

**PENGARUH PENAMBAHAN ZPT 2,4-D DAN PEG  
(Polyethylene Glykol) 6000 PADA MEDIA MS (Murashige &  
Skoog) UNTUK PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER  
STEVIOSIDA PADA KULTUR KALUS STEVIA (*Stevia  
rebaudiana* Bert. M.)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**FITTRIYA NUR LAILA  
NIM. 09620024**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2014**

**PENGARUH PENAMBAHAN ZPT 2,4-D DAN PEG  
(Polyethylene Glykol) 6000 PADA MEDIA MS (Murashige &  
Skoog) UNTUK PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER  
STEVIOSIDA PADA KULTUR KALUS STEVIA (*Stevia  
rebaudiana* Bert. M.)**

**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:**

**FITTRIYA NUR LAILA  
NIM. 09620024**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2014**

**PENGARUH PENAMBAHAN ZPT 2,4-D DAN PEG  
(Polyethylene Glykol) 6000 PADA MEDIA MS (Murashige &  
Skoog) UNTUK PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER  
STEVIOSIDA PADA KULTUR KALUS STEVIA (*Stevia  
rebaudiana* Bert. M.)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**FITTRIYA NUR LAILA  
NIM. 09620024**

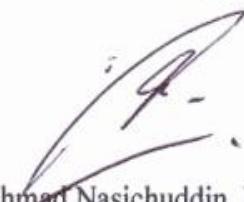
Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I,



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.  
NIP. 19741018 200312 2 002

Dosen Pembimbing II,



Achmad Nasichuddin, M. A.  
NIP. 19730705 200031 1 002



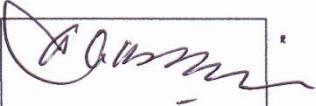
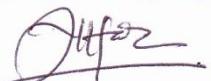
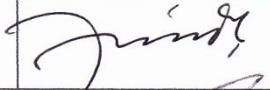
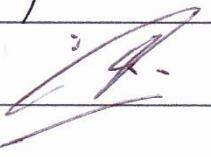
**PENGARUH PENAMBAHAN ZPT 2,4-D DAN PEG  
(Polyethylene Glykol) 6000 PADA MEDIA MS (Murashige &  
Skoog) UNTUK PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER  
STEVIOSIDA PADA KULTUR KALUS STEVIA (*Stevia  
rebaudiana* Bert. M.)**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
FITTRIYA NUR LAILA  
NIM. 09620024**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Pengaji Skripsi dan Dinyatakan Diterima  
Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 13 Januari 2014

Pengaji Utama:	Dr. H. Eko Budi Minarno, M. Pd. NIP. 19630114 199903 1 001	
Ketua Pengaji:	Dr. Hj. Ulfah Utami, M. Si. NIP. 19650509 199903 2 002	
Sekretaris Pengaji:	Dr. Evika Sandi Savitri, M. P. NIP. 19741018 200312 2 002	
Anggota Pengaji:	Achmad Nasichuddin, M. A. NIP. 19730705 200031 1 002	



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.  
NIP. 19741018 200312 2 002

## **PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fitriya Nur Laila  
NIM : 09620024  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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, 15 Januari 2014  
Yang membuat pernyataan,



Fitriya Nur Laila  
NIM. 09620024

## MOTTO

*“Jadilah seperti karang di lautan yang kuat dihantam ombak dan kerjakanlah hal yang bermanfaat untuk diri sendiri dan orang lain, karena hidup hanyalah sekali. Ingat hanya pada Allah apapun dan di manapun kita berada kepada Dia-lah tempat meminta dan memohon”*

إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنفُسِهِمْ

*“Sesungguhnya Allah tidak merubah Keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri (Ar-Ra'ad  
(13) ayat: 11)”*

## ***HALAMAN PERSEMBAHAN***

*Alhamdulillah*

*ku persembahkan skripsi ini*

*sebagai rasa syukur kepada Allah SWT, atas berkat ridlo-Nya  
kami diberikan kesempatan untuk mendalami sedikit dari ilmu-Nya yang begitu  
luas. Serta ku persembahkan kepada nabi Muhammad SAW yang telah  
membimbing kami dalam indahnya islam.*

