BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. *Stevia rebaudiana* Bert. M

2.1.1. Tinjauan Umum Tanaman *Stevia rebaudiana*

Stevia rebaudiana Bert. adalah salah satu dari 154 anggota dari genus Stevia dan salah satu dari hanya dua yang menghasilkan glikosida steviol (Brandle, 1998). Brandle (1998) dan Ray (2008) menambahkan bahwa Stevia adalah anggota dari family Asteraceae. Tanaman ini barasal dari lembah Rio Monday dataran tinggi Paraguay dekat sungai, terletak antara 25 dan 26 derajat Lintang Selatan, di mana stevia tumbuh di tanah berpasir. Stevia Ini termasuk dalam tanaman semak yang tumbuh hingga 65 cm.

Menurut Brandle (1998) mengatakan bahwa Stevia pertama kali dibawa ke Eropa pada tahun 1887 ketika MS Bertoni mempelajari sifat unik dari stevia di Paraguay India dan mestizo. Stevia telah lama diketahui di dataran tinggi Guarani Indian dari Paraguay yang menyebutnya dengan *caá-êhê*, yang berarti "ramuan manis". Daun digunakan untuk mempermanis *maté* atau sebagai agan pemanis. Benih dikirim ke Inggris pada tahun 1942. Sebuah upaya dilakukan untuk mengembangkan tanaman stevia sebagai tanaman di Jepang oleh Sumida (1968). Sejak itu, tanaman stevia telah diperkenalkan di sejumlah negara termasuk Brazil, Korea, Meksiko, Amerika Serikat, Indonesia, Tanzania, dan sejak tahun

1990, Kanada. Saat ini, produksi stevia berpusat di China dan pasar utama adalah di Jepang.

2.1.2. Taksonomi Tanaman *Stevia rebaudiana*

Taksonomi tanaman *Stevia rebaudiana* menurut Syamsuhidayat (1991) adalah sebagai berikut:

Kingdom Plantae
Divisi Spermatophyta
Kelas Dicotyledonae
Ordo Campanulatae
Famili Compositae
Genus Stevia
Spesies *Stevia rebaudiana* Bertoni M.

Gambar (2.1): Tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni M

2.1.3. Morfologi Tanaman *Stevia rebaudiana*

Tanaman *Stevia rebaudiana* memiliki ketinggian antara 30-90 cm, dan berbunga sepanjang tahun. *Stevia rebaudiana* dapat mencapai

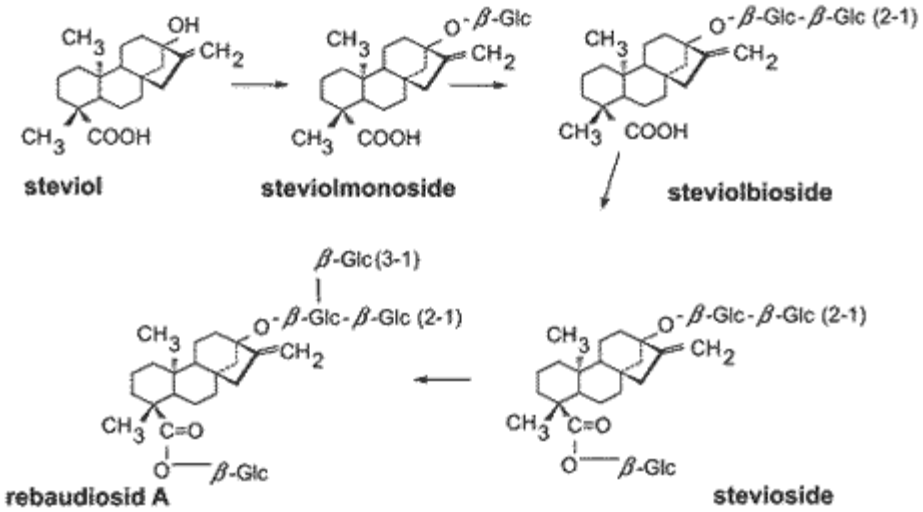
ketinggian antara 60-90 cm. Batang tanaman stevia berbentuk bulat lonjong langsing sampai oval, bergerigi halus, dan terletak berhadapan. Bunga stevia merupakan bunga sempurna (hermaphrodite) dengan mahkota berbentuk tabung. Perakaran tanaman stevia merupakan akar serabut yang terbagi menjadi dua bagian, yaitu perakaran halus dan perakaran tebal. Tanaman ini memiliki daya regenerasi yang kuat sehingga tahan terhadap pemangkasan (Rukmana, 2003).

Stevia rebaudiana Bertoni adalah tanaman perdu tahunan yang berbatang basah. Tinggi tanaman mencapai 60 cm dan bercabang banyak. Duduk daun berhadapan, bentuk daun sederhana, lonjong dan langsing, bagian tepi bergerigi halus. Tanaman ini tahan pangkas dan setelah dipangkastumbuh tunas baru dari bagian pangkal batang dalam jumlah yang banyak (Sumida, 1973). Tanaman mempunyai dua sistem perakaran, yaitu akar halus yang berkembang di bawah permukaan tanah, dan akar tebal dan kasar yang menembus ke dalam tanah. Bunganya aktinomorf hermafrodit, mahkota bunga berbentuk tabung dan tumbuh bersatu dalam tandan bunga (Sastrowijono, 1984).

2.1.4. Manfaat dan Kandungan Senyawa Kimia Tanaman *Stevia rebaudiana*

Stevioside adalah glikosida diterpenoid, yang terdiri dari aglikon (Steviol) dan tiga molekul glukosa. Selain stevioside, beberapa senyawa manis lainnya seperti steviobioside, Rebaudioside A, B, C, D, E dan ducoside A diisolasi dari daun S. *rebaudiana* Bertoni. Semua glikosida

diterpenoid memiliki struktur (steviol) kimia yang sama namun berbeda dalam residu karbohidrat pada posisi C13 dan C19. Komponen utama daun adalah stevioside (5-10% dari total berat kering), Rebaudioside A (2-4%), Rebaudioside C (1-2%) dan dulcoside A (0,4-0,7%). Struktur kimia stevioside dan senyawa terkait yang meliputi steviol, Rebaudioside A, isosteviol dan dihydroisosteviol. Tingkat kemanisan glikosida dibandingkan dengan sukrosa adalah dulcoside A 50-120, Rebaudioside A 250-450, Rebaudioside B 300- 350, Rebaudioside C 50-120, 250-450 Rebaudioside D, Rebaudioside E 150-300, 100-125 steviobioside, dan stevioside 300. Stevioside dihidrolisis oleh bakteri dalam saluran pencernaan untuk menghasilkan steviol dan glukosa. Sisa rasa stevioside memiliki beberapa kepahitan dan tidak diinginkan. Namun, masalah ini dapat diselesaikan dengan modifikasi enzimatik stevioside oleh pullanase, isomaltase , β-galaktosidase, atau dekstrin saccharase (Chatsudthipong, 2009).



Gambar (2.2): Beberapa Jenis Glikosida yang Terdapat dalam *Stevia rebaudiana*

Stevia daun juga mengandung protein, serat, karbohidrat, fosfor, besi, kalsium, kalium, natrium, magnesium, rutin (flavonoid), zat besi, seng, vitamin C dan vitamin A (Elkins, 1997).

Menurut Fatima (2010), Senyawa pemanis diisolasi dari daun Stevia. Senyawa ini disebut sebagai "stevioside" yang terdiri dari tiga molekul komplek glukosa dan satu molekul aglikon steviol, alkohol karboksilat diterpenic. Stevioside memiliki potensi pemanis yang sangat tinggi, 300 kali dari sukrosa tetapi sedikit nilai kalori. Manisnya stabil terhadap fermentasi panas dan ragi serta digunakan oleh orang-orang yang terkena obesitas, diabetes mellitus, penyakit jantung dan karies gigi. Stevioside, komponen utama dari Stevia, juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu. Steviol dan stevioside juga telah dilaporkan memiliki nilai terapeutik sebagai diuretik dan juga sebagai obat diabetes. Stevia telah diusulkan menjadi tanaman potensial sebagai agen antihiperglikemik dengan merangsang sekresi insulin dari pankreas. Konsumsi lanjutan ekstrak stevioside selama tiga bulan menurunkan tekanan darah pada pasien hipertensi.

