkan panjang tanaman yang berbeda dengan kontrol. Planlet kontrol memiliki panjang tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Namun, panjang tunas pada perlakuan kontrol diikuti dengan pemanjangan pada ruas dan sedikitnya daun yang

terbentuk. Hal ini diduga karena sel telah mengalami proses adaptasi dari paparan oryzalin dan mampu bertahan dengan konsentrasi optimal sebesar 35 μM dan lama waktu inkubasi satu minggu. Henuhili dan Sutarsih (2003) menyebutkan bahwa, tanaman yang telah mengalami ploidisasi akan menunjukkan bagian-bagian yang membesar akibat dari penggandaan kromosom yang terjadi.

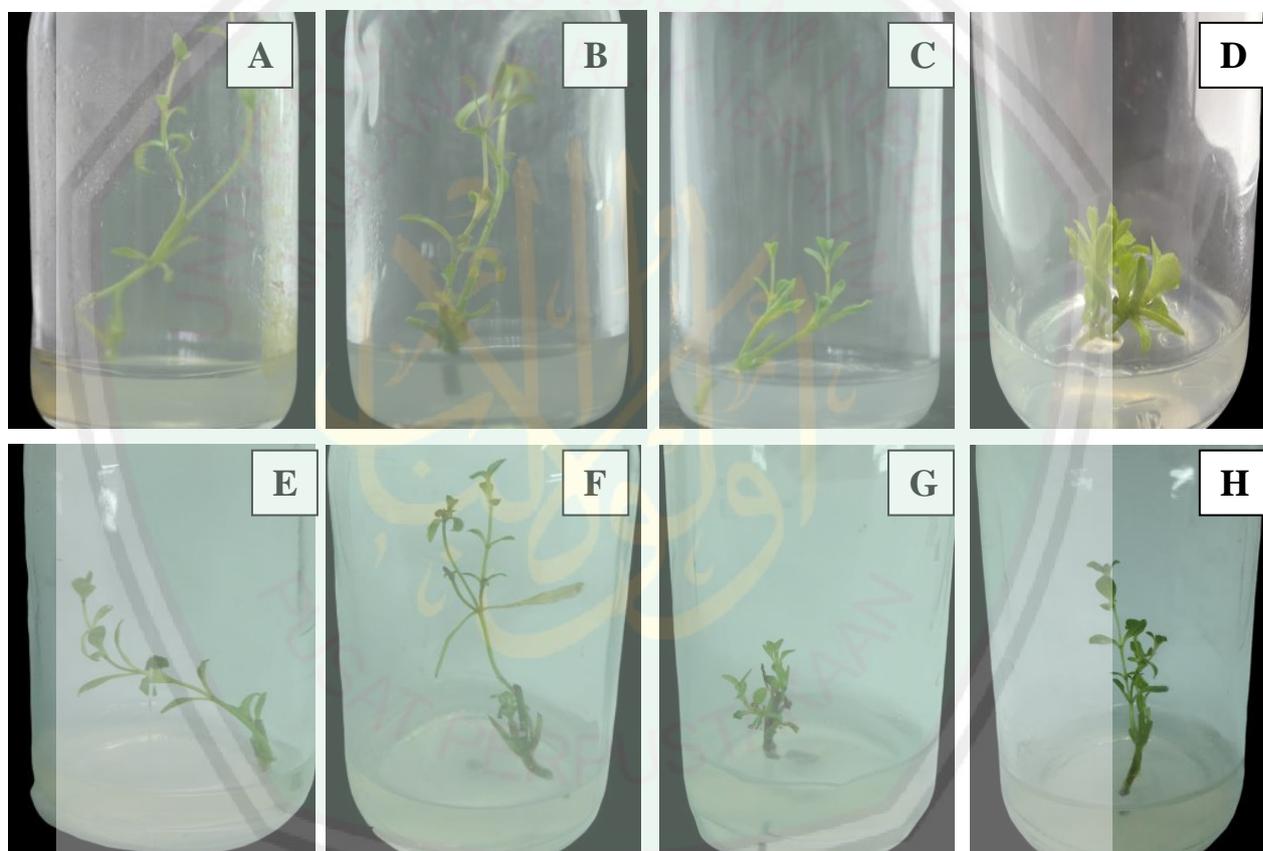


Gambar 4.14. Pengaruh interaksi konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap Panjang tunastanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Hal ini dapat diasumsikan bahwa pemberian oryzalin merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi tinggi tanaman Stevia. Berdasarkan penjelasan dari Salisbury dan Ross (1995), faktor yang mempengaruhi tinggi tanaman dibagi menjadi faktor internal dan eksternal. Faktor internal berupa hormon endogen yang memicu pertumbuhan tanaman dan faktor eksternal seperti cahaya, suhu, dan kondisi lingkungan hidup tanaman. Hormon yang berperan dalam mempengaruhi tinggi tanaman adalah auksin dan giberelin.

Tanaman hasil induksi poliploid umumnya memiliki panjang yang lebih rendah dibandingkan dengan tanaman diploidnya (Awolaye dkk, 1994). Penelitian yang dilakukan oleh Carvalho dkk (2014) menunjukkan bahwa, dengan konsentrasi 30 μM oryzalin menyebabkan berkurangnya panjang internodus yang

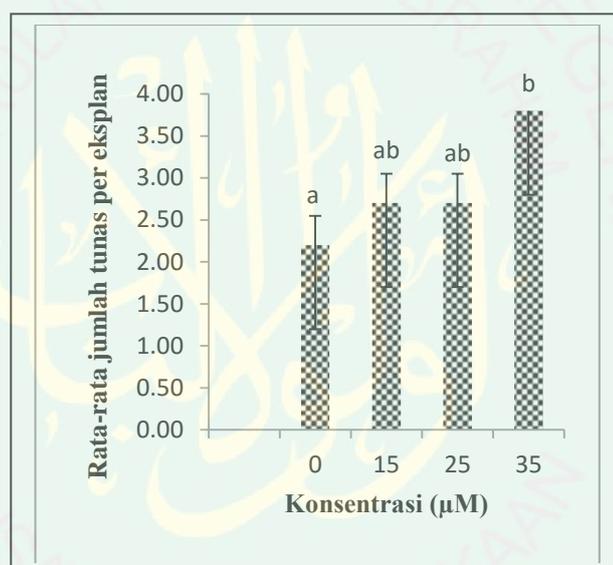
berakibat pada berkurangnya panjang tunas yang terbentuk. Selain itu, jumlah nodus akan bertambah, kemudian hal tersebut akan berpengaruh pada peningkatan jumlah tunas dan jumlah daun. Penelitian yang dilakukan oleh (Contreras dan John, 2009) pada tanaman *Hibiscus acetosella* menunjukkan bahwa, tanaman hasil induksi ploidi lebih pendek dibandingkan dengan tanaman kontrol. Hal ini berkaitan dengan memendeknya ruas pada tanaman dan disertai dengan meningkatnya jumlah nodus. Perlakuan oryzalin yang mampu memberikan pengaruh terhadap panjang tunas pada penelitian tersebut adalah $150 \mu\text{M}$.



Gambar 4.15. Pengaruh konsentrasi oryzalin, waktu inkubasi, dan interaksinya terhadap morfologi tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni). A) Kontrol, B) Konsentrasi $15 \mu\text{M}$ inkubasi satu minggu, C) Konsentrasi $25 \mu\text{M}$ inkubasi satu minggu, D) Konsentrasi $35 \mu\text{M}$ inkubasi satu minggu, E) Kontrol, F) Konsentrasi $15 \mu\text{M}$ inkubasi dua minggu, G) Konsentrasi $25 \mu\text{M}$ inkubasi dua minggu, dan H) Konsentrasi $35 \mu\text{M}$ inkubasi dua minggu

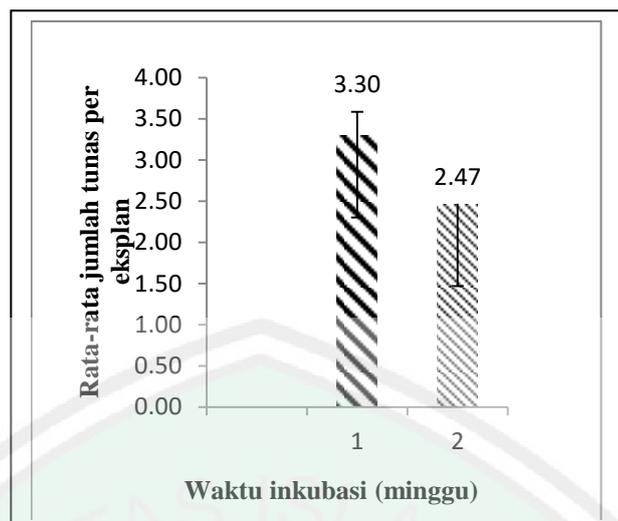
4.2.3 Jumlah Tunas

Jumlah tunas dalam penelitian poliploid menjadi penting untuk diamati karena dapat digunakan sebagai penentu dalam melihat pertumbuhan tanaman. Pemberian konsentrasi oryzalin yang berbeda-beda juga menunjukkan pengaruh yang berbeda pada parameter jumlah tunas. Semakin meningkat taraf konsentrasi yang diberikan, dihasilkan jumlah tunas yang semakin meningkat pula. Hasil yang signifikan ditunjukkan oleh pemberian konsentrasi $35\mu\text{M}$ dengan rata-rata jumlah tunas paling banyak, yaitu 3,80 tunas per eksplan. Hasil tersebut berbeda nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi di bawahnya. Tunas paling sedikit terlihat pada tanaman kontrol dengan rata-rata 2,20 tunas per eksplan (Gambar 4.16).



Gambar 4.16 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap jumlah tunas tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

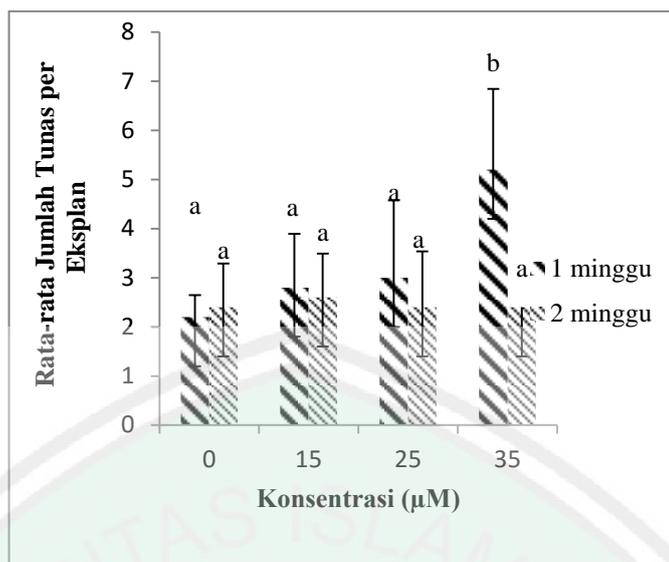
Perlakuan lama waktu inkubasi yang diberikan tidak menunjukkan adanya pengaruh pada jumlah tunas tanaman Stevia. Rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan pada perlakuan satu minggu inkubasi adalah 3,30 tunas per eksplan sedangkan pada perlakuan dua minggu inkubasi dihasilkan 2,47 tunas per eksplan. Hasil tersebut tidak berbeda nyata berdasarkan uji statistik yang dilakukan (Gambar 4.17).



Gambar 4.17 Pengaruh waktu inkubasi terhadap jumlah tunas tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Interaksi dari faktor konsentrasi dan lama waktu inkubasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan terhadap jumlah tunas tanaman Stevia. Hasil yang menunjukkan jumlah tunas paling banyak adalah pada konsentrasi 35 μM dengan waktu inkubasi satu minggu dengan rata-rata 5,2 tunas per eksplan. Hasil interaksi tersebut berbeda nyata dengan perlakuan interaksi yang lainnya, sedangkan jumlah tunas paling rendah dihasilkan oleh perlakuan kontrol dengan rata-rata 2,2 tunas per eksplan (Gambar 4.18).