*Ku persembahkan karya ini*

*kepada umi Dewi Ratna dan abi Machfudi tercinta*

*yang selalu mengagungkan nama Allah SWT di setiap malam  
demi mendoakan penulis, serta begitu sabar dalam memotifasi penulis.*

*Kepada abang Amiruddin, mbk Tiyaz Rahayu, dan keponakan kecilku Nouval  
Fahri Nur Jiddan yang selalu menghibur dan membuatku tersenyum.  
Serta kedua adikku Hamdan Firmansya dan Khariz Zainal Abidin,  
terimakasih telah menjadi adik yang selalu memberiku semangat  
dan membantuku disetiap saat.*

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Assalamualaikum Wr. Wb.*

Segala puji bagi Allah SWT yang telah berkenan memberikan rahmat, dan hidayahnya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Penambahan ZPT 2,4-D dan PEG (Polyethylene Glykol) 6000 pada Media MS (Murashige & Skoog) Untuk Produksi Metabolit Sekunder Steviosida pada Kultur Kalus Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert. M.)”. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Agung Muhammad SAW , keluarga, sahabat – sahabatnya beserta umat pengikutnya.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini banyak sekali hambatan dan kekurangan yang memerlukan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih dan penghargaan kepada:

1. Prof. Dr. Mudjia Raharjo selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P. selaku ketua jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P. selaku dosen pembimbing yang telah sabar membimbing dan memberikan arahan hingga terselesaiannya skripsi ini.
5. Ach. Nashihuddin, M.A, selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan arahan dalam bidang agama untuk penyempurnaan penulisan skripsi ini.
6. Bapak Ibu Dosen Biologi yang telah mengamalkan ilmunya dan mengajarkan banyak hal kepada penulis.

7. Para laboran dan staf administrasi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, khususnya Lil Hanifah, S.Si yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian di laboratorium.
8. Kedua orang tuaku Umi (Dewi Ratna) dan Abi (Machfudi) yang senantiasa mendo'akan serta memberi dukungan kepada penulis. Abangku (Amiruddin), Mbakku (Tiyaz R.), dan keponakan kecilku (Nouval) yang selalu menghibur penulis. Kedua Adikku (Khamdan F. dan Kharis Z.A), kalian adalah kekuatan dan pemberi semangat buat penulis.
9. Rekan-rekan Tim KJT (Wahyu F, Rizky R.G, Yuzria N) yang selalu memberi motivasi dan dukungan.
10. Kevin H, Devi A.P, N. Suhartini, Erna F, Kholila F, serta semua teman-teman Biologi angkatan 2009 yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah menemani dan bekerja sama selama perkuliahan.
11. Kerabat kos SUKADA khususnya Fitriana H, N. Maulidia, Muniroh, S. Aisyah, Luluk W, Iren, Halimatus S, Kholifah, mbak Afif yang selalu memberikan dukungan dan do'a kepada penulis.
12. Serta semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, memberikan do'a, semangat, dukungan, saran, dan pemikiran sehingga karya ini dapat terselesaikan.

Akhirnya penulis hanya berharap mudah-mudahan skripsi ini benar-benar dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya, Amien.