Uji klinis dengan hasil konsumen menunjukkan bahwa stevia benar-benar dapat membantu untuk menormalkan gula darah. Untuk alasan ini, herbal dan ekstrak dianjurkan di beberapa negara sebagai obat bagi orang yang menderita diabetes atau hipoglikemia. Penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa stevia dapat meningkatkan toleransi glukosa sekaligus mengurangi kadar gula darah. Penduduk pribumi Paraguay telah

menggunakan teh stevia secara tradisional untuk mengatur gula darah. Umumnya rebusan stevia digunakan untuk penderita diabetes dan biasanya dibuat dengan merebus atau seduhan daun dalam air (Elkins, 1997).

2.2. Kultur Jaringan Tanaman

2.2.1. Pengertian Kultur Jaringan

Teori perbanyakan secara in vitro berawal dari teori totipotensi dimana setiap sel tanaman memiliki informasi genetik lengkap sehingga mampu beregenerasi membentuk tanaman lengkap apabila ditumbuhkan dalam lingkungan yang sesuai. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan bisa diambil dari hipokotil, daun muda, embrio muda, dan embrio matang (Zulkarnain, 2009).

Kultur jarinagn tanaman adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ, atau embrio, lalu dikultur pada medium buatan yang steril sehingga bagian-bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Jaringan yang sering digunakan dalam teknik kultur jaringan tanaman adalah kalus, sel, dan protoplasma, sedangkan organ tanamannya meliputi pucuk, bunga, daun, dan akar (Zulkarnain, 2009).

Menurut Hendaryono (1994), kultur adalah budidaya dan jaringan adalah sekelompok sel yang mempunyai bentuk dan fungsi yang sama. Maka kultur jaringan adalah membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya.

Usaha pengembangan tanaman dengan kultur jaringan merupakan usaha perbanyakan vegetatif tanaman yang dapat dikatakan masih baru. Namun saat ini sudah banyak sekali penemuan-penemuan tentang ilmu pengetahuan tentang kultur jaringan dalam bidang pertanian, biologi, farmasi, kedokteran dan sebagainya. Dibidang farmasi, teknik kultur jaringan sangat menguntungkan karena dapat menghasilkan metabolit sekunder untuk keperluan obat-obatan dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang singkat (Hendaryono, 1994).

2.2.2. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Jaringan

Menurut Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa terdapat enam variabel yang harus dipertimbangkan dalam keberhasilan teknik kultur jaringan, yaitu seleksi bahan tanam, teknik sterilisasi eksplan, komposisi medium dasar, keterlibatan zat pengatur tumbuh terutama auksin dan sitokinin, serta faktor-faktor lingkungan di mana kultur ditempatkan.

1. Eksplan

Eksplan artinya jaringan tanaman yang digunakan sebagai bahan tanam di dalam botol kultur. Eksplan dipilih dari jaringan yang masih muda, yang tersusun atas sel-sel yang masih dan selalu membelah sehingga bisa menghasilkan tanaman yang sempurna (Purwanto, 2008). Menurut Hendaryono dkk (1994) mengatakan meskipun pada prinsipnya semua jenis sel dapat ditumbuhkan, tetapi

sebaiknya dipilih bagian tanaman yang masih muda tumbuh yaitu bagian meristem, misalnya: daun muda, ujung akar,ujung batang, keping biji dan sebagainya, bila menggunakan embrio atau bagian-bagian biji yang lain sebagai eksplan, yang perlu diperhatikan adalah kemasakan embrio, waktu imbibisi, temperatur dan dormansi.

Menurut Zulkarnain (2009), faktor lain yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan, namun bukan merupakan faktor utama adalah ukuran eksplan yang digunakan. Hal ini penting dalam upayah memproduksi tanaman bebas virus melalui kultur meristem. Disamping itu, ukuran pun menentukan laju kehidupan bahan eksplan yang dikulturkan.

2. Sterilisasi Bahan Eksplan

Sterilisasi eksplan bertujuan untuk menyuci hama jaringan yang dimaksud. Eksplan berupa bagian daun atau tunas harus disterilisasi secara kimia. Daun atau tunas harus betul-betul bersih dari kotoran yang menempel. Oleh karenanya, cuci dengan air mengalir. Pencucian ini meliputi tiga tahap. Mula-mula cuci dengan deterjen, lalu rendam dengan larutan fungisida-bakterisida 15 menit, dan cuci kembali dengan air mengalir (Purwanto, 2008).

Menurut Zulkarnain (2009) mengatakan bahwa untuk menghilangkan sumber infeksi, bahan tanam harus disterilkan

sebelum ditanam pada medium tumbuh. Jaringan ataupun organ yang terinfeksi jamur atau bakteri sistemik hendaknya dibuang.

3. Media Tanam

Media tanam dalam kultur jaringan adalah tempat untuk tumbuh eksplan. Media tanam tersebut dapat berupa larutan (cair) atau padat. Media cair berarti campuran komponen-komponen zat kimia dengan air suling, sedangkan media padat adalah media cair tersebut dengan ditambah zat pemadat agar (Hendaryono dkk, 1994).

Media tanam harus berisi semua zat yang diperlukan untuk menjamin pertumbuhan eksplan. Bahan-bahan yang diramu berisi campuran garam mineral sumber unsur makro dan unsur mikro, gula, protein, vitamin, dan hormon tumbuh. Dengan demikian keberhasilan kultur jaringan jelas ditentukan oleh media tanam dan macam tanaman. Campuran media yang satu mungkin cocok untuk jenis-jenis tanaman tertentu, tetapi tidak cocok untuk jenis-jenis tanaman yang lainnya (Hendaryono dkk, 1994).

Pembentukan kalus juga dipengaruhi oleh zat-zat tertentu dalam medium dan sterilisasi medium. Sterilisasi dengan pemanasan sering menyebabkan kerusakan pada vitamin dan gula yang ada pada medium. Dengan proses pemanasan, fruktosa akan mengadakan interaksi dengan senyawa-senyawa lain dalam medium, misalnya

MgSO4 yang dapat membentuk senyawa yang bersifat toksik (Hendaryono, 1994).

4. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Pengaruh rangsangan auksin terhadap jaringan berbeda-beda. Rangsangan yang paling kuat terutama adalah terhadap sel-sel meristem apikal, batang, dan koleoptil. Pada kadar yang tinggi, auksin lebih bersifat menghambat daripada merangsang pertumbuhan. Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan adanya indikasi bahwa auksin dapat menaikkan tekanan osmotik, meningkatkan sintesa protein, meningkatkan permeabilitas sel terhadap air, dan melunakkan dinding sel yang diikuti menurunnya tekanan dinding sel sehingga air dapat masuk ke dalam sel yang disertai dengan kenaikan volume sel. Dengan adanya kenaikan sintesa protein, maka dapat digunakan sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan (Hendaryono dkk, 1994).