Jumlah tunas dapat digunakan sebagai indikator dalam menentukan ploidi pada tanaman yang terpapar zat antimitotik. Pertumbuhan tunas dipengaruhi oleh aktivitas sel meristematik, pada tanaman yang mengalami peningkatan ploidi memiliki jumlah tunas lebih banyak dibandingkan dengan tanaman kontrol (Friska dan Budi, 2017; Sinta, 2017). Hal ini disebabkan oleh penambahan jumlah kromosom pada tanaman poliploid. Menurut Syaifudin dkk (2013), pemberian senyawa antimitotik akan meningkatkan jumlah kromosom di dalam sel. Meningkatnya jumlah kromosom akan menyebabkan adanya peningkatan aktivitas gen-gen yang berfungsi mengatur berbagai proses metabolisme di dalam sel. Sehingga, mengakibatkan peningkatan produksi hormon-hormon pertumbuhan tanaman.



Gambar 4.18. Pengaruh interaksi konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap jumlah tunas tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Hasil serupa ditunjukkan oleh Wulansari dkk (2016) bahwa, dengan pemberian oryzalin $7.5 \mu\text{M}$ pada tanaman *Colocasia esculenta* berpengaruh terhadap penambah jumlah tunas sebesar (2,60) dibandingkan tanaman kontrol (3,87). Keadaan tersebut akan menurun seiring dengan tingginya konsentrasi yang diterapkan.

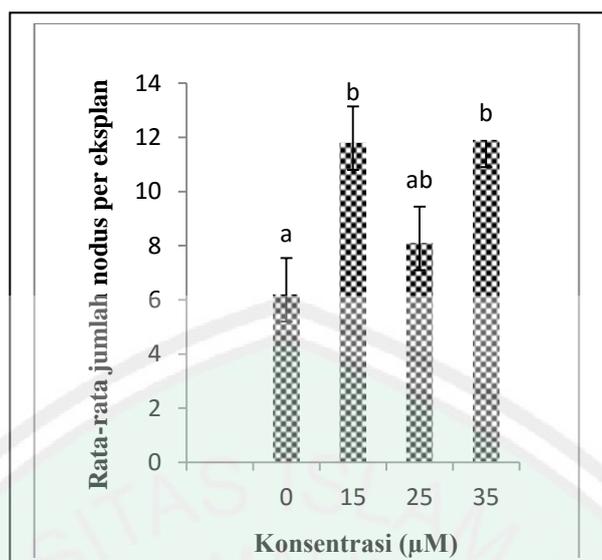
Pemberian zat antimitotik akan menghasilkan tanaman yang berkualitas apabila konsentrasi yang diberikan sesuai. Namun, pemberian konsentrasi zat antimitotik yang terlalu tinggi akan berakibat pada penghambatan pertumbuhan tanaman sampai kematian tanaman (Sukamto dkk, 2010; Gallone dkk, 2014; Carvalho dkk, 2016). Pemberian konsentrasi zat antimitotik yang semakin tinggi akan menyebabkan pertumbuhan yang tidak normal pada morfologi tanaman. Suryo (1995) memaparkan bahwa, pemberian senyawa antimitotik akan memberikan dampak negatif apabila konsentrasi yang diberikan terlalu tinggikan lama paparan yang berlebihan. Bahkan, akibatnya tanaman bisa mengalami kematian. Penelitian yang dilakukan oleh Sukamto dkk (2010) menunjukkan bahwa, jumlah tunas yang terbentuk dari tanaman *Maranta arundinacea* L. hasil perlakuan oryzalin $10 \mu\text{M}$ meningkat (1,53) dibandingkan dengan tanaman kontrolnya (1,17) (Sukamto dkk, 2010).

Munculnya tunas pada tanaman hasil perlakuan oryzalin akan lebih banyak jika dibandingkan dengan tanaman kontrol, karena berkaitan dengan jumlah nodus yang banyak. Semakin banyak nodus yang dihasilkan, maka jumlah tunas yang muncul pada setiap nodus akan bertambah. Demikian pada jumlah daun yang terbentuk, karena terbentuknya tunas dari satu nodus (Agogbua dkk, 2015). Jumlah tunas yang sedikit diiringi dengan banyaknya nodus, dan daun pada perlakuan 35 μM dan lama inkubasi satu minggu diduga mampu meningkatkan ploidi pada tanaman Stevia. Sehingga, dengan terbentuknya banyak tunas pada tanaman Stevia, diharapkan mampu menghasilkan biomassa yang tinggi dibandingkan dengan tanaman kontrol.

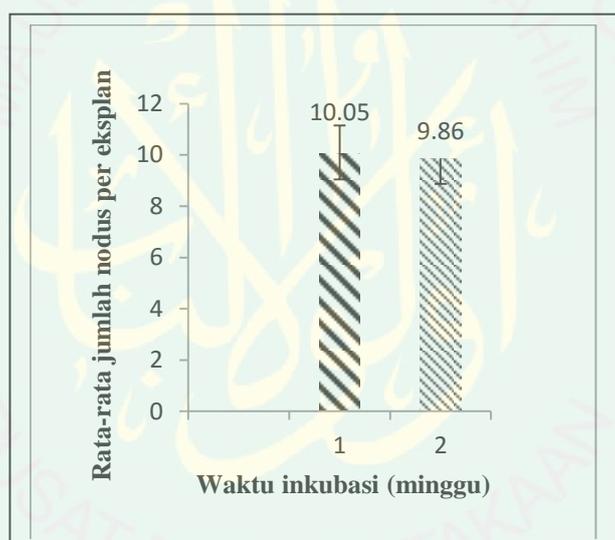
4.2.4 Jumlah Nodus

Jumlah nodus merupakan salah satu parameter yang diamati sebagai penanda peningkatan ploidi pada Stevia. Jumlah nodus dihitung pada setiap tunas yang tumbuh. Pemberian konsentrasi oryzalin yang berbeda-beda juga menunjukkan pengaruh yang berbeda pada parameter jumlah nodus tanaman Stevia. Hasil analisis yang dilakukan menunjukkan bahwa, jumlah nodus paling banyak dihasilkan oleh perlakuan konsentrasi 35 μM yaitu 11,9 nodus per eksplan. Hasil pada perlakuan konsentrasi 35 μM tersebut berbeda nyata dengan hasil pada perlakuan kontrol, 15, dan 25 μM . Nodus paling sedikit terlihat pada tanaman kontrol dengan rata-rata 6,2 nodus per eksplan (Gambar 4.19)

Perlakuan lama waktu inkubasi yang diberikan tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada jumlah nodus tanaman Stevia. Rata-rata jumlah nodus yang dihasilkan pada perlakuan satu minggu inkubasi adalah 10,5 nodus per eksplan sedangkan pada dua minggu inkubasi dihasilkan 9,8 nodus per eksplan (Gambar 4.20). Perbedaan rata-rata jumlah nodus yang ditunjukkan dari kedua perlakuan tidak berbeda jauh. Namun, jumlah nodus pada perlakuan satu minggu inkubasi lebih banyak jika dibandingkan dengan perlakuan dua minggu inkubasi.

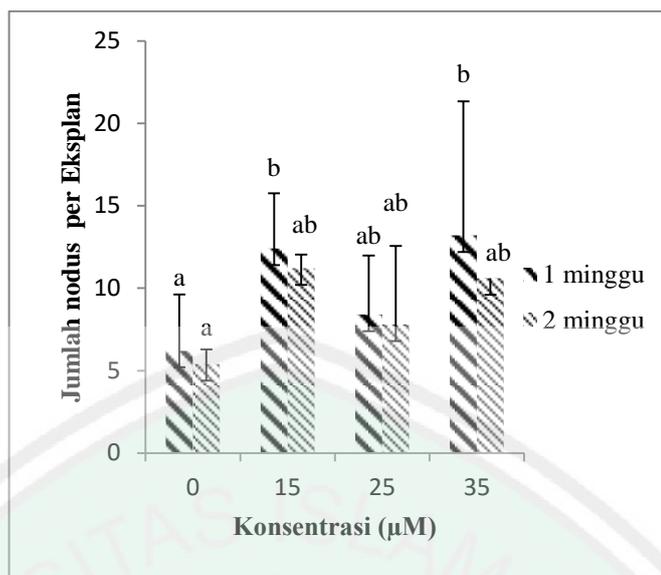


Gambar 4.19 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap jumlah nodus tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)



Gambar 4.20 Pengaruh waktu inkubasi terhadap jumlah nodus tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Perlakuan interaksi antara konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi yang diberikan menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan terhadap jumlah nodus tanaman Stevia. Jumlah nodus paling banyak dihasilkan oleh interaksi konsentrasi oryzalin 35 μM dengan waktu inkubasi satu minggu yaitu sebanyak 13,2 nodus per eksplan, lebih banyak jika dibandingkan dengan tanaman kontrol yang hanya memiliki 6,2 nodus per eksplan. Hasil tersebut memiliki perbedaan nyata antar perlakuan interaksi yang diberikan (Gambar 4.21).

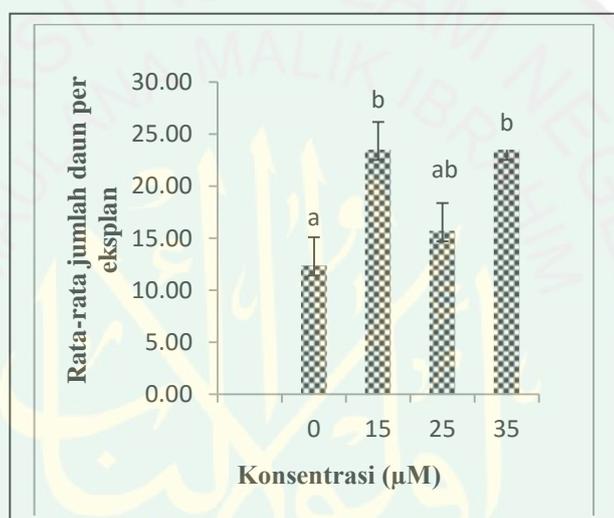


Gambar 4.21 Pengaruh konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap jumlah nodus tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Parameter jumlah nodus pada tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni hasil induksi oryzalin merupakan salah satu parameter morfologi yang diamati pada penelitian ini. Umumnya tanaman poliploid akan memiliki jumlah nodus yang lebih banyak dibandingkan dengan tanaman diploidnya. Terbukti dari penelitian yang dilakukan oleh Sinta (2017) bahwa, planlet *Stevia* hasil perendaman zat antimetabolit mengalami pertambahan jumlah akar, jumlah daun, dan jumlah nodus. Denaeghel dkk (2018) menunjukkan bahwa, panjang internodus terlihat berbeda dengan tanaman kontrol (diploid). Berkurangnya panjang internodus berpengaruh pada banyaknya nodus yang terbentuk (Agogbuadkk, 2015). Tanaman poliploid cenderung memiliki internodus yang pendek namun ditunjang dengan nodus yang lebih banyak. Sehingga, tunas yang muncul dari setiap nodus menjadi bertambah, secara otomatis hal ini berpengaruh pada penambahan jumlah daun tanaman. Karena jumlah tunas dan jumlah daun terbentuk dari satu nodus (Gallone dkk, 2014). Meningkatnya jumlah nodus yang diiringi oleh peningkatan jumlah tunas dan daun diharapkan mampu meningkatkan biomassa tanaman *Stevia* dibandingkan dengan tanaman diploid (kontrol).

