

**PENGARUH AUKSIN IAA, IBA, DAN NAA TERHADAP INDUKSI PERAKARAN TANAMAN  
STEVIA (*Stevia rebaudiana*) SECARA *IN VITRO*  
*Effect of Auxin IBA and NAA on In Vitro Rooting of Stevia (Stevia rebaudiana)***

**Tias Arlianti, Sitti Fatimah Syahid, NN Kristina, dan Oti Rostiana**

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat  
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111  
Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010  
[balittro@litbang.deptan.go.id](mailto:balittro@litbang.deptan.go.id)  
[misstias@yahoo.com](mailto:misstias@yahoo.com)

(diterima 15 Oktober 2013, direvisi 09 Desember 2013, disetujui 23 Desember 2013)

**ABSTRAK**

Induksi perakaran merupakan tahapan yang sangat penting dalam pembentukan benih secara *in vitro*. Perbanyakan stevia (*Stevia rebaudiana*) secara konvensional melalui setek atau biji terkendala pada tingkat keberhasilan, keseragaman, dan produksi rendah. Perbanyakan inkonvensional melalui kultur jaringan telah berhasil dilakukan sampai dengan tahap multiplikasi tunas. Keberhasilan tersebut perlu didukung dengan inisiasi akar melalui induksi dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur respon stevia terhadap zat pengatur tumbuh induksi perakaran *in vitro*. Penelitian dilakukan sejak Maret sampai Agustus 2012 di laboratorium kultur jaringan Balittro dan Kebun Percobaan Manoko. Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas aseptik stevia dari kultur yang berumur tiga bulan pada media penyimpanan MS + B 0,1 mg l<sup>-1</sup>. Tunas stevia dikulturkan pada media MS dengan penambahan IAA (0,1; 0,2; dan 0,3) mg l<sup>-1</sup>, IBA (0,1; 0,2; dan 0,3) mg l<sup>-1</sup>, dan NAA (0,1; 0,2; dan 0,3) mg l<sup>-1</sup>. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Acak lengkap dengan sepuluh ulangan. Parameter yang diamati adalah jumlah dan tinggi tunas, jumlah dan panjang akar, dan tingkat keberhasilan aklimatisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan NAA 0,2 dan 0,3 mg l<sup>-1</sup> memacu pertumbuhan jumlah akar terbaik. Pada tahap aklimatisasi, persentase keberhasilan masih rendah dan perlu didukung dengan kondisi lingkungan yang optimum.

**Kata kunci:** *Stevia rebaudiana*, induksi perakaran, *in vitro*, auksin

**ABSTRACT**

*Root induction is very important stage on in vitro propagation through tissue culture. Conventional propagation of stevia (Stevia rebaudiana) through tissue cutting or seed constrained in success rate, uniformity and low production. Propagation through tissue culture has been successfully carried out into shoot multiplication stage. This success needs to be supported with root induction. The study was aimed to determinate suitable root induction medium in vitro. The research was conducted on March to August 2012 at Indonesian Spices and Medicinal Crops Research Institute (ISMCRI) tissue culture laboratory and Manoko Research Station. Planting material used were third months in vitro shoot of stevia, which were cultured on MS + B 0.1 mg l<sup>-1</sup> medium. Stevia shoots were then cultured on MS medium enriched with IAA (0.1; 0.2; and 0.3) mg l<sup>-1</sup>, IBA (0.1; 0.2; and 0.3) mg l<sup>-1</sup>, and NAA (0.1; 0.2; and 0.3) mg l<sup>-1</sup>. The experiment was arranged in completely randomized design with ten replications. The parameters observation were number and shoot height, number and root length and the successfulfrate of acclimatization. The result showed that concentration of 0.2 and 0.3 mg l<sup>-1</sup> of NAA induced the best root performance. Acclimatization rate was still low, and need to be supported by optimum environment condition.*

**Keywords:** *Stevia rebaudiana*, *root induction*, *in vitro*, *auxin*

## PENDAHULUAN

Pembentukan akar merupakan tahapan penting dalam perbanyakan bibit secara *in vitro*. Inisiasi perakaran tanaman dalam model ini dapat dipacu dengan menambahkan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) pada media tanam. ZPT yang umum digunakan untuk pendorong perakaran adalah golongan auksin, yaitu Indole-3-Acetic Acid (IAA), Naphtalene Acetic Acid (NAA), dan Indole-3-Butyric Acid (IBA). Pemilihan jenis auksin untuk memacu pertumbuhan akar didasarkan pada: sifat translokasi, persistensi (tidak mudah terurai), dan laju aktivitas.