Menurut penelitian Sadeak (2009) memperlihatkan hasil bahwa tiga jenis eksplan (nodal, antar-nodal dan daun) dikultur pada media Murashige dan Skoog (MS) media diperkaya dengan auksin yang berbeda yaitu 2,4-dicholorophenoxy asam asetat (2,4-D), sebuah asam naphthaleneacetic (NAA) dan indole-3-acetic acid (IAA) pada berbagai konsentrasi baik secara tunggal atau kombinasi. Kehadiran 2, 4-D (0,5 mg/L dan 1,0 mg/L) dalam media MS menunjukkan pengaruh

lebih besar pada nodal, induksi kalus baik diamati ketika daun dikultur dalam MS yang mengandung 2, 4-D (3,0 mg/L). Sedang menurut Gupta (2010), tidak tumbuh kalus yang diamati pada media dilengkapi dengan 2,4-D atau NAA. Telah diamati bahwa eksplan daun yang dikultur pada konsentrasi yang lebih rendah dari 2,4 - D (1,0-2.5 mgl-1) mengalami kematian selama minggu pertama inisiasi kultur sedangkan eksplan daun dikultur pada konsentrasi yang lebih tinggi dari 2,4-D (3,0-5.0 mgl-1) menunjukkan respon yang baik (eksplan daun bertambah lebar dan berwarna hijau).

Sitokinin berpengaruh terutama pada pembelahan sel. Bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan. Peda pemberian auksin dengan kadar yang relatif tinggi, deferensiasi kalus cenderung ke arah pembentukan primordia akar. Sedangkan pada pemberian sitokinin dengan kadar yang relatif tinggi, deferensiasi kalus akan cenderung ke arah pembentukan primordia batang atau tunas (Hendaryono dkk, 1994). Sitokinin yang paling banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah Kinetin, Benziladenin (BA atau BAP), dan Zeatin (Smith, 1992).

5. Faktor Lingkungan

Lingkungan kultur merupakan hasil interaksi antara bahan tanam, wadah kultur, dan lingkungan eksternal ruang kultur, memiliki pengaruh yang sangat besar terhadap suatu sistem kultur jaringan.

Sejumlah faktor lingkunagan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur adalah suhu, cahaya, karbondioksoda, oksigen, etilen, dan kelembapan. Masing-masing faktor tersebut tidak bekerja sendiri-sendiri, tetapi saling berinteraksi satu sama lain dalam mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikultur (Zulkarnain, 2009).

2.2.3. Manfaat Kultur Jaringan

Manfaat utama dari aplikasi teknik kultur jaringan tanaman adalah perbanyakan klon atau perbanyakan massal dari tanaman yang sifat genetiknya identik satu sama lainnya. Disamping itu teknik kultur jaringan pun bermanfaat dalam beberapa hal khusus, yaitu perbanyakan klon secara cepat, keseragaman genetik, kondisi aseptik, seleksi tanaman, stok tanaman mikro, lingkungan terkendali, pelestarian plasma nuifah, produksi tanaman sepanjang tahun, memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara vegetatif konfensional (Zulkarnain, 2009).

Menurut Hendaryono dkk (1994), keuntungan kultur jaringan dalam menghasilkan persenyawaan yang bermanfaat adalah (1) bioteknologi untuk menghasilkan zat-zat persenyawaan yang bermanfaat biasa diambil dari tanaman langsung; (2) tidak perlu menunggu tahunan sampai tanaman cukup besar untuk dipungut hasilnya, sekarang hanya perlu beberapa bulan saja sampai kalus terbentuk untuk diambil metabolitnya; (3) tidak memerlukan air tanah yang luas, hanya dibutuhkan

gedung semacam laboratorium untuk menghasilkan kalus; (4) hasil berupa kadar metabolit yang ditumbuhkan sering kali kadarnya lebih tinggi pada kalus daripada yang berasal dari tanaman; (5) dari kalus sering timbul zat-zat alkaloid atau persenyawaan yang berguna, lebih baek jenisnya dari pada yang berasal dari tanaman; (6) kadar persenyawaan yang berguna dalam kalus, peningkatannya dapat dimanipulasi dengan: memakai medium lain yang lebih sesuai, mengubah salah satu kadar komponen dalam medium, memberi zat tambahan tertentu dalam medium.

2.3. Kualitas Kalus Hasil Kultur

Kalus merupakan sekumpulan masa sel yang terdeferensiasi menjadi organ dari tanaman. Proses terjadinya kalus tergantung bagian yang dipakai sebagai eksplan dan zat tanam yang ditambahkan pada media dasar. Tekstur kalus merupakan salah satu penanda yang digunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Kalus yang baik diasumsikan memiliki tekstur yang remah (fariable). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi se-sel tunggal pada kultur suspensi, disamping itu akan meningkatkan aerasi oksigen dalam sel. Tekstur kalus dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu: kompak (non fariable), intermediet, remah (fariable) (Andaryani, 2010).

Kalus dengan tekstur kompak atau intermediate merupakan kalus yang dapat menghasilkan metabolit sekunder lebih tinggi dibanding kalus dengan tekstur remah. Hal ini terjadi karena produksi senyawa metabolit

sekunder terjadi pada saat pertumbuhan kalus mencapai batas optimal (fase stasioner). Sedangkan kalus dengan tekstur remah memiliki masa proliferasi (perbanyakan dan pertumbuhan) kelus lebih panjang sehingga produksi metabolit sekunder lebih sedikit dibanding dengan kalus bertekstur kompak (Lestari, 2013). Aisyah (2007) menambahkan bahwa kalus akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder ketika sel-sel kalus mengalami penurunan aktifitas pembelahan atau pertumbuhan sel.

Kalus yang baik untuk perbanyakan diasumsikan memiliki tekstur remah (*friable*). Tekstur kalus yang remah dianggap baik karena memudahkan dalam pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, disamping itu akan meningkatkan aerasi oksigen antar sel (Andaryani, 2010).

Menurut Purwianingsih (2007), struktur kalus kompak dan terjadinya perubahan warna kekuningan atau kehijauan, mengindikasikan terjadinya deferensiasi sel. Kalus kompak terjadi melalui proses pertumbuhan yang mengarah pada pembentukan sel yang berikatan rapat dan padat. Auksin dapat menstimulasi pemanjangan sel dengan cara penambahan plastida dinding sel (longgar), sehingga air dapat masuk kedalam dinding sel dengan cara osmosis dan sel mengalami pemanjangan. Oleh karena itu kalus kompak mengandung banyak air karena belum mengalami lignifikasi dinding sel.

Suatu eksplan ditanam pada medium padat atau medium cair yang sesuai, dalam waktu 2-4 minggu, tergantung spesiesnya, akan terbentuk massa kalus yaitu suatu massa amorf yang tersusun atas sel-sel parenkim berdinding sel tipis yang berkembang dari hasil proliferasi sel-sel jaringan

induk. Kalus dihasilkan dari lapisan luar sel-sel korteks pada ekplan melalui pembelahan sel berulang-ulang. Kalus terbentuk melalui tiga tahap, yaitu induksi, pembelahan sel, dan diferensiasi. Pembentukan kalus ditentukan sumber eksplan, komposisi nutrisi pada medium, dan faktor lingkungan (Yuwono, 2006).

ZPT yang digunakan adalah 2,4-D dari golongan auksin untuk menginduksi kalus. Auksin berperan dalam pembentukan kalus, morfogenesis akar, dan tunas serta embriogenesis. Pemilihan konsentrasi dan jenis auksin ditentukan antara lain oleh tipe pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang dikehendaki. Penggunaan auksin umumnya digunakan untuk induksi kalus embriogenik. Selain itu, jenis dan konsentrasi hormon, jenis asam amino serta rasio auksin dan sitokonin sangat menentukan dalam menginduksi pembentukan kalus (Ma'rufah, 2008).