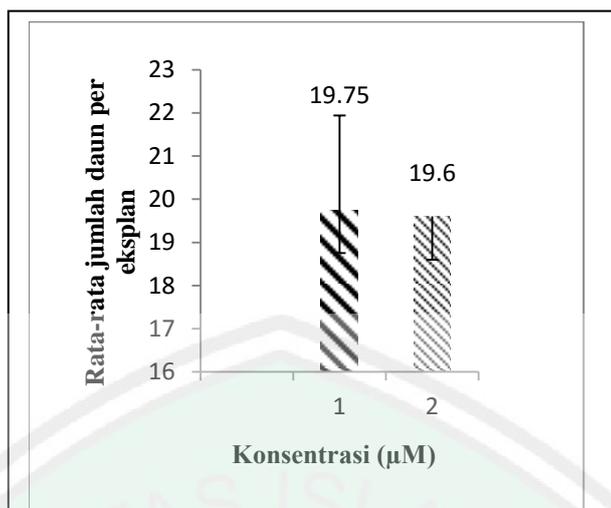
4.2.5 Jumlah Daun

Pemberian konsentrasi oryzalin yang berbeda-beda juga menunjukkan pengaruh yang berbeda pada parameter jumlah daun tanaman Stevia. Terbukti dari hasil analisis yang dilakukan bahwa, jumlah daun paling banyak dihasilkan oleh perlakuan konsentrasi 15 μM dan 35 μM yaitu 23,50 daun per eksplan. Hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan 25 μM , bahkan jumlah daun paling sedikit terlihat pada tanaman kontrol dengan rata-rata 12,40 daun per eksplan (Gambar 4.22).



Gambar 4.22 Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap jumlah daun tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Perlakuan lama waktu inkubasi yang diberikan tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada jumlah daun tanaman Stevia. Rata-rata jumlah daun yang dihasilkan pada perlakuan satu minggu inkubasi adalah 19,75 daun per eksplan sedangkan pada dua minggu inkubasi dihasilkan 19,6 daun per eksplan. (Gambar 4.23). Perbedaan rata-rata jumlah daun yang ditunjukkan dari kedua perlakuan tidak berbeda nyata. Namun, jumlah daun pada perlakuan satu minggu inkubasi lebih banyak jika dibandingkan dengan perlakuan dua minggu inkubasi.

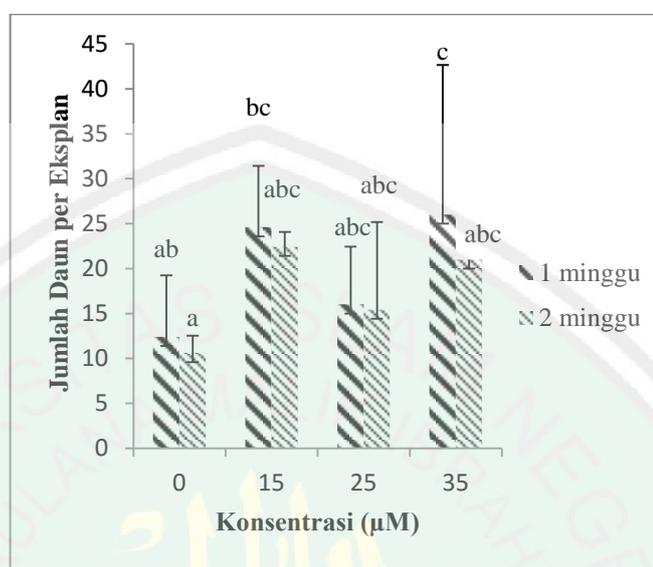


Gambar 4.23 Pengaruh waktu inkubasi terhadap jumlah daun tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Pengaruh interaksi konsentrasi oryzalin dan lama waktu inkubasi pada parameter jumlah daun menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan dari masing-masing perlakuan. Jumlah daun pada pemberian konsentrasi oryzalin 35 μM dan lama inkubasi satu minggu menunjukkan hasil paling banyak jika dibandingkan dengan interaksi perlakuan yang lainnya. Jumlah daun yang dihasilkan adalah 26 daun per eksplan. Hasil yang menunjukkan jumlah daun paling sedikit daripada perlakuan lain adalah tanaman kontrol, yaitu sebanyak 12,4 daun per eksplan (Gambar 4.24).

Hasil yang diharapkan dari induksi poliploid adalah peningkatan ukuran dan jumlah daun tanaman. Meningkatnya jumlah nodus dalam satu eksplan, akan diikuti oleh peningkatan jumlah daun. Jumlah daun meningkat seiring dengan banyaknya tunas yang dihasilkan. Semakin banyak tunas yang tumbuh akan semakin banyak jumlah daun dalam tanaman tersebut. Friska dan Budi (2017) menyatakan bahwa, tanaman poliploidi mampu menghasilkan tunas yang lebih banyak dibandingkan tanaman diploidnya, setiap tunas yang dihasilkan akan berkembang menjadi batang. Setiap batang yang tumbuh dan berkembang akan berbanding lurus dengan jumlah daun yang dihasilkan oleh tanaman. Tanaman poliploid akan memberikan respon positif apabila perlakuan yang diberikan

sesuai, pada jumlah daun akan meningkat apabila tanaman diberikan perlakuan yang seimbang (Ariyanto *et al*, 2011).



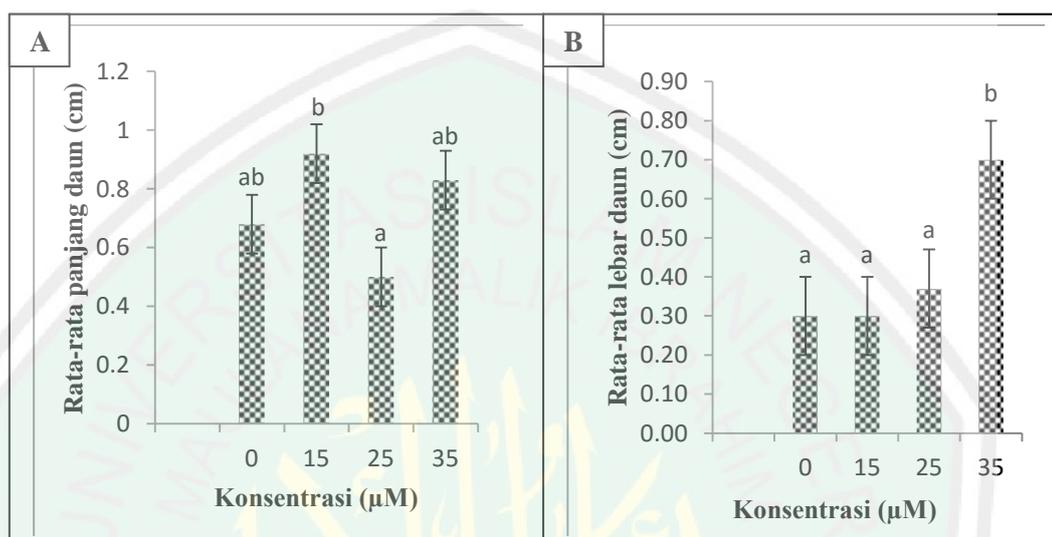
Gambar 4.24. Pengaruh interaksi konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap Jumlah daun tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.)

Meningkatnya jumlah daun akan berpengaruh pada peningkatan biomassa suatu tanaman. Stevia sendiri merupakan tanaman yang dimanfaatkan bagian daunnya, karena kandungan *Steviosida* paling tinggi terdapat pada bagian daun (Mageji dkk, 2005). Pemberian oryzalin 35 μM dengan waktu inkubasi satu minggu mampu meningkatkan jumlah daun pada Stevia dibandingkan dengan tanaman kontrol. Dengan demikian, diharapkan pemberian oryzalin mampu meningkatkan hasil produksi tanaman Stevia.

4.2.6 Panjang dan Lebar Daun

Panjang dan lebar daun menjadi parameter pengamatan hasil induksi poliploid menggunakan oryzalin. Kriteria daun yang diukur adalah daun yang paling besar dari setiap perlakuan. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan dari perlakuan konsentrasi oryzalin yang diberikan. Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap ukuran daun (panjang dan lebar) tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi 15 μM dan 35 μM dengan rata-rata 0,92 cm untuk

panjang daun dan 0,70 cm untuk lebar daun. Hasil tersebut berbeda nyata dengan pemberian konsentrasi lainnya, sehingga panjang dan lebar daun terendah ditunjukkan oleh perlakuan 25 μM dan kontrol dengan rata-rata 0,5 cm pada panjang daun dan 0,30 cm pada lebar daun (Gambar 4.25A dan B).

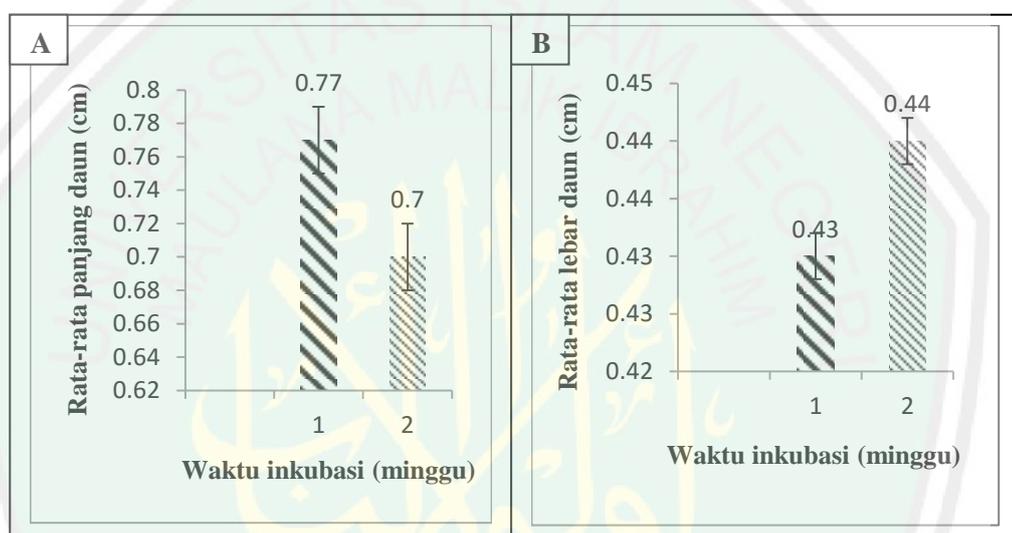


Gambar 4.25. Pengaruh konsentrasi oryzalin terhadap ukuran daun tanaman *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni). A) Panjang daun B) Lebar daun

Perlakuan perbedaan waktu inkubasi tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada ukuran daun. Nilai rata-rata panjang dan lebar daun yang dihasilkan adalah 0,7 cm dan 0,43 cm pada perlakuan satu dan dua minggu. Perlakuan satu minggu inkubasi menghasilkan daun yang lebih panjang jika dibandingkan dengan perlakuan dua minggu. Sedangkan, pada parameter lebar daun yang menunjukkan hasil daun lebih lebar adalah perlakuan dua minggu inkubasi jika dibandingkan dengan perlakuan satu minggu inkubasi (Gambar 4.26 A dan B).