*Wasalamualaikum Wr. Wb.*

Malang, 17 Desember 2013

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>SURAT PERNYATAAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1.Latar Belakang .....	1
1.2.Rumusan Masalah .....	9
1.3.Tujuan.....	10
1.4.Hipotesis .....	10
1.5.Manfaat Penelitian .....	10
1.6.Batasan Masalah .....	11
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA .....</b>	<b>12</b>
2.1. <i>Stevia rebaudiana</i> Bert. M.....	12
2.1.1. Tinjauan Umum Tanaman <i>Stevia rebaudiana</i> .....	12
2.1.2. Taksonomi Tanaman <i>Stevia rebaudiana</i> .....	13
2.1.3. Morfologi Tanaman <i>Stevia rebaudiana</i> .....	13
2.1.4. Manfaat dan Kandungan Senyawa Kimia Tanaman <i>Stevia rebaudiana</i> .....	14
2.2.Kultur Jaringan Tanaman .....	17
2.2.1. Pengertian Kultur Jaringan .....	17
2.2.2. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Jaringan.....	18
2.2.3. Manfaat Kultur Jaringan .....	23
2.3.Kualitas Kalus Hasil Kultur .....	24
2.4.Metabolit Sekunder .....	28
2.5.Biosintesis Senyawa Steviosida .....	29
2.5.1. Klasifikasi Senyawa Terpenoid .....	29
2.5.2.Senyawa Glikosida .....	30
2.2.3.Biosintesis Senyawa Steviosida .....	32
2.6.Produksi Metabolit Sekunder Melalui Teknik Kultur In Vitro.....	35
2.7.Peran PEG 6000 dalam Memproduksi Metabolit Sekunder.....	36
2.8.Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau HPLC....	41
2.9.Pemanfaatan Tanaman Dalam Perspektif Islam .....	44

<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>49</b>
3.1.Rancangan Percobaan.....	49
3.2.Waktu dan Tempat .....	50
3.3.Alat dan Bahan.....	50
3.3.1.Alat-Alat .....	50
3.3.2.Bahan-Bahan .....	51
3.4.Langkah Kerja.....	51
3.4.1.Sterilisasi Alat .....	51
3.4.2.Pembuatan Media .....	52
3.4.3.Sterilisasi Media .....	53
3.4.4.Sterilisasi Ruang Tanam .....	53
3.4.5.Tahap Induksi Kalus .....	54
3.4.6.Tahap Pengamatan.....	55
3.4.7.Tahap Uji Fitokimia (Metabolit Sekunder).....	56
3.5.Analisis Data.....	57
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>57</b>
4.1.Pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan PEG 6000 terhadap pertumbuhan dan Perkembangan Kalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.).....	57
4.1.1.Pembentukan Kalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.) .....	57
4.1.2.Percentase Eksplan Berkalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.).....	61
4.1.3.Berat Kalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.).....	64
4.1.4.Morfologi Kalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.).....	68
4.1.4.1.Warna Kalus .....	69
4.1.4.2.Tekstur Kalus .....	77
4.2.Pengaruh Konsentrasi 2,4-D dan PEG 6000 terhadap Kadar Steviosida Kalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.).....	81
4.3.Manfaat Stevia Perspektif Islam .....	90
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>96</b>
5.1.Kesimpulan .....	96
5.2.Saran .....	96
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>98</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>104</b>
<b>BUKTI KONSULTASI.....</b>	<b>124</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>126</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Komposisi glikosida di dalam daun stevia .....	31
Tabel 3.1 Kombinasi Konsentrasi ZPT 2,4-D dan Konsentrasi PEG 6000.....	50
Tabel 4.1 Pengaruh Konsentrasi 2,4-D Terhadap Hari Munculnya Kalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.) .....	58
Tabel 4.2 Pengaruh Beberapa Konsentrasi PEG 6000 Terhadap Berat Kalus pada minggu ke-4 .....	65
Tabel 4.3 Perubahan Warna Kalus pada Minggu ke-2 dan ke-8.....	69
Tabel 4.4 Tekstur Kalus yang Terbentuk Setelah Berumur 4 Minggu.....	78
Tabel 4.5 Kadar Steviosida pada Kalus ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.) Setelah Pengamatan Selama 4 Minggu.....	82