Pertumbuhan kalus dapat digambarkan dalam bentuk kurva sigmiod, biasanya terdiri dari lima fase, yaitu (1) lag fase, sel siap untuk membelah. (2) Periode pertumbuhan eksponensial, pembelahan sel secara maksimal. (3) Periode pertumbuhan linear, pembelahan sel menurun dan pembesaran sel. (4) Periode penurunan kecepatan tumbuh. (5) Stasioner atau periode tidak ada pertumbuhan (Smith, 2000). Metabolit sekunder pada umumnya meningkat pada fase stasioner. Hal ini dimungkinkan karena adanya peningkatan vakuola sel atau akumulasi. Pada fase stasioner pertumbuhan terhenti dan terjadi kematian sel, hal ini karena sejumlah nutrisi telah berkurang atau terjadi senyawa toksik yang dikeluarkan kalus kedalam

medium. Pada fase ini harus dilakukan subkultur pada kalus agar tetap hidup (Darmawati, 2007).

Menurut Lestari (2013) melaporkan warna hijau disebabkan kalus mengandung klorofil, akibat interaksi ZPT yang berperan dalam pembentukan klorofil pada kalus serta faktor lingkungan yaitu paparan cahaya lampu. George & Sherrington (1993) menyatakan, cahaya putih dapat merangsang pembentukan kalus dan organogenesis kultur jaringan tumbuhan.

Leupin (2000) menyatakan perubahan warna kalus menjadi kehijauan disebabkan mulai terbentuk klorofil, semakin lama warna kalus menjadi hijau kekuningan atau keputihan disebabkan terjadinya proliferasi sel. Apabila kalus banyak mengandung klorofil maka proliferasi sel terjadi lambat dan hanya terjadi perkembangan sel sehingga kalus yang terbentuk lebih sedikit. Kalus berwarna kehijauan (kuning kehijauan) merapakan kalus yang tumbuh dengan baik karena kalus masih aktif melakukan metabolisme dalam sel serat sel-sel dalam kalus tersebut masih hidup dan aktif membela.

Kalus yang berwarna coklat merupakan respon oksidasi senyawa fenolik akibat pelukaan suatu jaringan eksplan. Sedangkan kalus putih merupakan akibat dari tidak terbentuknya kloroplas atau degradasi klorofil.

Menurut Yuwono (2006) mengatakan bahwa kultur kalus bermanfaat untuk mempelajari beberapa aspek dalam metabolisme tumbuhan dan deferensiasinya, misalnya (1) mempelajari aspek nutrisi tanaman, (2) diferensiasi dan morfogenesis sel dan organ tanaman, (3) variasi somoklonal,

(4) transformasi genetik menggunakan teknik biolistik, (5) produksi metabolit sekunder dan regulasinya.

2.4. Metabolit Sekunder

Metabolit skunder merupakan hasil metabolis yang memiliki kriteria khusus dalam makhluk hidup dan diperoleh melalui jalur khusus dari metabolit primer seperti karbohidrat, lemak, dan asam amino. Metabolit skunder dibentuk untuk meningkatkan pertahanan diri (Harbert, 1995 dalam Hajjah, 2012). Stren (2003) menambahkan bahwa beberapa produk dari metabolit sekunder digunakan tanaman untuk bertahan hidup dalam kondisi yang khusus. Produk ini dicirikan tanaman dengan warna yang khas, aroma, racun, dan komponen-komponen lain yang menarik atau menghalangi organisme lain (Stern, 2003).

Manusia telah menggunakan beberapa metabolit sekunder dari tanaman untuk keperluan medis, makanan, atau tujuan lainnya. Metabolit sekunder dihasilkan dari modifikasi asam amino, dan komponen-komponen alkaloid, atau pembentukan spesial dari jalur shikimat (fenolik) dan jalur asam mevalonat (Stren, 2003).

Pembentukan metabolit sekunder dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain: suhu, pH, aktivitas air dan intensitas cahaya. Laju reaksi thermal (non fotokimia) peka terhadap suhu dan beberapa laju reaksi akan meningkat seiring dengan peningkatan suhu 10^0C. Lahan yang relatif kering, pH dan kelembaban tanah adalah merupakan parameter yang relevan untuk

terbentuknya metabolisme sekunder. Metabolit dibentuk melalui lintasan (*pathway*) yang khusus dari metabolisme primer (Sutardi, 2008).

2.5. Biosintesis Senyawa Steviosida

2.5.1 Klasifikasi Senyawa Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa alam yang terbentuk dengan proses biosintesis. Struktur terpenoid dibangun oleh molekul isoprene (Sirait, 2007). Menurut Nahar (2009), isoprene merupakan satuan 5 karbon, yang secara kimiawi dikenal sebagai 2-mitil-1,3-butadiena. Sirat (2007) menambahkan bahwa kerangka terpenoid terbentuk dari dua atau lebih banyak satuan unit isoprene (C_5). Senyawa terpenoid berkisar dari senyawa yang volatil (polar), yakni komponen minyak atsiri, yang merupakan mono dan sesquiterpen (C_{10} dan C_{15}), senyawa yang kurang volatil, yakni diterpen (C_{20}), sampai senyawa yang kurang volatil seperti triterpenoid dan sterol (C_{30}) serta pigmen karetenoid.

Menurut Satrohamidjojo (1996), terpen diklasifikasikan sesuai dengan jumlah satuan C_5 = hemiterpen, C_{10} = monoterpen, C_{15} = sesquiterpen, C_{20} = diterpen, C_{25} = sesterpen, C_{30} = triterpen, C_{40} = dan tetraterpen. Maupun sejemlah senyawa lain yang tidak mengikuti aturan. Menurut Chatsudthipong (2009) dan Chaturvedula (2011), Stevioside adalah glikosida diterpenoid, yang terdiri dari aglikon (steviol) dan tiga molekul glukosa. Selain stevioside, beberapa senyawa manis lain seperti

steviobioside, Rebaudioside A, B, C, D, E dan ducoside A diisolasi dari daun S. *rebaudiana* Bertoni.

Diterpen terdiri dari senyawa yang heterogen (Sirait, 2007). Merupakan senyawa yang mengandung 20 atom karbon yang diturunkan dari 2*E*, 6*E*,10*E*-geranigeranilpirofosfat (GGPP) atau isomer geranil linoloil alilik-nya melalui kondensasi IPP dengan 2*E*, 6*E*-FPP (Nahar, 2009).

2.5.2 Senyawa Glikosida

Senyawa yang menghasilkan satu atau lebih gula pada hidrolisis dikenal sebagai glikosida. Satu glikosida tersususn atas dua entitas: bagian gula (glikon) dan bagian non-gula (aglikon atau genin). Glikosida dengan berbagai aglikon yang berbeda ditemukan secara luas dalam tanaman. Beberapa glikosida ini dibentuk dari fenol, polifenol, steroid, dan alkohol terpenoid melalui pengikatan glikosidik pada gula (Nahar, 2009).

Menurut Elkins (1997), glikosida merupakan senyawa organik yang mengandung senyawa gula (*glycone*) dan bukan gula (*aglycone*). *Glycone* terdiri dari unsur pokok yaitu rhamnose, fruktosa, glukosa, xylosa, arabinosa. Sedangkan yang lainnya terdiri dari senyawa kimia yaitu sterol, tanin, dan karotenoid.

Umumnya glikosida mudah terhidrolisis oleh asam mineral atau enzim. Hidrolisis oleh asam memerlukan panas. Hidrolisis oleh enzim tidak memerlukan panas. Pada tanaman, hidrolisis enzim terjadi pada

proses perkecambahan, luka, dan aktifitas fisiologis dari sel (Sirat, 2007). Berikut Komposisi glikosida di dalam daun stevia.