Interaksi dari konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi yang diberikan pada *Stevia* menunjukkan pengaruh yang signifikan pada parameter lebar daun. Interaksi dari dua faktor yang mempengaruhi lebar daun paling besar adalah konsentrasi 35 μM dan waktu inkubasi satu minggu dengan rata-rata 0,8 cm. Hasil paling rendah ditunjukkan oleh perlakuan 15 μM dan waktu inkubasi dua

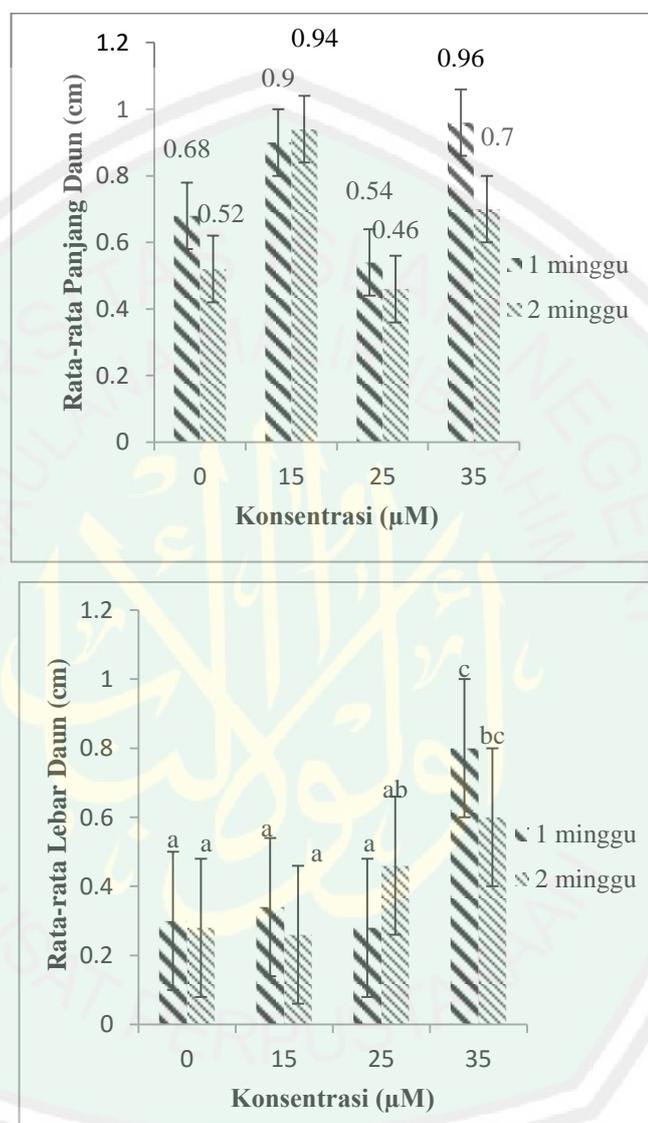
minggu dengan rata-rata 0,26 cm. Perlakuan interaksi tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada rata-rata panjang daun. Namun, pada perlakuan 35 μM dan waktu inkubasi satu minggu menghasilkan daun yang lebih panjang jika dibandingkan dengan interaksi perlakuan yang lainnya. Perbedaan yang ditunjukkan tidak berbeda secara signifikan, dan panjang daun terendah dihasilkan oleh interaksi perlakuan konsentrasi 25 μM dan waktu inkubasi dua minggu (Gambar 4.26 A dan B)



Gambar 4.26. Pengaruh waktu inkubasi terhadap ukuran daun tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). A) Panjang daun B) Lebar daun

Berdasarkan hasil yang didapatkan, diduga planlet mengalami peningkatan ploidi pada konsentrasi 35 μM dengan waktu inkubasi selama satu minggu. Terbukti dari peningkatan panjang dan lebar daun. Namun, hasil yang didapatkan pada parameter panjang daun tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 15 μM . Hal ini disebabkan karena kurang optimalnya pertumbuhan di dalam botol sehingga perlu dilakukan upaya aklimatisasi untuk mendapatkan hasil morfologi yang optimal. Modin dkk (2018) menjelaskan bahwa, pengamatan pengaruh ploidisasi terhadap morfologi tanaman sebaiknya dilakukan setelah tanaman diaklimatisasi. Hal ini dikarenakan terbatasnya periode tumbuh dalam kondisi *in*

vitro, sehingga tidak cukup untuk melihat adanya perbedaan pada tanaman. Sedangkan *In Vitro* merupakan teknik yang digunakan untuk menunjang optimalisasi ploidi yang solid.



Gambar 4.27. Pengaruh interaksi konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap ukuran daun tanaman *Stevia (Stevia rebaudiana Bertonii)*. A) Panjang daun B) Lebar daun

Peningkatan ukuran panjang dan lebar daun disebabkan oleh pembesaran ukuran sel tanaman sehingga berpengaruh pada proses fisiologis yang terjadi pada tanaman tersebut (Wiendra dkk, 2011). Peningkatan ukuran sel akan mendorong

peningkatan pertumbuhan yang dapat ditandai dengan peningkatan ukuran tanaman. Tanaman yang telah terpapar senyawa antimitotik cenderung memiliki daun yang lebar dibandingkan tanaman kontrol, seperti pada *Sesamum indicum* (Mensah *et al*, 2007). Thao dkk (2003) juga menunjukkan bahwa, terjadi perubahan ukuran daun yang lebih lebar pada *Alocasia mitchilitziana* hasil induksi senyawa antimitotik.

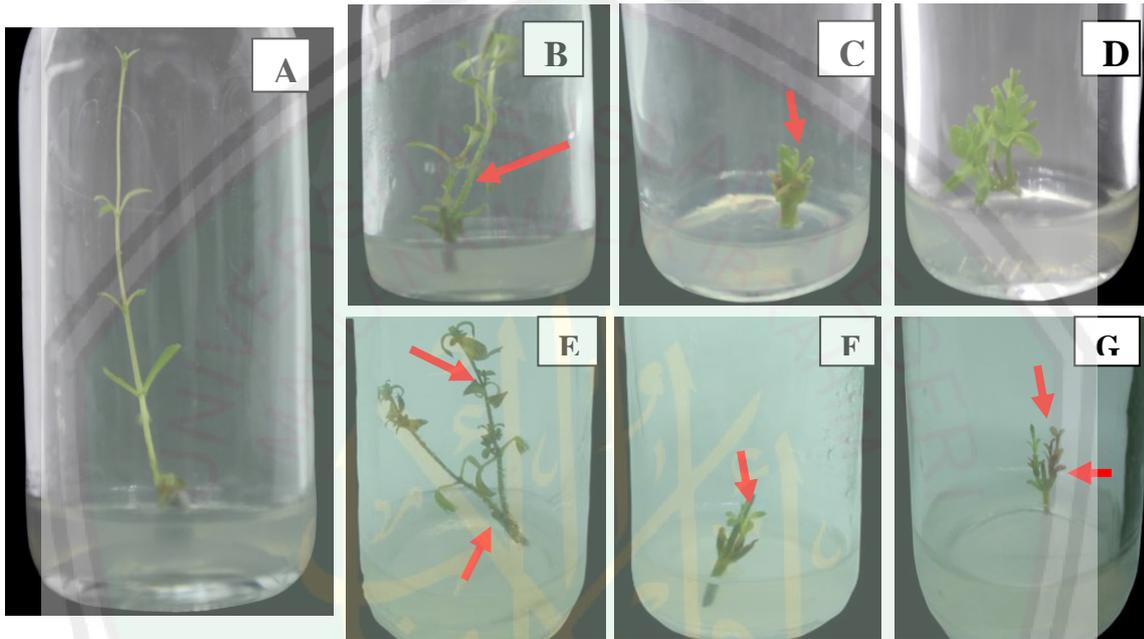
Bertambahnya ukuran daun (panjang dan lebar) pada Stevia dapat dijadikan sebagai penanda adanya peningkatan ploidi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Henuhili dan Suratsih (2003) bahwa, tanaman poliploid memiliki sifat yang kekar, selnya lebih besar, dan bagian-bagian tanaman (akar, batang, daun) menjadi lebih besar. Meningkatnya ukuran daun akan berpengaruh pada peningkatan laju fotosintesis, karena penyerapan cahaya matahari lebih maksimal dibandingkan dengan daun yang lebih kecil. Peningkatan laju fotosintesis akan berpengaruh pada pertumbuhan tanaman, sehingga menghasilkan tanaman yang lebih besar. Dengan demikian, diharapkan pemberian oryzalin mampu meningkatkan hasil produksi tanaman Stevia yang berpengaruh pada peningkatan kandungan biomassa yang didapatkan.

4.3 Pertumbuhan Morfologi Abnormal pada *Stevia rebaudiana* Bertoni Akibat Perlakuan Oryzalin

Pengaruh oryzalin terlihat pada morfologi yang berbeda-beda setiap konsentrasi. Beberapa eksplan memiliki bagian yang berbeda seperti munculnya bintik putih menyerupai kalus dan bentuk daun yang berbeda dari kontrol. Daun lebih panjang dan melekok ke bawah pada konsentrasi oryzalin 15 μM dengan inkubasi satu dan dua minggu. Ciri yang berbeda juga ditunjukkan pada eksplan konsentrasi 25 μM dengan inkubasi satu dan dua minggu yang cenderung memiliki pertumbuhan yang terhambat sehingga eksplan pada konsentrasi ini banyak mengalami kematian. Konsentrasi 35 μM menunjukkan morfologi yang lebih hijau dan lebih banyak tunas. Namun, pada inkubasi dua minggu menunjukkan daun yang menguning pada akhir subkultur (Gambar 4.27).

Pengaruh adanya induksi poliploid pada tanaman salah satunya adalah pertumbuhan abnormal pada beberapa tanaman, seperti hasil penelitian yang

dilakukan oleh Putri (2017) yang menemukan planlet abnormal setelah terpapar kolkisin pada *Phalaenopsis amabilis* Blume. Zat antimitotik mempengaruhi inti sel dan menghambat terbentuknya mikrotubulus. Penghambatan ini mengakibatkan perubahan abnormal pada morfologi tanaman hasil induksi (Fauzan dkk, 2017).



Gambar 4.28. Morfologi Abnormal Tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni setelah perlakuan Oryzalin. A) Kontrol, B) Konsentrasi 15 μM inkubasi satu minggu, C) Konsentrasi 25 μM inkubasi satu minggu, D) Konsentrasi 35 μM inkubasi satu minggu, E) Konsentrasi 15 μM inkubasi dua minggu, F) Konsentrasi 25 μM inkubasi dua minggu, G) Konsentrasi 35 μM inkubasi dua minggu.

Pertumbuhan abnormal pada eksplan dapat juga disebabkan karena kimera. Kimera merupakan kondisi tanaman yang memiliki ploidi berbeda, misalnya diploid dan tetraploid atau yang lainnya (Sinta, 2017). Sarathum dkk (2010) menemukan adanya kimera pada *Dendrobium scabrilinguae* yang memunculkan karakter morfologi abnormal seperti pertumbuhan yang lambat dan daun yang lebih tipis. Kimera terjadi karena kemampuan sel yang berbeda dalam menyerap zat antimitotik yang diberikan, sehingga ploidi yang terbentuk berbeda pada satu

spesies (Nugraha, 2012). Selain kimera, penyebab terhambatnya pertumbuhan planlet dapat disebabkan oleh lamanya perendaman atau paparan terhadap senyawa antimitotik. Menurut Nugraha (2012), baik konsentrasi maupun lama paparan yang berlebih akan berakibat kematian pada tanaman karena pada dasarnya oryzalin adalah herbisida, dan dapat menyebabkan kenaikan ploidi yang berlebih (Allum dkk, 2007). Selain itu, penjelasan yang sama dipaparkan oleh Suryo (1995) bahwa pemberian zat antimitotik yang terlalu tinggi dan paparan yang terlalu lama akan menunjukkan respon negatif dari tanaman. Pengaruh negatif yang ditimbulkan adalah penampilan tanaman yang jelek, sel-sel banyak mengalami kerusakan, bahkan menyebabkan kematian pada tanaman.

4.4 Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) Dalam Perspektif Islam

Allah SWT menunjukkan salah satu jenis ciptaanNya yang memiliki manfaat bagi kehidupan manusia adalah tumbuhan. Allah SWT menciptakan tumbuhan dengan berbagai macam bentuk, jenis, warna, ukuran, dan manfaat yang berbeda. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam surat Thaha ayat 53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً ۖ فَخَرَجْنَا بِهِ
أَنْوَاجًا مِنْ تِبَاتٍ شَعَى ﴿٥٣﴾

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan Kami turunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (Qs. Thaha/ 20: 53).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007), Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan dan buah-buahan. Tumbuhan dan bu-buahan yang telah Allah tumbuhkan memiliki perbedaan masing-masing. Perbedaan yang tampak pada warna, bentuk, rasa, ukuran dan lain sebagainya. Berdasarkan perbedaan yang telah Allah ciptakan mengandung pelajaran di dalamnya, seperti indikasi dari salah satu warna yang berkaiian dengan kandungannya. Semua telah Allah SWT kemas dalam ciri dari masing-masing tumbuhan yang ada. Tidaklah sia-sia apa yang telah Allah SWT ciptakan, tentunya mengandung manfaat pada

setiap petunjuk. seperti firman Allah dalam surat Luqman ayat 10 sebagai berikut:

﴿وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ﴾ ﴿١٠﴾

Artinya: “Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuhan-tumbuhan yang baik” (Qs. Luqman/ 31: 10).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007), Allah SWT telah menjelaskan akan kekuasaan dalam menciptakan alam beserta segala isinya. “Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik,” yaitu menumbuhkan tumbuhan yang indah dipandang dan memiliki manfaat. Tumbuhan yang baik memiliki arti yang luas, seperti halnya tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat maupun bahan pangan. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah tanaman Stevia. Selain sebagai obat, tanaman Stevia banyak dibutuhkan dalam menunjang kebutuhan pemanis pada bahan pangan setiap hari.