IBA merupakan jenis auksin yang paling sering digunakan dalam menginduksi akar dibandingkan jenis auksin lainnya, karena kemampuan yang tinggi dalam menginisiasi perakaran (Wattimena, 1992). Selain IBA, NAA juga kerap kali digunakan karena mempunyai sifat translokasi yang lambat dan persistensi yang tinggi.

Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana*) memiliki berbagai keunggulan namun mengalami keterbatasan dalam perbanyakan bibit. Jenis ini mengandung senyawa steviosida dengan tingkat kemanisan 300-400 kali dibandingkan gula tebu sukrosa (Geuns, 2003; Megeji *et al.*, 2005; Mousumi, 2008). Gula stevia bersifat nonkar-sinogenik dan rendah kalori, sehingga cocok untuk penderita diabetes dan obesitas. Stevia juga dapat dimanfaatkan sebagai pencegah timbulnya plak gigi dan menurunkan akumulasinya sebesar 57,82% (De Slavutzky dan Blauth, 2010).

Saat ini stevia telah banyak digunakan dalam campuran makanan dan minuman di negara Amerika Selatan, Jepang, Cina dan Korea Selatan serta negara-negara lain di Asia. Di Indonesia sendiri penggunaan stevia masih terbatas pada industri jamu dalam negeri dan memenuhi permintaan pasar luar negeri dimana satu produsen dapat memasok 50-70 t daun stevia kering per bulan dengan harga jual sekitar Rp 23.000,- sampai Rp 24.000,- per kg (<http://www.ciputraenterpreneurship>).

Perbanyakan stevia secara konvensional umumnya dilakukan dengan biji atau setek. Perbanyakan menggunakan biji kurang efektif karena rendahnya perkecambahan dan keseragaman (Goettemoeller dan Ching, 1999). Perbanyakan stevia melalui setek menghasilkan benih yang seragam tetapi jumlahnya terbatas. Perbanyakan menggunakan teknik kultur jaringan merupakan metode yang dapat digunakan untuk menghasilkan benih seragam secara massal dan cepat. Multiplikasi tanaman stevia telah dilakukan dalam berbagai penelitian, diantaranya perbanyakan stevia menggunakan sumber eksplan pucuk dengan media Lismainer dan Skoog (Gunawan, 1992), sementara Pratiwi (1995) telah memperoleh 10 tunas baru dalam waktu 50 hari pada perbanyakan stevia dengan menggunakan teknik kultur jaringan. Kristina dan Syahid (2010) telah melakukan perbanyakan dan penyimpanan Stevia dengan menggunakan media Murashige dan Skoog (MS) dan penambahan Benzyl Amino Purine (BAP) 0,1 mg l<sup>-1</sup> yang menghasilkan sekitar 20 tunas per botol. Keberhasilan tersebut tentunya perlu didukung dengan optimalisasi perakaran untuk meningkatkan keberhasilan aklimatisasi.

Gunawan (1992) telah melakukan inisiasi perakaran stevia dengan cara menginduksi stevia yang telah dikulturkan selama 30 hari pada media Linsmainer dan Skoog yang ditambahkan dengan 0,1 mg l<sup>-1</sup> NAA. Namun belum dilakukan studi lebih lanjut dengan menggunakan jenis auksin lain pada berbagai konsentrasi untuk mendapatkan inisiasi perakaran yang optimum sebagai protokol perbanyakan bibit secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan untuk mengukur respon stevia terhadap zat pengatur tumbuh induksi perakaran (IAA, IBA dan NAA) dan tahap aklimatisasi. Diharapkan melalui penelitian ini akan diperoleh informasi jenis auksin dan konsentrasi yang optimal untuk mendukung perbanyakan bibit stevia secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor sejak Maret sampai Agustus 2012. Bahan untuk sterilisasi yang digunakan adalah fungisida 70%, bakteriasida 20%, alkohol 70%, cloroks 20%. Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian meliputi *laminar air flow cabinet*, botol kultur, cawan petri, pinset, *scalpel*, autoklaf dan botol sprayer.

### Induksi perakaran

Eksplan awal yang digunakan adalah tunas tanaman stevia yang berasal dari koleksi plasma nutfah di Kebun Percobaan Manoko, Lembang. Potongan tunas stevia disterilisasi menggunakan sterilant sabun selama 30 menit, fungisida 70%, 60 menit, bakteriasida 20%, 60 menit, alkohol 70% selama tiga menit, cloroks 20% selama lima menit dan dibilas dengan aquadest steril tiga kali. Tunas stevia kemudian dikulturkan dalam media terbaik MS dengan penambahan BAP  $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ . Kultur kemudian diinkubasi pada suhu  $22^{\circ}\text{C}$  pencahayaan 100 luks. Tunas hasil multiplikasi kemudian digunakan sebagai sumber eksplan untuk perlakuan perakaran.