Tebel (2.1): Komposisi glikosida di dalam daun stevia

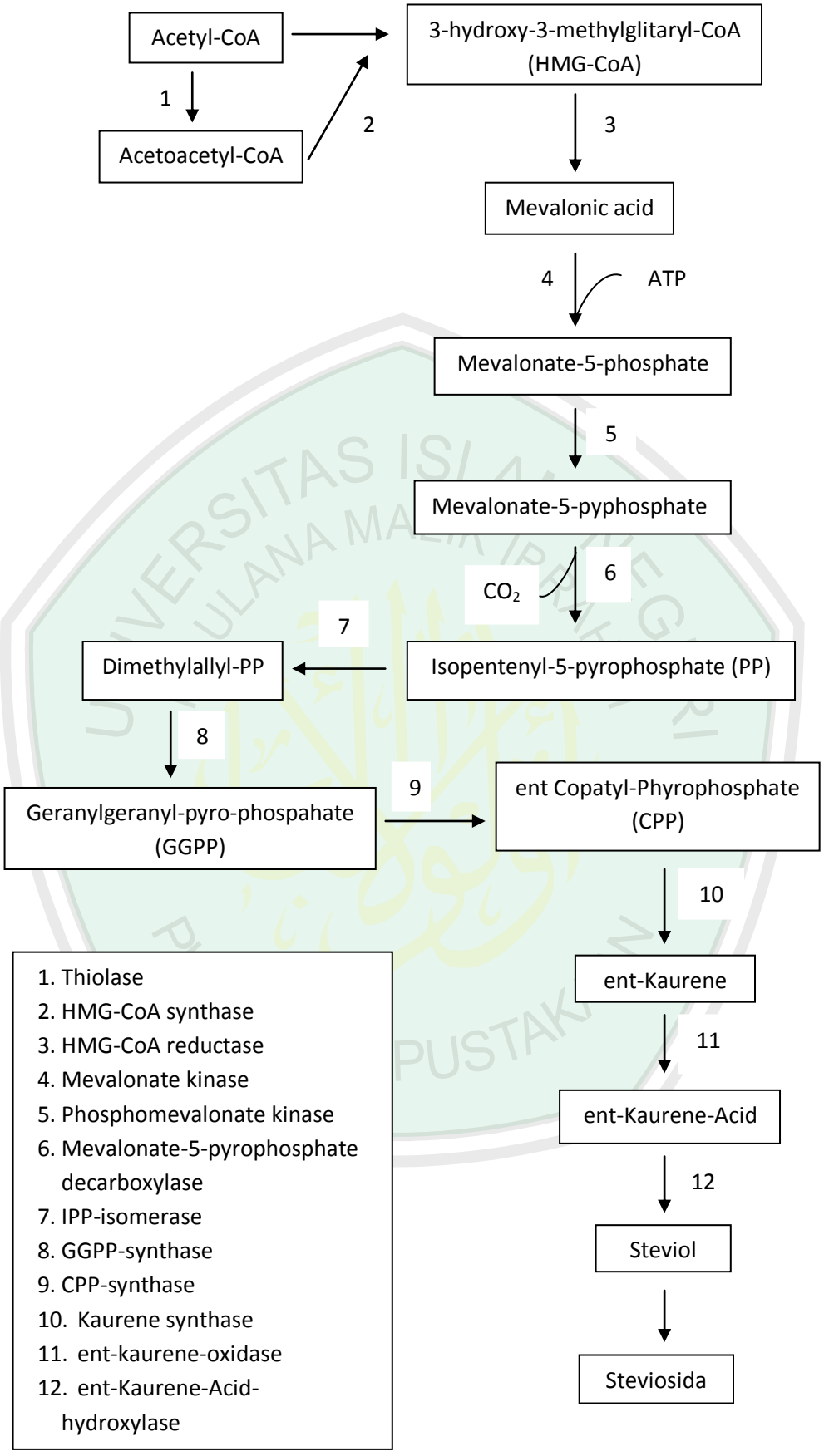
No.	Jenis senyawa	R1	R2	Potensi kemanisan (sukrosa = 1)
1.	Steviol	H	H	--
2.	Steviolbioside	H	β-glc- β -gluc (2→1)	100 – 125
3.	Stevioside	β -glc	β -glc- β -gluc (2→1)	150 – 300
4.	Rebaudioside A	β -glc	β-glc-β-gluc (2→1) β-glc (3→1)	250 – 450
5.	Rebaudioside B	H	β-glc-β-gluc (2→1) β-glc (3→1)	300 – 350
6.	RebaudiosideC (Dulcoside B)	β -glc	β-glc- β-gluc (2→1) β-glc (3→1)	500 – 120
7.	Rebaudioside D	β-glc-β-gluc (2→1)	β-glc- β -gluc (2→1) β -glc (3→1)	250 – 450
8.	Rebaudioside E	β –glc	β -glc- β -gluc (2→1)	150 – 300
9.	Rebaudioside F	β -glc- β -gluc (2→1)	β -glc- β -Xyl (2→1) β -glc (3→1)	--
10.	Dulcoside A	β -glc	β -glc- α-Rha (2→1)	50 -120

Sumber : Geuns (2003)

2.5.3 Biosintesis Senyawa Steviosida

Jalur biosintesis sangat bervariasi tergantung pada jenis aglikon yang ada dalam glikosida. Aglikon dan bagian gula (glikon) dibiosintesis secara terpisah, dan selanjutnya digabung untuk membentuk suatu glikosida. (Nahar, 2009). Glikosida steviol berasal dari jalur asam mevalonat. Ini adalah dasar jalur metabolik yang dibangun dari dua molekul C_5, yaitu pirofosfat isopentenil pirofosfat dan dimethylallyl, yang diperlukan untuk sintesis dari semua senyawa isoprenoid. Steviol glikosida yang berasal dari jalur asam mevalonat (Brendile, 1998).

Menurut Sastrohamidjojo (1996) menjelaskan bahwa asam mevalonat, senyawa enam atom karbon yang ditemukan dari kondensasi tiga molekul asam asetat. Kondensasi dua molekul asetil koenzim A yang menghasilkan asetoasetil, kemudian kondensasi serupa indol asetil Co-A dengan turunan asetoasetat membentuk senyawa β-hidriksi-β-metilglutamin. Reduksi senyawwa tersebut menghasilkan asam mevalonat. Kemudian terjadi fosforilasi asam mevalonat (dengan ATP) menghasilkan asam mevalonat-5-pirofosfat. Ini merupakan senyawa induk intermediet satuan lima karbon (isoprene). Serta dekarboksila oleh mevalonat-5-pyroposphatase membentuk isopentenyl-5-pyropospatase (IPP), isopentenyl-5-pyropospatase diubah oleh enzim isopentenil-PP-isomerase menjadi dimetylallyl-PP (Gambar 2.3). Berikut merupakan jalur biosintesis steviosida:



Gambar (2.3): Skema Biosintesis Steviosida

Biosintesis steviol pertama kali diteliti lebih dari 30 tahun yang lalu. Penemuan awal ini yang mendasari ditetapkannya glikosida steviol dari GGPP identik dengan biosintesis digiberelin. GGPP diubah menjadi pirofosfat ent-copalyl (CPP) oleh CPP synthase (juga disebut ent-kaurene sintase A) dan dihasilkan ent-kaurene oleh ent-kaurene synthase (juga disebut ent-kaurene synthase B. Selanjutnya dioksidasi oleh enzim ent-kaurene 19-Oxidase menjadi asam ent-kaurenoic diasumsikan terjadi melalui satu langakah atau lebih monooxygenases P450 yang belum diidentifikasi. Pada titik ini jalur ke glikosida steviol dan giberelin menyimpang. Steviol diproduksi oleh hidroksilasi lanjut asam ent-kaurenoic diposisi C-13 oleh enzim ent-Kaurenoic Acid 13-Hydroxylase (Gambar 2.3).

Dua golongan fungsional oksigen dari steviol, C-19 karboksilat dan C-13 alkohol, menjadi poin pelengkap untuk rantai samping gula yang menentukan perbedaan identitas dari delapan glikosida yang masih diidentifikasi sampai saat ini. Rantai sisi glycan didominasi oleh residu glukosa tetapi mungkin juga mengandung rhamnosa. Dua kegiatan ini telah dimurnikan dan dikarakterisasi.