Upaya ini hanya akan mampu dilaksanakan oleh seseorang yang mau berfikir. Allah SWT memberikan kelebihan manusia dengan diberikan-Nya akal. Seperti penjelasan Allah SWT dalam surat An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: “Dengan air hujan itu Dia menumbuhkan untuk kamu tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir” (Q.S. An-Nahl:11).

Secara terang Allah memberikan penjelasan atas apa yang diciptakan-Nya pasti terdapat tanda kebesaran-Nya pula. Namun, tanda-tanda kebesaran Allah SWT hanya akan mampu dilihat oleh orang-orang yang mau berpikir. Seperti halnya melakukan penelitian dan berinovasi. Manusia diberikan kelebihan berupa akal untuk mengembangkan sesuatu yang diciptakan-Nya. Berbagai macam tumbuhan baik akan menjadi mudah dalam pemanfaatannya jika telah diolah

dengan metode yang tepat. Hal ini bisa dilakukan oleh mereka yang mau berpikir sampai mendapatkan metode yang tepat (Tafsir Ibnu Katsir, 2007).

وَعَدَّ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا وَعَمِلُوا الصَّالِحَاتِ لَهُمْ مَغْفِرَةٌ وَأَجْرٌ عَظِيمٌ ﴿٩﴾

Artinya: “Allah telah menjajjikan kepada orang-orang beriman dan yang bermal saleh, (bahwa) untuk mereka ampunan dan pahala yang besar (QS. Al-Maidah: 9).

Menurut penjelasan dari Tafsir Ibnu Katsir (2003), Allah menjanjikan ampunan yaitu atas dosa- dosa yang telah dilakukan hambaNya. Lafad *وَأَجْرٌ عَظِيمٌ* yang memiliki makna *dan pahala yang besar*. Pahala yang dimaksudkan berupa nikmat surga yang merupakan Rahmat Allah terhadap hambaNya. Berdasarkan ayat tersebut, Allah menjanjikan balasan surga dan ampunan bagi hambaNya yang beramal saleh. Amal saleh yang dapat dilakukan manusia memiliki makna yang luas. Perbuatan baik yang kemudian mendatangkan manfaat untuk sesama merupakan salah satu amal saleh. Selain itu, upaya pengembangan diri dengan melakukan berbagai hal positif seperti melakukan riset untuk mendapatkan pengetahuan baru sehingga memberikan nilai manfaat untuk sesama merupakan bentuk amal saleh yang dilakukan. Maka dijanjikan pahala dan ampunan bagi mereka yang melakukannya, karena Allah menjadikan amal saleh sebagai perantara penyampaian RahmatNya kepada hambaNya.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dipaparkan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Konsentrasi oryzalin berpengaruh nyata terhadap variabel panjang stomata, lebar stomata dan kerapatan stomata.

Waktu inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap variabel panjang stomata, lebar stomata dan kerapatan stomata.

Terdapat pengaruh interaksi antara konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap variabel panjang stomata, lebar stomata, dan kerapatan stomata.

Konsentrasi oryzalin 35 μM dengan inkubasi satu minggu merupakan hasil terbaik.

2. Konsentrasi oryzalin berpengaruh nyata terhadap variabel hari muncul tunas, panjang tunas, jumlah tunas, jumlah nodus, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun.

Waktu inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap semua variabel.

Terdapat pengaruh interaksi antara konsentrasi oryzalin dan waktu inkubasi terhadap semua variabel kecuali variabel panjang daun. Konsentrasi oryzalin 35 μM dengan inkubasi satu minggu merupakan hasil terbaik.

5.2 Saran

Saran dari penelitian yang telah dilakukan adalah:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait deteksi poliploid pada tanaman *Steviarebaudiana* Bertoni hasil induksi oryzalin menggunakan parameter lain seperti jumlah kromosom, analisis ploidi menggunakan flowsitometri, dan analisis kandungan metabolit yang dihasilkan.

2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan hasil pengamatan morfologi secara optimal setelah aklimatisasi

3. Perlu dilakukan subkultur secara terus menerus untuk mendapatkan solid mutan pada tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni.

DAFTAR PUSTAKA

- Agogbua, J. U., Chimezie E., dan Bosa E. O. 2015. Effect of Oryzalin Treatments on Polyploidy Induction, Phenotypic and Quantitative Traits of *Zehneria capillacea* (Shumach.) C. Jeffrey. *National Academy of Agriculture Science (NAAS) Rating*. 3.3.
- Albert. B., Jonson, A., Lewis, J., Raff, M., Robert, K., and Walter, P. 2002. *Molecular biology of The Cell*. 4th ed., Garland Science;3:485-491.
- Aleza, P., J. Juarez, J. Ollitrault, dan L. Navarro. 2009. Production of tetraploid plants of non apomictic citrus genotypes. *Plant Cell Report*. 28:1837-1846.
- Allum JF, Bringle DH and Roberts AV (2007). Chromosome doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. hybrid by exposure of *in vitro* nodes to oryzalin: the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time. *Plant Cell Rep*. 26: 1977-1984.
- Al-Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta Selatan: Pustaka Azzam.
- Al-Sheikh, A. B. M. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3*. Kairo: Mu'assasah Daar al-Hilal.
- Arlianti, T., Sitti F. S., NN Kristina., dan Oti R. 2013. Pengaruh Induksi IBA, IAA, dan NAA terhadap Induksi Perakaran Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana*) secara *In Vitro*. *Bul. Littro*. 24(2).
- Arora, E. 2010. *Stevia: A Promising Herbal Sweeteners*. New Horizon. 12(4).
- Arumingtyas, E. L. 2016. *Genetika Mendel: Prinsip Dasar Pemahaman Ilmu Genetika*. Malang: UB Press. Bandung: Penerbit ITB.
- Banyai, W., Ratchada S., Netiya K., Phithak I., Masahiro M., dan Kanyaratt S. 2010. Overproduction of artemisinin in tetraploid *Artemisia annua* L. *Plant Biotechnology*. 27: 427-433.
- Bouvier, L., F. R. Fillon and Y. Lespinase. 1994. Oryzalin as an Efficient Agent for Chromosome Doubling of Haploid Apple Shoots *in vitro*. *Plant Breeding* 113, 343—346 (1994).
- Campos, J. M. S., L. C. Davide, C.C. Salgado, F. C. Santos, P. N. Costa, P. S. Silva, C.C. S. Alves, L. F. Viccini, dan A. V. Pareira. 2009. Short Communication *in vitro* Induction of Hexaploid Plants from Hybrids of *Pennisetum purpureum* and *Pennisetum glaucum*. *Plant Breeding*. 128. 101-104.
- Carakostas, M.C., L.L. Curry., A.C. Boileau., D.J. Brusick. 2008. The History Technical Function and Safety of Rebaudioside A, a Naturally Occurring Steviol Glycoside For Use In Food and Beverages. *Food and Chemical Toxicology*.

- Caruso, I., Laura L., Nunziatina, D. T., Fabrizio, D. P., Luigi F., Riccardo A., Raffaele G., dan Domenico C. 2011. Secondary Metabolite Profile in Induced Tetraploids of Wild *Solanum commersonii* Dun. *Chemistry & Biodiversity*. 8.
- Carvalho, M. J. S., V. B. Gomes., A. S. Souza., F. F. Aud., J. A. Santos S., dan E. J. Oliveira. 2016. Inducing autotetraploids in cassava using oryzalin and colchicine and their *in vitro* morphophysiological effects. *Genetics and Molecular Research*.15(2).
- Chauvin, J.E., C. Souchet, J.P. Dantec, and D.Ellisseche. 2003. Chromosome doubling of 2xSolanum species by oryzalin: Method developmentand comparison with spontaneous chromosomedoubling in vitro. *Plant Cell TissueOrgan Cult*. 73:65–73
- Chen, Lan-Lan dan Gao Shan-Lin. 2007. *In Vitro* Tetraploid Induction and Generation of Tetraploid From Mixploids in *Astragalus membranaceus*. *Scientia Horticulturae*. 112: 339–344.
- Contreras, R. N. dan John M. R. 2009. An Oryzalin-Induced Autoallooctoploid of *Hibiscus acetosella* ‘Panaman Red’. *J. Amer. Hoort. Sci*. 134.5.
- Crowder, L. V. 2006. *Genetika Tumbuhan*. Terjemahan Kusdiarti Lilik. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Das, A., Saikat Gantait, dan Nirmal Mandal. 2011. Micropropagation of an Elite Medicinal Plant: *Stevia rebaudiana* Bert. *International Journal of Agriculture Research*.6(1).
- Djajadi. 2014. Pengembangan tanaman pemanis *Stevia rebaudiana* (Bertoni) di Indonesia. *Perspektif* .13 (1): 25-33.
- Dunn, B. (2007). Oryzalin induced chromosome doubling in *Buddleja* to facilitate interspecific hybridization. Publication of the American Society for Horticultural Science, 42 (6), 1326–1326.
- Dunn, B.L. and Lindstrom, J.T. (2007), Oryzalin-inducedchromosome doubling in *Buddleja* to facilitate interspecific hybridization. *Hort Science*. 42(6): 1326-1328.
- Ebrahimzadeh, H., Hassan S., Mehran E. S., Ali E., Seiede S. R. 2018. Improved chromosome doubling of parthenogenetic haploid plants of cucumber (*Cucumis sativus* L.) using colchicine, trifluralin, and oryzalin. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture (PCTOC)*.
- Edi, Busono dan Dini Mardiani. 2015. Panduan Budidaya Stevia Sebagai Penghasil Gula Rendah Kalori. Bandung: Koperasi Nukita.
- Eeckhaut T, Samyn G, Van Bockstaele E (2001) In vitro polyploidy induction in *Rhododendron simsii* hybrids. *Med Fac Landbouww* 66:451–454.