Tunas hasil multiplikasi dipotong satu ruas sepanjang 1-1,5 cm kemudian dikulturkan dalam media MS dengan penambahan IAA (0,1, 0,2, dan 0,3)  $\text{mg l}^{-1}$ , NAA (0,1, 0,2, dan 0,3)  $\text{mg l}^{-1}$  dan IBA (0,1, 0,2, dan 0,3)  $\text{mg l}^{-1}$  selama 12 minggu. Pada setiap botol ditanam dua buah eksplan.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan acak lengkap, dengan 10 ulangan. Pengamatan dilakukan setiap empat minggu dengan parameter jumlah akar, panjang akar, tinggi tunas dan jumlah tunas sampai dengan minggu ke 12 setelah kultur (MST). Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik ANOVA, dan uji lanjut Duncan jika berbeda nyata.

### Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan pada saat tanaman berumur 12 minggu setelah kultur. Aklimatisasi

dilakukan di KP. Manoko, Lembang yang memiliki syarat tumbuh sesuai untuk stevia, yaitu ketinggian 700-1.500 m dpl dengan suhu lingkungan  $20-24^{\circ}\text{C}$ , curah hujan setahun rata-rata 1.400 mm. Media aklimatisasi yang digunakan adalah tanah dan pupuk kandang steril dengan perbandingan 1:1. Rancangan perlakuan yang digunakan adalah Rancangan acak lengkap, dimana tiap perlakuan induksi perakaran terdiri atas 10 tanaman.

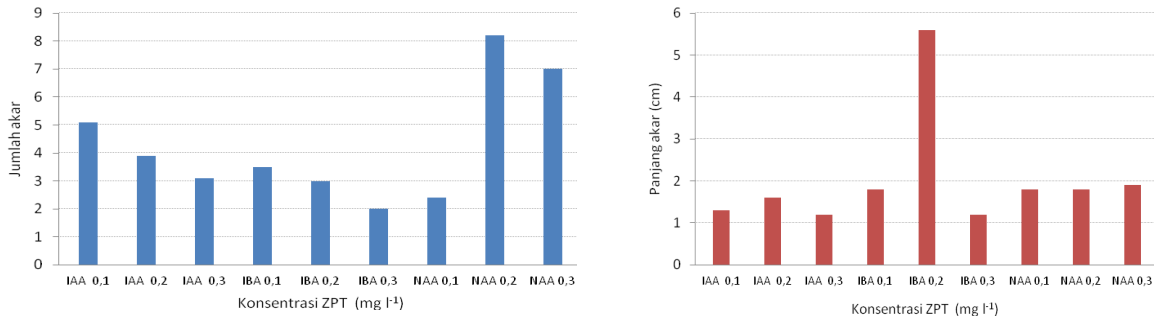
Planlet yang telah dikeluarkan dari botol kultur dibersihkan lalu dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya ditanam pada gelas plastik berisi media aklimatisasi dan diberi sungkup plastik untuk mempertahankan kelembapan. Sungkup plastik perlahan-lahan dibuka setelah tiga minggu, dimulai dengan menggunting kedua ujung plastik kemudian membuka keseluruhan plastik. Dua bulan setelah sungkup dibuka, tanaman dipindah ke lapang. Parameter yang diamati adalah persentase tumbuh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Induksi perakaran

Aplikasi NAA nyata mempengaruhi jumlah akar, sementara aplikasi IBA nyata mempengaruhi panjang akar. Jumlah akar terbanyak tampak pada perlakuan NAA  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$  dan NAA  $0,3 \text{ mg l}^{-1}$  (Gambar 1). Hasil penelitian sejalan dengan Anis *et al.* (2003), dimana penambahan NAA pada tanaman Mulberry (*Morus alba*) lebih menginduksi perakaran dibandingkan dengan IBA, konsentrasi NAA  $1,0 \text{ mg l}^{-1}$  mampu membentuk lima akar per tunas dengan tingkat keberhasilan aklimatisasi 90%. Menurut Wattimena (1992), NAA dan IBA mempunyai sifat translokasi yang lambat, persistensi tinggi dan aktivitas yang rendah sehingga lebih mendorong pembentukan akar.