Diterpen biosintesis telah ditemukan umumnya terjadi dalam plastida sel tumbuhan. Ada bukti bahwa biosintesis steviol sesuai dengan pola ini dan terlokalisir di kloroplas daun. Tingginya tingkat aktivitas HMG-CoA dapat diekstraksi dari stevia kloroplas dan asam ent-kaurenoic 13-hidroksilase yang mengubah asam ent-kaurenoic, steviol dimurnikan

dari kloroplas stroma. Sebaliknya, UDP-glucosyl transferases melakukan glikosilasi pada struktur steviol yang oleh enzim terlarut operasional, reaksi ini menunjukkan bahwa terjadi di luar kloroplas. Glikosida steviol diangkut ke vakuola sel di mana Glikosida steviol disimpan. Glikosida menumpuk di daun stevia di mana dapat terdiri dari 10 sampai 20% dari berat kering daun. Dengan demikian, sebagian besar dari metabolisme total tanaman bekerja untuk sintesis struktur molekul-molekul yang kompleks. Kondisi bahwa seleksi disukai produsen glikosida diterpen tinggi tersebut tidak diketahui.

2.6. Produksi Metabolit Sekunder Melalui Teknik Kultur *In Vitro*

Kultur jaringan telah lama digunakan sebagai metode untuk produksi senyawa bioaktif dari tumbuhan. Kelebihan penggunaan kultur jaringan dalam produksi senyawa bioaktif dibanding dengan budidaya tanaman secara utuh antara lain adalah tidak adanya keterbatasan iklim, tidak memerlukan lahan yang luas, dan senyawa bioaktif dapat dihasilkan secara terus menerus dalam keadaan yang terkontrol (Habibah, 2009).

Menurut Ramawat (1999), dalam penelitian produk sekunder tanaman secara *In Vitro,* kurva pertumbuhan kalus sangta penting untuk diketahui. Pengamatan pertumbuhan kalus akan memberikan informasi mengenai hubungan pertumbuhan dan sintesis produk sekunder serta akumulasinya. Hal ini bermanfaat dalam tujuan eksperimen untuk menghasilkan produk sekunder dan pemanenan jaringan pada waktu tertentu,

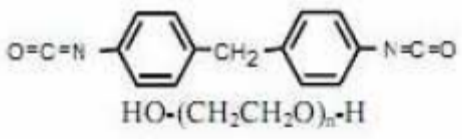
untuk analisis produk sekunder dan mengatur pertumbuhan, serta memindahkan sel kedalam media inisiasi.

Kalus yang stabil memiliki kurva pertumbuhan sigmoid dengan tiga fase pertumbuhan sebagai berikut (Ramawat, 1999): (a) fase lag: fase ini belum terjadi pertumbuhan kalus, merupakan masa daptasi eksplan dengan media yang baru; (b) fase eksponensial: fase ini terjadi peningkatan produksi metabolit primer dan proliferasi sel secara cepat; (c) fase stasioner: fase ini produksi metabolit primer dan pertumbuhan kalus berhenti. Proliferasi sel berhenti karena nutrien di dalam media telah habis. Pada fase ini terjadi peningkatan sintesis metabolit sekunder. Jika pada fase ini kalus tidak dipanen, maka akan terjadi degradasi metabolit sekunder.

Biosintesis metabolit sekunder akan dilakukan oleh tanaman ketika nutrisi pada media tumbuh telah habis, adanya senyawa-senyawa tertentu pada lingkungannya yang merugikan ataupun adanya suatu senyawa yang dapat memicu produksi metabolit sekunder (Bulgakov, 2003).

2.7. Peran PEG 6000 dalam Memproduksi Metabolit Sekunder

Polyethylen Glykol merupakan senyawa yang stabil, non ionic, polimer panjang yang larut dalam air dan dapat digunakan dalam sebaran bobot molekul yang luas. PEG juga merupakan satu jenis osmotikum yang biasa digunakan untuk mensimulasi kondisi kekeringan, karena sifatnya yang dapat menghambat penyebaran air oleh sel atau jaringan tanaman (Lawyer, 1970). Dibawah ini merupakan gambar dari struktur kimia molekul PEG:



Gambar 2.4: Struktur kimia molekul PEG

Polietilena oksida atau sering disebut polietilena glikol (PEG) adalah non ionik, polimer yang larut dalam air, secara luas digunakan sebagai koloid penstabil dalam makanan, cat, dan dan dalam formula obat-obatan dan kosmetika (Golander, 1992 dan rita, 2005). Senyawa PEG bersifat larut dalam air dan menyebabkan penurunan potensial air. Besarnya penurunan air sangat bergantung pada konsentrasi dan berat molekul PEG. Keadaan seperti ini dimanfaatkan untuk simulasi penurunan potensial air. Potensial air dalam media yang mengandung PEG dapat digunakan untuk meniru besarnya potensial air tanah (Michel and Kaufirman, 1973).

Senyawa PEG merupakan polimer dengan kisaran molekul yang luas. Selain itu PEG dapat memodifikasi potensial osmotik suatu larutan nutrisi kultur dan menyebabkan kekeringan air pada tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa PEG dengan berat molekul yang besar tidak dapat masuk kedalam jaringan tanaman dan merupakan larutan osmotik yang ideal (Blum dan Sullivan, 1997).

Menurut Lawyer (1970) penggunaan PEG 6000 lebih disarankan karena dengan berat molekul lebih dari 4000 tidak dapat diserap oleh sel tanaman dan tanpa menyebabkan keracunan. PEG 6000 lebih unggul

dibandingkan manitol, sarbitol, atau garam karena tidak bersifat toksik terhadap tanaman, tidak dapat diserap oleh sel akar.

Kultur *in vitro* dapat mengakumulasi metabolit sekunder hanya dalam kondisi spesifik. Untuk memaksimalkan produksi dan akumulasi metabolit sekunder melalui kultur *in vitro* dapat dilakukan dengan cara memanipulasi media, seleksi klon sel, penambahan prekusor, optimasi faktor lingkungan dan teknik elisitasi (Muryanti, 2005). Penambahan PEG merupakan salah satu cara manipulasi media tumbuh.

Setiap tanaman memiliki mekanisme yang berbeda dalam adaptasinya terhadap stres osmotik yaitu dalam osmoregulasi. Hal ini terjadi pada kalus yang ditumbuhkan pada kondisi stres osmotik (dengan PEG) (Ehsanpour and Razavizadeh, 2005). Pemberian PEG akan menyebabkan kekurangan air sehingga akan menginduksi protein, mengkode gen-gen pembentuk enzim yang terlibat dalam biosintesis metabolisme sekunder. Dengan meningkatnya kandungan enzim dalam jaringan tanaman maka diharapkan kandungan metabolit sekunder dapat meningkat pula. Aktivitas enzim dipengaruhi antara lain oleh adanya prekusor, senyawa yang bersangkutan dan akumulasi produk metabolisme sekunder tersebit (Ernawati, 1992).

Tumbuhan yang mulai mendapatkan cekaman dari luar akan mengalami tanda bahaya yang ditandai dengan terganggunya fungsi fisiologis dari proses fisiologis yang biasanya. Selanjutnya akan berlangsung tahap resistensi yaitu berlangsungnya proses adaptasi tanaman pada faktor cekaman

lingkungan kemudian jika faktor cekaman meningkat dan terus berlangsung maka tanaman akan mengalami kematian (Salisbury dan Ross, 1995).

Menurut Rahayu (2005) dalam Yulinda (2010) mengatakan bahwa PEG adalah senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen. Karena turunnya potensial osmotik larutan, air yang ada pada medium tidak dapat diserap oleh tanaman, sehingga tanaman mengalami stress osmosis yang dicirikan dengan dihasilkannya prolin, yaitu senyawa osmolit untuk mempertahankan keseimbangan tekanan turgor sel. Menurut Rahayu (2005) dalam Zulhilmi (2012) dilaporkan kehadiran PEG pada medium dapat menurunkan potensial osmotik larutan sehingga ketersediaan air bagi tanaman akan berkurang. Berkurangnya ketersediaan air bagi tanaman ini mengganggu berbagai proses metabolisme.