- Eeckhaut TG, Werbrouck SP, Leus LW, Van Bockstaele EJ, Debergh PC (2004) Chemically induced polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue Organ Cult* 78:241–246.
- Ermayanti, Tri M., Deritha Elly R., Erwin Al Hafiizh, dan Evan Maulana. 2017. Peningkatan Pertumbuhan Kultur Tunas *Stevia rebaudiana* Bertoni. pada Media dengan Peningkatan Kadar Vitamin dan Glisin serta Penggunaan Jenis Tutup Tabung Berbeda. *Jurnal Biologi Indonesia*.13(2).
- Fauzan, Yusuf S. A, Supriyanto, dan Teuku T. 2017. Growth and Morphological Changes As An Early Indication of *In Vitro* Ploidization of Teak (*Tectona grandis* L. f.). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*. 14.2.
- Fauziah, A. 2015. Pengaruh Hidroksiquinolin pada Pembuatan Preparat Kromosom Akar dan Kalus Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *Natural B*. 3(1).
- Friska, M., Budi S.D. 2017. Karakteristik Fenotip Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) Hasil Poliploidisasi dengan Kolkisin. *Journal of Biology* 10(2): 91-97
- Gallone, A., Alan H., dan Gerry C. D. 2014. Polyploid induction in vitro using colchicine and oryzalinon Hebe 'Oratia Beauty': Production and characterization of the vegetative traits. *Scientia Horticulturae*. 179. 59-66.
- Hadiyana, A., Mohamad Ana Syabana, dan Susiyanti. 2015. Inisiasi Tunas secara Kultur Jaringan pada *Stevia rebaudiana* Bertoni.) dengan Konsentrasi Indole Butyric Acid (IBA) dan Benzyl Amino Purine (BAP) yang Berbeda. *J. Agroekotek*. 7(2).
- Hanafiah, Kemas A. 2014. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Haryanti, S. 2010. Jumlah dan Distribusi Stomata pada Daun Beberapa Spesies Tanaman Dikotil dan Monokotil. *Buletin Anatomi dan fisiologi*. XVII (2).
- Hendaryono, Daisy P. Sriyani dan Ari Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Henuhili, V. dan Suratsih. (2003). *Common textbook (edisi revisi): Genetika*. Jurusan Biologi. FPMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Ivancic, A., O. Rounsard J. Q., Gracia., M. Malteras., T. Molisale., S. Tara., V. Lebot. 2008. Thermogenesis and Flowering Biology of *Colocasia gigantean*, Araceae. *Journal Plant Research*. 121: 73-82.
- Izza, F dan Ainun N. L. 2015. Karakteristik Stomata Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan Hubungannya dengan Transpirasi Tanaman di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam 2015*.

- Joshi, P. and Verma, R. C. (2004), High frequency production of colchicine induced autotetraploid in faba bean (*Vicia faba* L.). *Cytologia*, 69(2): 141-147.
- Jovtchev, G., V. Schubert., A. Meister., M. Barow., I. Schubert. 2006. Nuclear DNA Content and Cell Volume are Positively Correlated in Angiosperms. *Cytogenetic and Genome Research*. 114: 77-82.
- Kaensaksiri, T., P. Soontornchainaksaeng, N. Soonthornchareonnon, & S. Prathanturug. 2011. *In vitro* induction of polyploidy in *Centella asiatica* (L.) Urban. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 107:187-194.
- Kermani MJ, Sarasan V, Roberts AV, Yokoya K, et al. (2003). Oryzalin-induced chromosome doubling in *Rosa* and its effect on plant morphology and pollen viability. *Theor. Appl. Genet*. 107: 1195-1200.
- Kinghorn, AD. 2002. *Stevia*. London (OI): Taylor & Francis.
- Lingga, Lanny. 2007. *Anthurium*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Lu, C, and Bridgen, MP. 1997. Chromosome doubling and fertility study of *Alstroemeria aurea* x *A. caryophylla*. *Euphytica* 94: 75-81.
- Mageji NW, JK Kumar, V Singh, VK Kaul, PS Ahuja. 2005. Introducing *Stevia rebaudiana*, a natural zero calorie sweetener. *Current Science*. 88(5): 801-804.
- Martin, AF., BW. Hapsari, & TM. Ermayanti. 2013. Penentuan klaster berdasarkan pertumbuhan tunas *in vitro* talas satoimo (*Colocasia esculenta* L.) hasil iradiasi sinar gamma. Prosiding Seminar Nasional XXIII "Kimia dalam Industri dan Lingkungan". Yogyakarta 13 November 2013. 111-116.
- Mastuti, Retno. 2017. *Dasar-Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan*. Malang: UB Press.
- Miguel, T. P. dan Kenneth W. Leonhardt. 2011. *In vitro* polyploid induction of orchids using oryzalin. *Scientia Horticulturae* 130 (2011) 314-319.
- Modin, M., Paulo A. K. X. de M. S., Rodrigo, R. L., dan Fransisco de A. A. M. F. 2018. *In Vitro* Induction and Regeneration of Tetraploids and Mixoploids of Two Cassava Cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 18: 176-183.
- Murashige T, Nakano R. 1966. *Tissue culture as a potential tool in obtaining polyploid plants*. *J Hered*. 57:115-118.
- Murtie, Afin. 2014. *Infused Ice Cubes*. Jakarta: PT. Bhuana Ilmu Populer.
- N. J. Hansen and S. B. Andersen, "In vitro chromosome doubling potential of colchicine, oryzalin, trifluralin, and APM in *Brassica napus* microspore culture," *Euphytica*. 88(2): 159-164, 1996.

- Nilanthi D, Chen XL, Zhao FC, Yang YS, Wu H. 2009. Induction of tetraploids from petiole explants through colchicine treatment in *Echinacea purpurea* L. *J. Biomed. Biotechnol.* 343-485
- Normasiwi, S. dan Nurlaeni, Y. 2014. Induksi Poliploidi Tumbuhan *Rhodomlyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. Asal Gunung Tandikat Sumatera Barat Menggunakan Oryzalin. *Seminar Nasional Hasil Penelitian Unggulan Bidang Pangan Nabati.*
- Nugraha, Ikra. 2012. Penggandaan Kromosom Jati (*Tectona grandis* L.) dengan Oryzalin dalam Kultur *In Vitro* dan Pendugaan Tingkat Ploidii. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Phansawan B dan Pounbangpho S. 2006. Antioxidant capacities of *Pueraria mirifica*, *Stevia rebaudiana* Bertoni, *Curcuma longa* Linn., *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. and *Cassia alata* Linn. for the development of dietary supplement. *Kasertsat J Nat Sci* 41 (3):548-554.
- Poerba, Y. S., Ahmad W. F., dan Handayani. 2014. Induksi dan Karakterisasi Pisang Mas Lumut Tetraploid. *Jurnal Biologi Indonesia.* 10(2).
- Prakash, I, A Markosyan, C Bunders. 2014. Development of next generation stevia sweetener: rebaudioside M. *Foods.* 3: 162-175.
- Putri, Astrid A. 2017. Efektivitas Induksi Poliploidi dengan Modifikasi Media Pra dan Pasca Perlakuan Kolkisin pada Protokorm *Phalaenopsis amabilis* Blume secara *In Vitro*. Skripsi.
- Rahayu, E. M. D., Dewi S., Muhamad S., dan Irawati. 2015. Induksi Poliploidi *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume dan *Phalaenopsis amboinensis* J. J. Smith dengan Kolkisin dalam Kultur *In Vitro*. *J. Agron. Indonesia.* 43 (3).
- Rahman, W., Erwin A. H., Tri M. E., Deritha E. R., dan Arthur A. L. 2017. Acclimation and Agronomic Performance of Polyploids Clones of *Artemisia annua* L. *Jurnal Biologi Indonesia.* 13.1.
- Ramesh, K, V Singh, NM Mageji. 2006. Cultivation of stevia (*Stevia rebaudiana* (Bert.): a comprehensive review. *Advance in Agronomy.* 89: 137-177.
- Ranney, T.G. 2006. Polyploidi: from evolution to landscape plant improvement. <http://www.ces.ncsu.edu> (diunduh pada tanggal 1 februari 2013).
- Rohmah, A., Tintrim R., dan Ari H. 2017. Pengaruh Pemberian Kolkisin terhadap Karakter Stomata Daun Zaitun (*Olea europaea* L.). e-Jurnal Ilmiah Biosaintropis (*Bioscience-Topic*). 2.2
- Rukmana, Rahmat. 2003. *Budidaya Stevia*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sajjad, Y., Jaskani, M.J., Mehmood, A., Ahmad, I., and Abbas, H. (2013), Effect of colchicine on *in vitro* polyploidy induction in African marigold (*Tagetes erecta*). *Pak. J. Bot.*, 45(3): 1255-1258.

- Salisbury FB dan Ross CW, 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Bandung: ITB Press.
- Sarathum S, Hegele M, Tantiviwat S, Nanakorn M. 2010. Effect on concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy induction in *Dendrobium scabrilingue* L. *Europ. J. Hort. Sci.* 75(3):123-127.
- Sattler, M. C., Carvalho, C. R., and Clarindo, W. R. (2016). The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta* 243, 281–296. doi: 10.1007/s00425-015-2450-x.
- Sinta, M. M., Ni Made Armini W., dan Syarifah I. A. 2017. Induksi Mutasi *Stevia rebaudiana* dengan Perendaman Kolkisin secara *In Vitro*. *Menara Perkebunan*. 86:1.
- Song, L., S. Liu., J. Xiao., W. He., Y. Zhou., Q. Qin., C. Zhang., dan Y. Liu. 2012. Review: Polyploid Organism. *Science Cjina Life Science*. 55:4.
- Strachan SD, Hess FD. 1983. The biochemical mechanism of action of the dinitroaniline herbicide oryzalin. *Pest Biochem Physiol* 20: 141-150.
- Sugiyanto, Catur. 2007. Permintaan Gula di Indonesia. *Jurnal Ekonomi Pembangunan*. 8:2.
- Sukanto, L. A., Ahmad F., dan Wawo A. 2010. Pengaruh Oryzalin Terhadap Tingkat Ploidid Tanaman Garut (*Maranta arundinaceae* L.). *Bul. Littro*. 21:2.
- Sukayat, Y., Hepi H., Pandi P., Dika S., dan Rani A. B. K. 2018. Keputusan Petani dalam Pengembangan Stevia di Daerah Pangkuan Hutan. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Peternakan*. 6:1.
- Suminah, Sutomo, dan Ahmad Dwi S. 2002. Induksi Poliploidid Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Biodiversitas*. 3(1).
- Sundari, Titik dan Rahmat Priya Atmaja. 2011. Bentuk Sel Epidermis, Tipe dan Indeks Stomata 5 Genotipe Kedelai pada Tingkat Naungan Berbeda. *Jurnal Biologi Indonesia* .7 (1): 67-79.
- Suryo. 1995. *Sitogenetika*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sutardjo, E. 2002. *Budidaya Tanaman Tebu*. Bumi Aksara. Jakarta. 76 hal.
- Syaifudin, A., Evie R., dan Isnawati. 2013. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kolkisin terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Cabai (*Capsicum annum*) Varietas Lado F1. *Lentera Bio*. ISSN: 2252-3979.
- Syukur, M., & Sastrosumarjo, S. (2013). *Sitogenetika Tanaman* (2nd ed.). Bogor: IPB Press.

- Thao NTP, Ureshino K, Miyajima I, Ozaki Y, Okubo H. 2003. Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicines and oryzalin treatment. *Plant Cell Tiss Org Cult* 72: 19-25.
- Thao, N. T. P., Kenji U., Ikuo M., Yukio O., dan Hiroshi O. 2003. Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72: 19–25, 2003.
- Tome, L. G. O., Andriano B. S., Cesar A. B. P. P., Lisete C. D., Dalvana S. P., dan Carlos R. C. 2016. Colchicine and oryzalin effects on tetraploid induction and leaf anatomy of *Solanum commersonii* ssp. *Ciência Rural, Santa Maria*.46:11.
- Tornqvist, CE. 2006. *Plant Genetic*. New York (US): Chelsea House.
- Viehmanna, I., Eloy F. C., Miroslav B., Miroslava V., dan Marie G. 2009. In Vitro Induction of Polyploidi in Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 97:21-25.
- Wan, Y., D.R. Duncan, A .L . Rayburn, J.F Petolino & J.M. Widholm, 1991 . The use of antimicrotubule herbicides for the production of doubled haploid plants from anther-derived maize callus .*Theor. Appl. Genet.* 81 : 205-211.
- Wiendra Ni Made S, 2011. *Pemberian Kolkhisin Dengan Lama Perendaman Berbeda Pada Induksi Poliploidi Tanaman Pacar Air (Impatiens balsamina L.)*. Diakses tanggal 15 Mei 2013.
- Willmer CM. 1983. *Stomata*. London: Longman Group Ltd.
- Wulansari, A., Andri F. M., dan Tri M. E. 2016. Induksi Tanaman Poliploid Talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan Perlakuan Orizalin secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia* 12 (2): 297-305.
- Xie X, Agüero CB, Wang Y and Walker MA (2015). *In vitro* induction of tetraploids in *Vitis x Muscadinia hybrids*. *Plant Cell Tissue Organ Cult*.122: 675-683.
- Yadav AK, S Singh, SC Yadav, D Dhyani, G Bhardwaj, A Sharma, B Singh. 2013. Induction and morpho-chemical characterization of *Stevia rebaudiana* colchiploids. *Indian J Agric Sci.* 83 (2): 159-165.
- Yadav SK dan P Guleria. 2012. Steviol glycoside from stevia: biosynthesis pathway review and their application in food and medicine. *Critical Rev Food Sci Nutrition.* 52: 988-998.
- Yadav, K. A., S. Singh., D. Dhyani., dan P. S. Ahuja. 2011. A review on the improvement of stevia (*Stevia rebaudiana* (Bertoni)). *Can. J. Plant Sci.* (2011) 91: 1-27.
- Yang, X., C.Y. Ye., Z. M. Cheng., T. Tschaplinski., S. Wullschleger, dan W. Yin. 2011. Genomic Aspects of Research Involving Polyploidy Plants. *Plant Cell Tissue Organ Culture.* 104: 387-397.