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Stevia rebaudiana Bertoni M .....	13
Gambar 2.2 Beberapa Jenis Glikosida yang Terdapat dalam Stevia rebaudiana .....	15
Gambar 2.3 Skema Biosintesis Steviosida .....	33
Gambar 2.4 Struktur Kimia Molekul PEG .....	37
Gambar 2.5 Skema blok sistem KCKT secara umum .....	43
Gambar 4.1 Grafik Persentase Eksplan Berkalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.) pada minggu ke-4 .....	63
Gambar 4.2 Grafik Berat Eksplan Berkalus Stevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.).....	67
Gambar 4.3 Perubahan Warna Kalus dari Pengamatan 2 Minggu Setelah Tanam Sampai dengan 4 Minggu Setelah Tanam .....	72
Gambar 4.3 Tekstur Kalus pada Pengamatan 4 Minggu Setelah Tanam pada Beberapa Perlakuan.....	79
Gambar 4.4: Grafik Kadar Steviosida pada Kalus <i>Stevia rebaudiana</i> .....	84

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 Skema Kerja Penelitian .....	104
Lampiran 2 Skema Kerja Sterilisasi .....	105
Lampiran 3 Komposisi Media MS .....	106
Lampiran 4 Hari Muncul Kalus.....	106
Lampiran 5 Hasil ANAVA Pengaruh 2,4-D dan PEG 6000 Terhadap Hari Munculnya Kalus.....	107
Lampiran 6 Hasil uji DMRT 5% 2,4-D Terhadap Hari Munculnya Kalus....	107
Lampiran 7 Persentase Pertumbuhan Kalus.....	108
Lampiran 8 Hasil ANAVA antara 2,4-D dengan PEG 6000 Terhadap Persentase Pertumbuhan Kalus .....	108
Lampiran 9 Berat Kalus .....	109
Lampiran 10 Hasil ANAVA Antara 2,4-D dengan PEG 6000 Terhadap Berat Kalus.....	109
Lampiran 11 Hasil uji DMRT 5 % PEG 6000 Terhadap Berat Kalus .....	110
Lampiran 12 Perhitungan Eksplan Berkalus .....	110
Lampiran 13 Gambar Hasil Pengamatan Kalus Berumur 4 Minggu.....	111
Lampiran 14 Gambar Alat, Bahan, dan Kegiatan Penelitian .....	114
Lampiran 15 Gambar Hasil Analisis HPLC.....	117

## ABSTRAK

Laila, Fitriya Nur. 09620024. 2013. Pengaruh Penambahan ZPT 2,4-D dan PEG (Polyethylene Glykol) 6000 pada Media MS (Murashige & Skoog) untuk Produksi Metabolit Sekunder pada Kultur Kalus Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M.). Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing Skripsi: Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. Dosen Pembimbing Agama: Ach. Nashichuddin, M.A.

**Kata Kunci:** Kalus, Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert. M.), PEG 6000, 2,4-D, steviosida.

*Stevia rebaudiana* adalah anggota dari family Asteraceae, menghasilkan glikosida steviol (steviosida, rebaudiosida A, B, C, D, E dan dulcosida A) yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan pangan seperti penyedap makanan atau bahan pemanis pada suplemen gizi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi kombinasi 2,4-D dan PEG 6000 yang efektif dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder pada kalus stevia (*Stevia rebaudiana* Bert. M) secara *In Vitro*. PEG 6000 merupakan salah satu cara memanipulasi media tumbuh secara *In Vitro* untuk meningkatkan metabolit sekunder. PEG adalah senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan, sehingga air pada medium tidak dapat diserap, akibatnya tanaman mengalami stress osmosis yang menyebabkan sel akan menginduksi protein, mengkode gen-gen pembentuk enzim yang terlibat dalam biosintesis metabolit sekunder.