Pemberian PEG akan mempengaruhi penyerapan air sehingga kalus mengalami stres. Kekurangan air menurunkan tekanan turgor pada dinding sel. Kehilangan tekanan turgor pada sel yang dikulturkan di medium perlakuan diindikasikan pula sebagai *signal* bagi membran plasma untuk mengaktifkan protein tertentu yang mendorong sintesis ABA (Asam absisat). Keberadaan ABA pada akhirnya akan merangsang terbentuknya protein yang berperan sebagai mekanisme toleransi terhadap cekaman kekeringan (Hartanti, 2013). Protein osmoprotektan dapat berinteraksi dengan reseptor sistem membran plasma (Konstantinova, 2002 dalam Hardiawan, 2013) menyebabkan peningkatan Ca^{2+} interseluler yang bertindak sebagai *second*

messenger untuk menginduksi transkripsi dan translasi enzim-enzim yang terlibat dalam jalur metabolit sekunder (Dmitrev, 1996 dan Silalahi, 1999).

Enzim yang dapat memacu pembentukan senyawa terpenoid antara lain adalah enzim asetil CoA asetiltransferase, HMG-CoA reeduktase, enzim mevalonat kinase dan enzim fosfomevalonat kinase (gambar 3). Enzim lain yang berperan dalam memacu pembentukan senyawa terpenoid khususnya steviosida adalah CPP synthase, kaurene sintase, ent kaurene oxidase, ent-Kaurenoic Acid 13-Hydroxylase (gambar 2.3).

Berdasarkan penelitian Hartanti (2013) pada tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* var. *Prancak 95*), yaitu dengan konsentrasi 0 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L, 25 mg/L, dan 30 mg/L. Berdasarkan hasil penelitiannya dapat disimpulkan bahwa konsentrasi PEG yang ditoleransi eksplan untuk membentuk kalus adalah 25 mg/L dengan kalus yang terbentuk berwarna coklat dan tekstur remah.

Berdasarkan penelitian Zulhilmi (2010), pemberian PEG dari konsentrasi 2% sampai 5% ke dalam medium dapat meningkatkan konsentrasi metabolit sekunder secara umum dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan PEG). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian PEG dari konsentrasi 2% sampai 5% sudah menyebabkan kalus mengalami stress sehingga memacu pembentukan metabolit sekunder. Kehadiran PEG pada medium dapat menurunkan potensial osmotik larutan sehingga ketersediaan air bagi tanaman akan berkurang. Berkurangnya ketersediaan air bagi tanaman ini mengganggu berbagai proses metabolisme (Zulhilmi, 2010).

Berdasarkan penelitian Zulhilmi (2012) pada Kalus Gatang (*Spilanthes acmella* Murr.) menunjukkan bahwa Perlakuan PEG 2% dan 5% meningkatkan sintesis alkaloid sedangkan kandungan terpenoid meningkat pada perlakuan 3 % dan 4 % PEG dibandingkan dengan kontrol. Adapun senyawa fenolik hanya muncul pada perlakuan PEG 4%. Sedangkan Yulinda (2010) melaporkan bahwa kandungan metabolit sekunder triterpenoid pada kultur invitro tanaman *Centella asiatica* meningkat dengan penambahan 1 dan 2 % PEG. Sedangkan menurut penelitian Fakhri (2010) pada tanaman *Theobroma cacao* menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder katekin terbanyak dihasilkan pada penambahan PEG 1%.

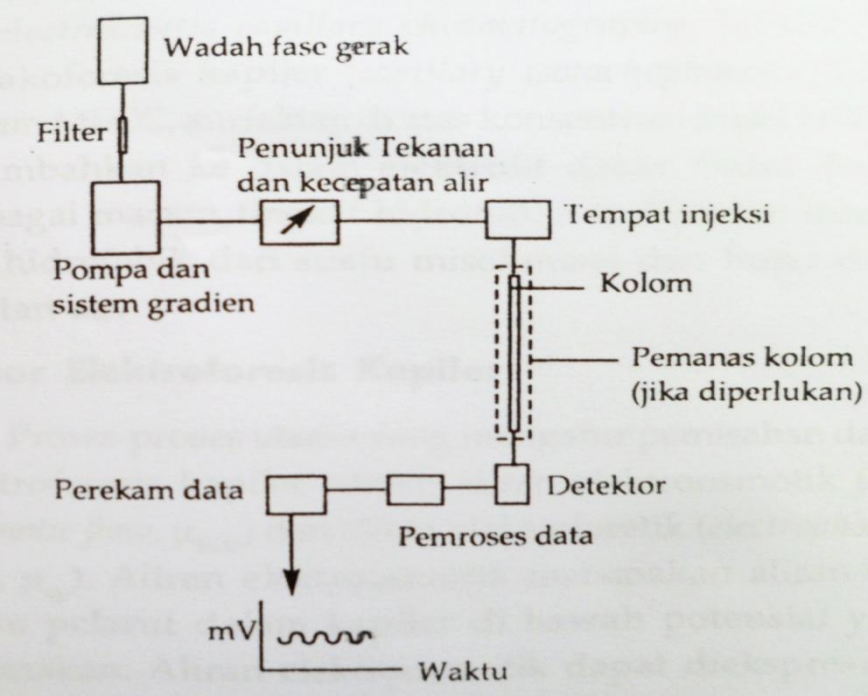
Menurut penelitian Nur (2010) pemberian PEG 6000 dengan konsentrasi 0 g/L varietas wilis berbeda nyata dengan konsentrasi 60 g/L varietas grobogan. Nilai isoflavon paling tinggi yaitu pada konsentrasi 60 g/L varietas grobogan dan tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 40 g/L varietas Grobogan. Nilai rata-rata yang paling rendah yaitu pada perlakuan PEG 0 g/L varietas Wilis dan tidak berbeda nyata dengan konsentrasi PEG 0 g/L Grobogan, 0 g/L Tanggamus dan 20 g/L Tanggamus.

2.8. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau HPLC

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau sering juga dikenal dengan HPLC merupakan teknik kromatografi kolom yang paling sering digunakan. Popularitasnya disebabkan oleh kekuatan pemisahannya yang tinggi, selektifnya yang sangat baik, dan banyaknya solut yang dapat

dipisahkan dengan metode ini. Serupa dengan KLT, pemisahan dengan KCKT dapat dilakukan baik pada fase normal atau fase terbalik menggunakan fase diam silika atau fase terikat. Meskipun demikian, berbeda dengan KLT yang banyak menggunakan fase normal, kebanyakan KCKT menggunakan fase terbalik untuk analisis solut. KCKT fase terbalik mengguanakan pelarut yang kurang toksik(air dan pelarut-pelarut yang dapat campur dengan air) sehingga mengurangi polusi lingkungan (Rohman dkk, 2007).

Menurut Rohman (2007), ada beberapa jenis KCKT, yaitu: kromatografi adsorbsi, kromatografi partisi, kromatografi penukaran ion, dan kromatografi eksklusi ukuran (kromatografi permeasi gel). Sistem peralatan KCKT pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu: wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukkan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung, dan suatu komputer atau integrator atau perekam. Berikut merupakan skeme sistem peralatan KCKT:



Gambar (2.5): Skema blok sistem KCKT secara umum (Rohman, 2007)

Menurut Gritter dkk (1991), alat KCKT niaga terdiri atas sistem pencampuran pelarut yang sangat canggih yang mampu menghasilkan campuran landaian yang mengandung sampai empat linarut yang berbeda, pompa yang mampu menghasilkan tekanan sampai 6000 psi atau 10000 psi,kolom yang mengandung fase diam, dan sistem pendeteksi sinambung yang bermacam-macam jenisnya. Kromatografi dilakukan dalam kondisi yang mendekati kondisi ideal demikian rupa sehingga dapat diperoleh pemisahan yang sangat baik, seringkali hasil dapat diperoleh dalam waktu beberapa menit dan ditafsirkan secara kuantitatif dengan ketepatan yang lumayan.