- Yuliarti, Nurheti. 2010. *Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: ANDI.
- Yulita, K.S., Martanti, D., Yuyu S.P., dan Herlina. 2014. Deteksi Mutan Kentang Hitam Hasil Radiasi Sinar γ menggunakan Marka ISSR dan RAPD. *J.Hort.* 24 :1.
- Yunus, A., Parjanto., Sumanhudi., M. P. Hikam., dan Y. Widyastuti. 2018. Polyploid Response Of *Artemisia annua* L. to Colchicine Treatment. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 142(2018) 012020.
- Zhang, H., Shaoya A., Juan H., Zhe L., Xiang L., Han B., dan Ren C. 2018. Induction, identification and characterization of polyploidy in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Biotechnology* 35, 81–86.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengamatan

Konsentrasi	ulangan	Jumlah Tunas		Jumlah Daun	
		1 minggu	2 minggu	1 minggu	2 minggu
0	1	2	2	10	10
	2	3	2	10	10
	3	2	2	6	14
	4	2	2	12	10
	5	2	4	24	9
Rata-rata		2.2	2.4	12.4	10.6
15	1	4	3	21	24
	2	2	2	20	24
	3	2	2	26	22
	4	4	2	36	20
	5	2	4	20	22
Rata-rata		2.8	2.6	24.6	22.4
25	1	4	1	14	6
	2	2	2	17	5
	3	3	3	21	26
	4	5	4	22	16
	5	1	2	6	24
Rata-rata		3	2.4	16	15.4
35	1	5	2	12	18
	2	4	2	18	18
	3	4	2	12	18
	4	8	2	42	16
	5	5	4	46	35
Rata-rata		5.2	2.4	26	21

Jumlah Nodus		Panjang Tunas		Lebar Daun		Panjang Daun	
1 minggu	2 minggu	1 minggu	2 minggu	1 minggu	2 minggu	1 minggu	2 minggu
5	5	5.5	1.8	0.3	0.1	0.4	0.5
5	5	3.2	4.8	0.2	0.3	0.6	0.6
3	7	4	8.3	0.3	0.3	0.6	0.9
6	5	6.5	5.2	0.5	0.2	0.9	0.5
12	5	16.5	5.5	0.2	0.5	0.9	0.1
6.2	5.4	7.14	5.12	0.3	0.28	0.68	0.52
11	12	2	5.3	0.1	0.2	0.8	1.5
10	12	6.9	6.8	0.4	0.2	0.6	1.2
13	11	12.5	5.6	0.5	0.4	0.8	0.9
18	10	4	5.5	0.3	0.3	1.1	1
10	11	4.5	5.2	0.4	0.2	1.2	0.1
12.4	11.2	5.98	5.68	0.34	0.26	0.9	0.94
7	3	1.2	1	0.1	0.3	0.1	0.5
9	3	2.5	3	0.5	0.2	0.6	0.3
11	13	2.5	5.8	0.2	0.8	1.00	0.60
12	8	3	3.8	0.4	0.5	0.7	0.7
3	12	3	5	0.2	0.5	0.3	0.2
8.4	7.8	2.44	3.72	0.28	0.46	0.54	0.46
7	9	0.9	1	1	0.6	1	0.4
9	9	1.3	2	0.5	0.3	0.4	0.5
6	9	1.3	1.3	0.9	0.9	1.1	1.2
21	8	2.5	2.5	0.6	0.5	1.3	1
23	18	2.8	3.7	1	0.7	1	0.4
13.2	10.6	1.76	2.1	0.8	0.6	0.96	0.7

Panjang Stomata		Lebar Stomata		Karakter Stomata		Hari Muncul Tunas	
1 minggu	2 minggu	1 minggu	2 minggu	1 minggu	2 minggu	1 minggu	2 minggu
23.39	24.21	21.58	21.15	3.73	2.51	14	7
25.63	24.97	22.06	22.56	4.61	1.90	13	12
19.59	24.4	21.23	22.14	4.61	2.92	14	7
24.73	19.53	19.09	19.39	5.71	3.53	14	14
23.78	24.06	19.75	22.07	3.80	2.98	14	12
23.424	23.434	20.742	21.462	4.49	2.77	13.8	10.4
31.67	29.51	23.12	23.39	3.12	1.35	17	12
27.01	30.25	24.25	24.09	3.53	1.84	13	14
29.21	31.37	21.78	24.07	2.10	2.45	7	10
32.38	31.88	32.45	26.51	1.49	2.77	14	12
31.59	27.58	26.13	23.83	2.04	1.75	14	14
30.372	30.118	25.546	24.378	2.46	2.03	13	12.4
32.26	32.08	23.99	23.98	2.24	1.63	25	14
33.57	27.31	25.22	24.16	3.39	1.84	20	14
34.33	31.41	24.54	25.49	1.35	1.90	14	13
44.76	30.7	39.75	23.36	1.02	2.37	21	14
31.74	32.12	24.44	28.68	2.10	1.69	19	17
35.332	30.724	27.588	25.134	2.02	1.88	19.8	14.4
42.82	35.13	54.68	26.63	1.35	1.63	21	21
36.45	35.89	28.05	28.12	2.31	2.18	29	29
40.14	38.92	36.55	34.37	1.02	1.69	28	25
49.44	33.28	30.46	27.62	1.22	2.10	28	30
56.92	36.64	48.32	27.22	0.53	2.04	25	26
45.154	35.972	39.612	28.792	1.28	1.93	26.2	26.2

Lampiran 2. Hasil Analisis SPSS

1. Panjang Stomata

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	6.94483354
Most Extreme Differences	Absolute	.188
	Positive	.188
	Negative	-.113
Kolmogorov-Smirnov Z		1.111
Asymp. Sig. (2-tailed)		.169

a. Test distribution is Normal.

Panjang Stomata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.873	6	28	.121

Dependent Variable: Panjang Stomata

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1459.613 ^a	10	145.961	9.340	.000
Intercept	34700.277	1	34700.277	2.220E3	.000
Perlakuan_K	1256.285	3	418.762	26.797	.000
Perlakuan_W	164.362	1	164.362	10.518	.103
Ulangan	89.205	4	22.301	1.427	.255
Perlakuan_K * Perlakuan_W	99.657	2	49.828	3.189	.000
Error	375.054	24	15.627		
Total	39981.354	35			
Corrected Total	1834.667	34			

a. R Squared = .796 (Adjusted R Squared = .710)

**Post Hoc Konsentrasi
Panjang Stomata**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
konsentrasi 0	5	23.4240		
konsentrasi 15	10		30.2450	
konsentrasi 25	10		33.0280	
konsentrasi 35	10			40.5630
Sig.		1.000	.172	1.000

The error term is Mean Square(Error) = 15.627.

**Post Hoc Interaksi
Panjang Stomata**

Duncan ^a	kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
	k0w1	5	23.4240			
	k0w2	5	23.4340			
	k15w2	5		30.1180		
	k15w1	5		30.3720		
	k25w2	5		30.7240	30.7240	
	k25i1	5		35.3320	35.3320	
	k35w2	5			35.9720	
	k35w1	5				45.1540
	Sig.		.997	.060	.051	1.000

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

2. Lebar Stomata

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	7.25775669
Most Extreme Differences	Absolute	.278
	Positive	.278
	Negative	-.202
Kolmogorov-Smirnov Z		1.647
Asymp. Sig. (2-tailed)		.009

a. Test distribution is Normal.

Lebar Stomata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.809	7	32	.120

Dependent Variable: Lebar Stomata

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1121.983 ^a	10	112.198	3.364	.007
Intercept	23914.914	1	23914.914	717.138	.000
Perlakuan_K	883.986	3	294.662	8.836	.000
Perlakuan_W	174.243	1	174.243	5.225	.131
Ulangan	56.618	4	14.154	.424	.789
Perlakuan_K *	137.010	2	68.505	2.054	.000
Perlakuan_W					
Error	800.345	24	33.348		
Total	28201.668	35			
Corrected Total	1922.328	34			

a. R Squared = .584 (Adjusted R Squared = .410)

**Post Hoc Konsentrasi
Lebar Stomata**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
konsentrasi 0	5	20.7420	
konsentrasi 15	10	24.9710	
konsentrasi 25	10	26.3610	
konsentrasi 35	10		34.2020
Sig.		.077	1.000

The error term is Mean Square(Error) = 33.348.

**Post Hoc Interaksi
Lebar Stomata**

Duncan ^a	kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
	k0w1	5	20.7420		
	k0w2	5	21.4620	21.4620	
	k15w2	5	24.3780	24.3780	
	k25w2	5	25.1340	25.1340	
	k15w1	5	25.5640	25.5640	
	k25i1	5	27.5880	27.5880	
	k35w2	5		28.7920	
	k35w1	5			39.6120
	Sig.		.074	.056	1.000

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

3. Kerapatan Stomata

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	24.49144678
Most Extreme Differences	Absolute	.093
	Positive	.093
	Negative	-.086
Kolmogorov-Smirnov Z		.547
Asymp. Sig. (2-tailed)		.925

a. Test distribution is Normal.

Kerapatan Stomata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.141	6	28	.080

Dependent Variable: Kerapatan Stomata

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	34.507 ^a	10	3.451	8.690	.000
Intercept	197.063	1	197.063	496.258	.000
Perlakuan_K	26.925	3	8.975	22.601	.000
Perlakuan_W	.006	1	.006	.016	.900
Ulangan	2.808	4	.702	1.768	.168
Perlakuan_K * Perlakuan_W	1.534	2	.767	1.931	.000
Error	9.530	24	.397		
Total	228.944	35			
Corrected Total	44.037	34			

a. R Squared = .784 (Adjusted R Squared = .693)

**Post Hoc Konsentrasi
Kerapatan Stomata**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
konsentrasi 35	10	1.6048	
konsentrasi 25	10	1.9500	
konsentrasi 15	10	2.2429	
konsentrasi 0	5		4.4940
Sig.		.066	1.000

The error term is Mean Square(Error) = .397.

**Post Hoc Interaksi
Kerapatan Stomata**

kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a k35w1	5	1.2818		
k25w2	5	1.8834	1.8834	
k35w2	5	1.9278	1.9278	
k25i1	5	2.0166	2.0166	
k15w2	5	2.0302	2.0302	
k15w1	5		2.4556	
k0w2	5		2.7660	
k0w1	5			4.4940
Sig.		.116	.069	1.000

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

4. Hari Muncul Tunas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	5.85409072
Most Extreme Differences	Absolute	.132
	Positive	.132
	Negative	-.085
Kolmogorov-Smirnov Z		.779
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579

a. Test distribution is Normal.