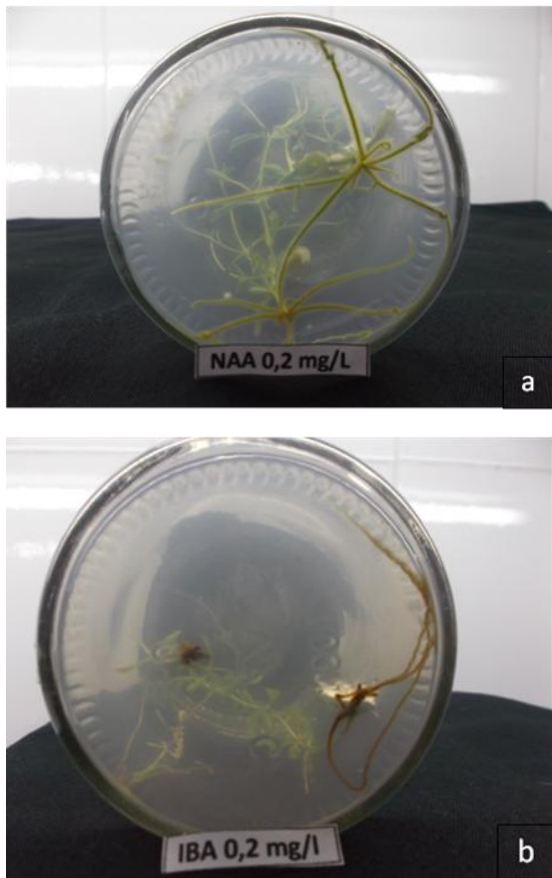
Penggunaan konsentrasi yang optimal menjadi faktor yang dapat menentukan berakar atau tidaknya eksplan yang ditanam. Induksi akar yang tinggi pada perlakuan MS + NAA  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ ; MS + NAA  $0,3 \text{ mg l}^{-1}$  ternyata tidak diikuti oleh pertumbuhan panjang akar yang tinggi. Kisaran



Gambar 1. Jumlah akar (kiri) dan panjang akar (kanan), tanaman Stevia dalam media MS dengan penambahan IAA, NAA Dan IBA delapan minggu setelah subkultur.

Figure 1. Root number (left) and length (right) of stevia in MS media with addition of IAA, IBA and NAA eight weeks after subculture.

pertumbuhan pada perlakuan tersebut berada di bawah pertumbuhan panjang akar pada perlakuan IBA 0,2 mg l<sup>-1</sup> (Gambar 2).



Gambar 2. Penampilan akar stevia pada media MS dengan penambahan NAA 0,2 mg l<sup>-1</sup> (a) dan IBA 0,2 mg l<sup>-1</sup> (b).

Figure 2. Stevia root in MS media with addition of NAA 0,2 mg l<sup>-1</sup> (a) and IBA 0,2 mg l<sup>-1</sup> (b).

Hasil penelitian Bohidar *et al.* (2008) dengan menggunakan perlakuan IAA, IBA dan NAA pada konsentrasi 0,25-1 mg l<sup>-1</sup> menunjukkan IBA memberi respon tercepat dalam menginduksi panjang akar *Ruta graveolens*, walaupun jumlah akar yang terbentuk tidak optimal yakni 3,9 dengan panjang akar optimal 4,5 cm. Salisbury dan Ros (1995) menjelaskan bahwa pemberian auksin mampu memacu pertumbuhan panjang akar pada konsentrasi yang rendah, sedangkan pada konsentrasi tinggi panjang akar hampir selalu terhambat. Hambatan ini terjadi diduga karena adanya etilen, sebab semua jenis auksin memacu berbagai jenis sel untuk menghasilkan etilen, terutama jika sejumlah auksin eksogen ditambahkan.

#### Jumlah tunas

Jumlah tunas pada tiap perlakuan dalam percobaan ini menunjukkan nilai yang rendah. Pada NAA 0,2 mg l<sup>-1</sup> dan NAA 0,3 mg l<sup>-1</sup> menginduksi jumlah akar cukup besar namun tidak menginduksi jumlah tunas yang tinggi, meskipun memperlihatkan pertumbuhan tunas yang nyata (Tabel 1). Menurut Gunawan (1992), pemberian ZPT auksin tanpa dikombinasikan dengan sitokinin cenderung hanya mendorong pertumbuhan akar saja. Kombinasi auksin dan sitokinin dengan perbandingan komposisi 2 : 3 atau sebaliknya, dapat mendorong pertumbuhan tunas dan akar.

Tabel 1. Rata-rata jumlah dan tinggi tunas stevia dalam media MS dengan penambahan IAA, NAA dan IBA delapan minggu setelah subkultur.