Kekurangan utama pada teknologi KCKT ialah detektor. Tidak ada detektor yang kepekaannya tinggi, on-line, dan murah yang sebanding dengan detektor ionisasi nyala yang digunakan dalam KG (Kromatografi Gas). Ada sejumlah sistem detektor yang dapat dipakai, seperti berbagai detektor spektroskopi, detektor fluoresensi, detektor indeks bias, dan detektor elektrokimia. Akan tetapi detektor tersebut mempunyai pembatas yang berat (Gritter, 1991).

2.9. Pemanfaatan Tanaman Dalam Perspektif Islam

Al-Quran bukan hanya petunjuk bagi orang-orang yang bertaqwa, tetapi juga petunjuk bagi orang-orang yang berakal yang mau menggunakan akal pikirannya untuk mempelajari segala sesuatu yang telah Allah SWT ciptakan termasuk tumbuh-tumbuhan yang beraneka ragam. Tumbuhan merupakan salah satu ciptaan Allah SWT yang memiliki manfaat yang sangat besar sekali bagi mahluknya. Salah satu manfaat dari tumbuhan bagi makhluk hidup adalah tumbuhan yang berpotensi sebagai obat serta makanan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya merupakan anugrah yang diciptakan oleh Allah SWT yang harus dipelajari, dijaga, dirawat, dan dimanfaatkan oleh kholifah di bumi yaitu manusia. Seperti yang telah dijelaskan dalam surat Asy-Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمۡ يَرَوۡاْ إِلَى ٱلۡأَرۡضِ كَمۡ أَنۢبَتۡنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوۡجٖ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya:

"Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?" (QS. Asy-Syu'ara ayat 7).

Menurut Shihab (2002), kata (إلى) pada firmannya di atas, merupakan kata yang mengandung makna batas akhir. Ia berfungsi memperluas arah pandang hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhannya dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya. Sedangkan (زوج) diartikan pasangan, dalam hal ini yang dimaksud adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul dicela-cela tanah yang terhampar dibumi, dengan demikian dapat diartikan bahwa tumbuhan juga memiliki pasangan untuk dapat memperbanyak diri (berkembangbiak). Tumbuhan memiliki benang sari sebagai alat kelamin jantan dan putik sebagai alat kelamin betina. Dengan adanya keduanya tumbuhan dapat memperbanyak dan menghasilkan individu baru. Kata (كريم) antar lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat.

Menurut Al-Qurtubi (2009), mengartikan kata (زوج) adalah adalah warna, sedangkan kata (كريم) artinya menumbuhkan. Kata ini digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap obyek yang disifatinya. Tumbuhan yang paling baik, paling tidak adalah subur dan bermanfaat bagi mereka kaum yang kehilangan sarana berfikir, berani

menentang Rasul, dan mendustakan Kitabnya, sedangkan Tuhan-Nyalah yang telah menciptakan bumi dan menumbuhkan di dalamnya tanaman dan buah-buahan berbagai macam bentuknya (Ali *dkk*, 1989).

Kata (زوج) dalam tumbuhan dapat diartikan sebagai pasangan atau jaringan, dari jaringan tersebut akan muncul suatu tumbuhan baru yang berasal dari peleburan antara benang sari dan putik dimana keduanya merupakan sel kelamin jantan dan sel kelamin betina. Proses peleburan untuk menghasilkan individu baru tersebut dinamakan sebagai perkembangbiakan generatif. Selain perkembangbiakan secara generatif, ada pula perkembangbiakan secara vegetatif. Kultur jaringan merupakan salah satu perkembangbiakan secara vegetatif dengan cara menanam bagian vegetatifnya dalam media kultur yang akan membentuk kalus selanjutnya menjadi embrio dan tumbuh menjadi tumbuhan baru.

Berdasarkan dari tafsiran diatas salah satu dari berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik yang subur dan bermanfaat adalah tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*). Sebagaimana tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) yang didalamnya banyak memberikan manfaat jika dikonsumsi oleh manusia sebagai makanan khususnya pengganti gula sintetis, obat-obatan, pasta gigi, bahan kosmetika, antioksidan, antihipertensi, zat pengatur tumbuh, dan berbagai produk lain.

Menurut Elkins (1997), uji klinis dengan hasil konsumen menunjukkan bahwa stevia benar-benar dapat membantu untuk menormalkan gula darah. Untuk alasan ini, herbal dan ekstrak dianjurkan di beberapa

negara sebagai obat bagi orang yang menderita diabetes atau hipoglikemia. Penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa stevia dapat meningkatkan toleransi glukosa sekaligus mengurangi kadar gula darah. Penduduk pribumi Paraguay telah menggunakan teh stevia secara tradisional untuk mengatur gula darah. Umumnya rebusan stevia digunakan untuk penderita diabetes dan biasanya dibuat dengan merebus atau seduhan daun dalam air.

Dijelaskan pula dalam Tafsir Al-Misbah surat Al-An'aam ayat 141, bahwasannya Allah memerintahkan kepada manusia (langsung atau tidak langsung) untuk membangun bumi dalam kedudukannya sebagai kholifah, salah satunya dengan menjaga kelestarian tumbuh-tumbuhan, sekaligus menjadi alasan mengapa manusia harus menyembah allah SWT semata. Allah menciptakan segala sesuatunya di bumi ini sesungguhnya untuk kemekmuran dan kebutuhan ummat manusia. Allah memperbolehkan dan mempersilahkan untuk mengambil manfaat dari apa, yang tumbuh di muka bumi ini, akan tetapi allah menegaskan agar tidak menggunakan secara berlebihan dan mengambil manfaat secara seperlunya karena Allah tidak menyukai segala sesuatu yang berlebih-lebihan. Dibawah ini bunyi dari firman Allah surat Al-An'aam ayat 141:

وَهُوَ ٱلَّذِىٓ أَنشَأَ جَنَّٰتٍ مَّعۡرُوشَٰتٍ وَغَيۡرَ مَعۡرُوشَٰتٍ وَٱلنَّخۡلَ وَٱلزَّرۡعَ مُخۡتَلِفًا أُكُلُهُۥ وَٱلزَّيۡتُونَ وَٱلرُّمَّانَ مُتَشَٰبِهًا وَغَيۡرَ مُتَشَٰبِهٍۚ كُلُواْ مِن ثَمَرِهِۦٓ إِذَآ أَثۡمَرَ وَءَاتُواْ حَقَّهُۥ يَوۡمَ حَصَادِهِۦۖ وَلَا تُسۡرِفُوٓاْۚ إِنَّهُۥ لَا يُحِبُّ ٱلۡمُسۡرِفِينَ ١٤١

Artinya:

"Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila Dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan" (QS. Al-An'aam ayat 141).

Maha suci Allah yang telah memberikan wahyu dan menciptakan apa yang telah memberikan berbagai nikmat kepada makhluknya. Serta menaruh obat di dalam apa yang Ia tanam dengan kadar ukuran dan takaran. Dari penjelasan ayat-ayat diatas, mengisyaratkan kepada manusia agar mencari dan mempelajari berbagai tumbuhan yang menjadi rezeki dan memberikan manfaat bagi seluruh makhluk. Adanya senyawa kimia dalam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan ataupun sebagai obat itu hanyalah satu dari banyak tanda-tanda kekuasaan Allah yang diciptakan-Nya di alam semesta ini.