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 12 kombinasi dengan 3 ulangan. Faktor pertama yaitu pemberian ZPT 2,4-D (1 mg/L, 2 mg/L, dan 3 mg/L) dan faktor kedua yaitu pemberian PEG 6000 (0 mg/L, 5 mg/L, 15 mg/L, dan 25 mg/L). Parameter yang diamati adalah hari muncul kalus (hari), persentase (%) eksplan berkalus (g), berat kalus, morfologi kalus (tekstur dan warna kalus), dan metabolit sekunder steviosida. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) *two way* dan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan dilakukan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikan 5%. Untuk metabolit sekunder steviosida diuji dengan menggunakan *High Performance Liquid Cromatography* (HPLC).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D berpengaruh terhadap hari munculnya kalus dengan rata-rata tumbuh pada hari ke-15 yaitu pada konsentrasi 2 mg/L. Perlakuan PEG 6000 berpengaruh terhadap berat kalus, perlakuan 5 mg/L PEG 6000 mampu mempertahankan berat kalus dibanding perlakuan PEG yang lain, yaitu 0,2511 g. Perlakuan kombinasi 2,4-D dan PEG 6000 berpengaruh terhadap sintesis metabolit sekunder, perlakuan kombinasi 1 mg/L 2,4-D dan 25 mg/L PEG 6000 merupakan kombinasi yang paling efisien untuk mendapatkan metabolit sekunder steviosida yaitu sebesar 4,792 mg/g. Pengamatan morfologi kalus (tekstur dan warna kalus) didapatkan kalus bertekstur kompak dan berwarna coklat akibat cekaman osmosis PEG 6000, morfologi kalus tersebut yang memiliki kandungan metabolit sekunder steviosida tinggi pada penelitian ini.

## ABSTRAC

Laila, Fitriya Nur. 09620024. 2013. **The Effect of ZPT 2,4-D and PEG (Polyethylene Glykol) 6000 wiht The Addition MS (Murashige & Skoog) for Production Secondary Metabolite wiht Callus Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M.) Culture.** Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology. Thesis Supervisor: Dr. Evika Password Savitri, M.P. Supervisor Religion: Ach. Nashichuddin, M.A.

**Kata Kunci:** *Calli, Stevia (Stevia rebaudiana Bert. M.), PEG 6000, 2,4-D, Stevioside.*

*Stevia rebaudiana* Bert. Is a member from Asteraceae family, it produce steviol glycoside (stevioside, rebaudioside A, B, C, D, E and dulcoside A) that can be used as the addition food material such as food flavoring or the sweetener material in nutrient supplement. The purpose of the research is to know combination concentrate 2,4-D and PEG 6000 that efective in increasing the production of secondary metabolite in callus stevia (*Stevia rebaudiana* Bert. M) wiht *In Vitro*. PEG 6000 which is one of to manipulated growing media wiht *In Vitro* for increasing the secondary metabolite. PEG is a compound that can lower the osmotic potential of the solution, so that the water can not be absorbed, resulting in plants that causes osmotic stress induces proteins, genes coding for enzymes involved in forming the biosynthesis of secondary metabolites.

This research use Completely Randomized Design (CRD) factorial method wiht 12 combinations wiht 3 repetitiol. The first factor is the distribution of 2,4-D (1 mg/L, 2 mg/L, dan 3 mg/L) and the second factor is the distribution PEG 6000 (0 mg/L, 5 mg/L, 15 mg/L, dan 25 mg/L). The parameter that analyse is callus appear day (day), presentage (%) explant callus (gr), callus weight, callus morphology (callus pattern adn color), and secondary metabolite stevioside. The data that the researcher get is analyse by ANOVA two way and to know the differentiation is analyse by *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) wiht significant standartd 5 %. To secondary metabolite stevioside is test using *High Performance Liquid Cromatography* (HPLC).

The result of the research shows that 2,4-D influence to the appearing callus day whit growt anerag 15 day that is in 2 mg/L concentrate. PEG 6000 is influence to the callus weight, the treatment 5 mg/L PEG 6000 can be able to maintain callus weight than the treatment others PEG, that is 0,2511 g. The combination 2,4-D and PEG 6000 in fluence to the synthesis secondary metabolite, suntetic combination 1 mg/L 2,4-D and 25 mg/L PEG 6000 is the efective combination to get the secondary metabolite stevioside that is 4,792 mg/g. The callus morphology research is (callus pattern adn color) is getting the callus that has compleite pattern and the color is brown because of the osmosis stress PEG 6000, that callus moorphology is has high secondary metabolite stevioside content in this research.