Hari Muncul Tunas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.455	6	28	.230

Dependent Variable: Hari Muncul Tunas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1444.025 ^a	11	131.275	18.111	.000
Intercept	11594.025	1	11594.025	1.600E3	.000
Perlakuan_K	1271.475	3	423.825	58.473	.000
Perlakuan_W	55.225	1	55.225	7.619	.110
Ulangan	69.850	4	17.463	2.409	.073
Perlakuan_K * Perlakuan_W	47.475	3	15.825	2.183	.000
Error	202.950	28	7.248		
Total	13241.000	40			
Corrected Total	1646.975	39			

a. R Squared = .877 (Adjusted R Squared = .828)

**Post Hoc Konsentrasi
Hari Muncul Tunas**

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
Duncan ^a konsentrasi 0	10	12.1000		
konsentrasi 15	10	12.7000		
konsentrasi 25	10		17.1000	
konsentrasi 35	10			26.2000
Sig.		.622	1.000	1.000

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

**Post Hoc Interaksi
Hari Muncul Tunas**

kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a k0w2	5	10.4000		
k15w2	5	12.4000		
k15w1	5	13.0000		
k0w1	5	13.8000		
k25w2	5	14.4000		
k25i1	5		19.8000	
k35w1	5			26.2000
k35w2	5			26.2000
Sig.		.060	1.000	1.000

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

5. Panjang Tunas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	2.95406571
Most Extreme Differences	Absolute	.128
	Positive	.128
	Negative	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		.755
Asymp. Sig. (2-tailed)		.619

a. Test distribution is Normal.

Panjang Tunas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.272	6	28	.302

Dependent Variable: Panjang Tunas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	182.725 ^a	10	18.273	2.707	.022
Intercept	625.646	1	625.646	92.686	.000
Perlakuan_K	132.957	3	44.319	6.566	.002
Perlakuan_W	1.452	1	1.452	.215	.647
Ulangan	44.495	4	11.124	1.648	.195
Perlakuan_K * Perlakuan_W	3.158	2	1.579	.234	.019
Error	162.005	24	6.750		
Total	938.010	35			
Corrected Total	344.730	34			

a. R Squared = .530 (Adjusted R Squared = .334)

**Post Hoc Konsentrasi
Panjang Tunas**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
konsentrasi 35	10	1.9300	
konsentrasi 25	10	3.0800	
konsentrasi 15	10		5.8300
konsentrasi 0	5		7.1400
Sig.		.385	.323

The error term is Mean Square(Error) = 6.750.

**Post Hoc Interaksi
Panjang Tunas**

kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duncan ^a k35w1	5	1.7600			
k35w2	5	2.1000	2.1000		
k25i1	5	2.4400	2.4400	2.4400	
k25w2	5	3.7200	3.7200	3.7200	3.7200
k0w2	5		5.1200	5.1200	5.1200
k15w2	5		5.6800	5.6800	5.6800
k15w1	5			5.9800	5.9800
k0w1	5				7.1400
Sig.		.083	.065	.068	.078

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

6. Jumlah Tunas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.43302876
Most Extreme Differences	Absolute	.273
	Positive	.273
	Negative	-.184
Kolmogorov-Smirnov Z		1.615
Asymp. Sig. (2-tailed)		.011

a. Test distribution is Normal.

Jumlah Tunas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.175	6	28	.348

Dependent Variable: Jumlah Tunas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	40.629 ^a	10	4.063	3.333	.008
Intercept	266.250	1	266.250	218.408	.000
Perlakuan_K	16.133	3	5.378	4.411	.013
Perlakuan_W	10.800	1	10.800	8.859	.107
Ulangan	8.743	4	2.186	1.793	.163
Perlakuan_K * Perlakuan_W	9.800	2	4.900	4.020	.031
Error	29.257	24	1.219		
Total	373.000	35			
Corrected Total	69.886	34			

a. R Squared = .581 (Adjusted R Squared = .407)

**Post Hoc Konsentrasi
Jumlah Tunas**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
konsentrasi 0	5	2.2000	
konsentrasi 15	10	2.7000	2.7000
konsentrasi 25	10	2.7000	2.7000
konsentrasi 35	10		3.8000
Sig.		.402	.070

The error term is Mean Square(Error) = 1.219.

**Post Hoc Interaksi
Jumlah Tunas**

Duncan ^a	kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
	k0w1	5	2.2000	
	k0w2	5	2.4000	
	k25w2	5	2.4000	
	k35w2	5	2.4000	
	k15w2	5	2.6000	
	k15w1	5	2.8000	
	k25i1	5	3.0000	
	k35w1	5		5.2000
	Sig.		.342	1.000

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

7. Jumlah Nodus

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	4.73011095
Most Extreme Differences	Absolute	.137
	Positive	.137
	Negative	-.071
Kolmogorov-Smirnov Z		.811
Asymp. Sig. (2-tailed)		.526

a. Test distribution is Normal.

Jumlah Nodus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.992	6	28	.061

Dependent Variable: Jumlah Nodus

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	336.857 ^a	10	33.686	1.871	.101
Intercept	3131.561	1	3131.561	173.930	.000
Perlakuan_K	192.617	3	64.206	3.566	.029
Perlakuan_W	16.133	1	16.133	.896	.353
Ulangan	138.686	4	34.671	1.926	.139
Perlakuan_K * Perlakuan_W	5.267	2	2.633	.146	.051
Error	432.114	24	18.005		
Total	4249.000	35			
Corrected Total	768.971	34			

a. R Squared = .438 (Adjusted R Squared = .204)

**Post Hoc Konsentrasi
Jumlah Nodus**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
konsentrasi 0	5	6.2000	
konsentrasi 25	10	8.1000	8.1000
konsentrasi 15	10		11.8000
konsentrasi 35	10		11.9000
Sig.		.379	.102

The error term is Mean Square(Error) = 18.005.

**Post Hoc Interaksi
Jumlah Nodus**

Duncan ^a	kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
	k0w2	5	5.4000	
	k0w1	5	6.2000	
	k25w2	5	7.8000	7.8000
	k25i1	5	8.4000	8.4000
	k35w2	5	10.6000	10.6000
	k15w2	5	11.2000	11.2000
	k15w1	5		12.4000
	k35w1	5		13.2000
	Sig.		.064	.084

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

8. Jumlah Daun

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	9.47370310
Most Extreme Differences	Absolute	.143
	Positive	.143
	Negative	-.079
Kolmogorov-Smirnov Z		.848
Asymp. Sig. (2-tailed)		.468

a. Test distribution is Normal.

Jumlah Daun

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.501	6	28	.110

Dependent Variable: Jumlah Daun

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1363.714 ^a	10	136.371	1.901	.096
Intercept	12243.731	1	12243.731	170.661	.000
Perlakuan_K	765.750	3	255.250	3.558	.029
Perlakuan_W	50.700	1	50.700	.707	.409
Ulangan	572.971	4	143.243	1.997	.127
Perlakuan_K *	24.800	2	12.400	.173	.053
Perlakuan_W					
Error	1721.829	24	71.743		
Total	16649.000	35			
Corrected Total	3085.543	34			

a. R Squared = .442 (Adjusted R Squared = .209)

**Post Hoc Konsentrasi
Jumlah Daun**

Duncan

Ulangan	N	Subset	
		1	
Ulangan 1	7		15.0000
Ulangan 2	7		16.0000
Ulangan 3	7		18.7143
Ulangan 4	7		23.4286
Ulangan 5	7		25.2857
Sig.			.051

The error term is Mean Square(Error) = 71.743.

**Post Hoc Interaksi
Jumlah Daun**

Duncan ^a	kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
	k0w2	5	10.6000		
	k0w1	5	12.4000	12.4000	
	k25w2	5	15.4000	15.4000	15.4000
	k25w1	5	16.0000	16.0000	16.0000
	k35w2	5	21.0000	21.0000	21.0000
	k15w2	5	22.4000	22.4000	22.4000
	k15w1	5		24.6000	24.6000
	k35w1	5			26.0000
Sig.			.060	.052	.091

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

9. Panjang Daun

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.35779143
Most Extreme Differences	Absolute	.096
	Positive	.096
	Negative	-.096
Kolmogorov-Smirnov Z		.569
Asymp. Sig. (2-tailed)		.903

a. Test distribution is Normal.

Panjang Daun

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.762	6	28	.606

Dependent Variable: Panjang Daun

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.003 ^a	10	.200	2.020	.077
Intercept	17.871	1	17.871	180.166	.000
Perlakuan_K	1.032	3	.344	3.468	.032
Perlakuan_W	.075	1	.075	.756	.393
Ulangan	.815	4	.204	2.055	.118
Perlakuan_K *	.114	2	.057	.575	.570
Perlakuan_W					
Error	2.381	24	.099		
Total	23.550	35			
Corrected Total	4.384	34			

a. R Squared = .457 (Adjusted R Squared = .231)

**Post Hoc Konsentrasi
Panjang Daun**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
konsentrasi 25	10	.5000	
konsentrasi 0	5	.6800	.6800
konsentrasi 35	10	.8300	.8300
konsentrasi 15	10		.9200
Sig.		.058	.162

The error term is Mean Square(Error) = .099.

10. Lebar Daun

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		35
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.23731694
Most Extreme Differences	Absolute	.109
	Positive	.109
	Negative	-.093
Kolmogorov-Smirnov Z		.647
Asymp. Sig. (2-tailed)		.797

a. Test distribution is Normal.

Lebar Daun

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.295	6	28	.292

Dependent Variable:Lebar Daun

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.457 ^a	10	.146	5.124	.001
Intercept	6.049	1	6.049	212.790	.000
Perlakuan_K	1.025	3	.342	12.022	.000
Perlakuan_W	.008	1	.008	.293	.593
Ulangan	.242	4	.060	2.126	.109
Perlakuan_K *	.189	2	.094	3.318	.053
Perlakuan_W					
Error	.682	24	.028		
Total	8.740	35			
Corrected Total	2.139	34			

a. R Squared = .681 (Adjusted R Squared = .548)

**Post Hoc Konsentrasi
Lebar Daun**

Duncan

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
konsentrasi 0	5	.3000	
konsentrasi 15	10	.3000	
konsentrasi 25	10	.3700	
konsentrasi 35	10		.7000
Sig.		.442	1.000

The error term is Mean Square(Error) = .028.

Post Hoc Interaksi

Lebar Daun

	kombinasi	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	k15w2	5	.2600		
	k0w2	5	.2800		
	k25w1	5	.2800		
	k0w1	5	.3000		
	k15w1	5	.3400		
	k25w2	5	.4600	.4600	
	k35w2	5		.6000	.6000
	k35w1	5			.8000
	Sig.			.127	.222

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Lila Biar Rohmah
NIM : 15620079
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : Shinta, M.Si
Judul Skripsi : Karakter Stomata dan Fenotipik Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoniil Hasil Induksi Oryzalin Secara *In-Vitro*)

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	09-01-2019	Konsultasi judul skripsi	1.
2.	14-01-2019	Revisi judul skripsi	2.
3.	15-03-2019	Konsultasi BAB I dan III	3.
4.	13-03-2019	Konsultasi BAB II	4.
5.	04-02-2019	Revisi BAB I II dan III	5.
6.	15-04-2019	ACC Proposal	6.
7.	24-10-2019	Konsultasi BAB IV	7.
8.	03-11-2019	Revisi BAB IV	8.
9.	05-11-2019	Konsultasi BAB IV V dan Daftar Pustaka	9.
10.	28-10-2019	Konsultasi analisis data dan lampiran	10.
11.	07-11-2019	ACC Skripsi	11.

Malang, 05 Desember 2019

Pembimbing Skripsi,

Shinta, M.Si

NIP. 19880110201608011 2 064



Ketua Jurusan,

Romardi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Lila Biar Rohmah
NIM : 15620079
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
Judul Skripsi : Karakter Stomata dan Fenotipik Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)
Hasil Induksi Oryzalin Secara *In-Vitro*

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	09-04-2019	Konsultasi BAB I, II,	1.
2.	12-04-2019	ACC BAB I dan II	2.
3.	30-09-2019	Konsultasi BAB IV	3.
4.	07-10-2019	ACC Skripsi	4.

Malang, 05 Desember 2019

Pembimbing Agama Skripsi,

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 1989011320180201124



Ketua Jurusan,

Romadi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019