## ملخص

ليلة، فطرية نور. ٢٠١٣.٠٩٦٢٠٠٢٤. اثار الزيادة D-2,4-ZPT و 6000 PEG (Polyethylene Glykol) من ستيفيا *Stevia rebaudiana* Bertoni M.) إلى Media MS (Murashige & Skoog لإنتاج المركبات الثانوية في الثقافة الكالس من ستيفيا بحث العلمي. أطروحة، قسم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا في الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالايج. تحت الإشراف: دكتور افيكا ساندي سافيتري، MP والإشراف الدين: أحد. نصيح الدين، M.A.

family Asteraceae، هو عضو سفي الأسرة *Stevia rebaudina* Bert. stevioside، rebaudioside، A، B، C، D، E و ducoside A (ducoside A، B، C، D، E) التي استخدامها كزيادة الغذائية مثل لذذ الطعام أو تحلية في مضاد فيتامينات. تهدف هذا البحث ليعرف تركيز مزيج من PEG 6000 و 2,4-D كانت مؤثر في زيادة إنتاج المركبات الثانوية في الكالس *In Vitro* (In Vitro *Stevia rebaudiana* Bert. M) stevia فيPEG 6000 هو إحدى من الطرق التلاعب وسيلة النبت *In Vitro* لزيادة المركبات الثانوية. هو المركب الذي يمكن أن تظل PEG من احتمال الاسموزى من الحل، بحيث لا يمكن استيعابها من المياه في المتوسط، مما أدى إلى النباتات التي يسبب الضغط الاسموزى يدفع الخلايا البروتينات والجينات الترميد لا لأنزيمات المشاركة في تشكيل الحيوى من المركبات الثانوية.

يستخدم هذا البحث بمنهج تصميم كامل العشوائية (RAL) مع ١٢ مجموعة مضروب مع ثلاثة مكررات. العامل الأول هو توفير النمو المنظم النباتية D-2,4 (١ ملغم / لتر، ٢ ملغم / لتر، و ٣ ملغم / لتر) والعامل الثاني هو توفير PEG 6000 (٠ ملغم / لتر، ٥ ملغم / لتر، ١٥ ملغم / لتر، و ٢٥ ملغم / لتر). وكانت المعلمات قياس الناشئة (أيام)، والنسبة المئوية (%) الكالس ازدراع (z)، وزن الكالس، مورفولوجيا الكالس (نسيج ولون الكالس)، والمركبات الثانوية steviosida. وقد تم تحليل البيانات مع تحليل التباين (ANOVA) واتجاهين لإيجاد اختبار مدى اختلاف كبير اختبار Dunn متعددة (اختبار DMRT) بنسبة ٥٪ مستوى الدالة. لـ *High Performance Liquid Cromatography* المركبات الثانوية باستخدام اختبار السائل عالية الأداء (HPLC).

أظهرت النتائج أن معاملة تأثير D-2,4 على ظهور الكالس مع متوسط نمو في يوم ١٥ هو بتركيز ٢ ملغم / لتر. PEG 6000 تأثير العلاج على وزن الكالس، وعلاج ٥ ملغم / لتر PEG 6000 قادرة على الحفاظ على الوزن الكالس PEG العلاج من غيرها، أي 0.2511 غرام. تركيبة العلاج من D-2,4 وPEG 6000 يؤثر على تخليق المركبات الثانوية، والجمع علاج ١ ملغم / لتر D-2,4 و ٢٥ ملغم / لتر PEG 6000 هي مجموعات الأكثر فعالية للحصول على كمية من المركبات الثانوية steviosida 4.792 ملغم / غ . الكالس مورفولوجيا (الملمس واللون من الكالس) الحصول محكم المدمجة الكالس واللون البني بسبب الإجهاد الاسموزى من 6000 PEG مورفولوجيا الكالس الذي يحتوي على نسبة عالية من المركبات الثانوية steviosida في هذه الدراسة.