Table 1. Average number shoot height and shoot number of stevia in MS media with addition of IAA, IBA and NAA eight weeks after subculture

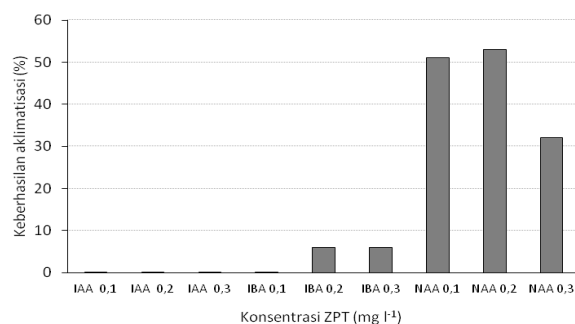
Jenis dan konsentrasi ZPT (mg l <sup>-1</sup> )	Jumlah tunas	Tinggi tunas (cm)
IAA 0,1	1,3 a	4,5 ab
0,2	2,4 ab	3,5 a
0,3	3,1 ab	2,6 a
IBA 0,1	3,0 ab	4,8 ab
0,2	3,3 ab	4,0 ab
0,3	3,6 b	4,3 a
NAA 0,1	1,5 a	6,4 b
0,2	1,5 a	6,4 b
0,3	1,3 a	4,9 ab
CV (%)	43,3	32,7

\*) Angka pada kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%.

\*) Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at 5% by Duncan's multiple range test (DMRT)

### Aklimatisasi

Presentase aklimatisasi terbaik tampak pada perlakuan NAA 0,1 mg l<sup>-1</sup> dan NAA 0,2 mg l<sup>-1</sup> (Gambar 3).



Gambar 3. Persentase keberhasilan aklimatisasi planlet stevia di KP Manoko, Lembang.

Figure 3. Growth percentage of stevia planlet in Lembang green house.

Perlakuan tersebut merupakan perlakuan dengan jumlah dan panjang akar terbaik. Akar tanaman merupakan salah satu faktor penunjang keberhasilan aklimatisasi tanaman, seperti yang dinyatakan oleh Wardiyanti (1998), sebelum aklimatisasi perlu diperhatikan ada tidaknya akar. Aklimatisasi dilakukan jika sudah terbentuk akar

atau paling sedikit sudah ada primordia akar yang akan tumbuh normal di media tanam. Planlet yang berhasil hidup memiliki pertumbuhan cukup baik, pada usia tiga bulan tinggi tanaman mencapai 10 cm dengan jumlah tunas 10.

Salah satu faktor lain mungkin berpengaruh terhadap rendahnya aklimatisasi stevia pada penelitian ini adalah karakteristik akar. Akar dengan karakteristik tebal merupakan karakteristik akar yang membantu keberhasilan aklimatisasi. Sementara akar dengan karakteristik tipis berserat bersifat kurang kokoh, sehingga apabila diaklimatisasi, planlet sangat rentan terhadap perubahan lingkungan.

Hasil penelitian Rostiana dan Seswita (2007) pada tanaman *Piretrum (Chrysanthemum cinerariifolium)* menunjukkan persamaan, dimana penambahan NAA memperlihatkan karakteristik akar gemuk pada dosis di atas 0,4 mg l<sup>-1</sup>, dan cenderung membentuk serat pada dosis 0,2 mg l<sup>-1</sup>. Hal ini sejalan dengan hasil perlakuan NAA 0,2 mg l<sup>-1</sup> yang memiliki karakteristik akar lebih gemuk dari perlakuan IBA 0,2 mg l<sup>-1</sup> meskipun menghasilkan jumlah akar yang hampir sama, namun memiliki tingkat keberhasilan aklimatisasi yang lebih besar dari perlakuan lain.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Zat pengatur tumbuh NAA efektif menginduksi stevia secara *in vitro* pada konsentrasi 0,2 mg l<sup>-1</sup>, dengan jumlah akar tujuh sampai delapan per tanaman.

Keberhasilan menginduksi perakaran pada kultur *in vitro* stevia, belum diikuti dengan keberhasilan dalam aklimatisasinya. Perlu diuji peningkatan keberhasilan aklimatisasi dengan memodifikasi lingkungan (suhu dan kelembaban) serta memperbaiki karakteristik akar dengan mengaplikasikan ZPT lain atau kombinasi dua ZPT pada media kultur *in vitro*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada saudari Dewi, Siti Aisyah dan saudara Dedi

Surachman yang telah membantu pelaksanaan penelitian di laboratorium, serta semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anis, M, M Faisal, dan SK Singh. 2003. Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through in vitro culture of shoot tip and nodal explants. *Plant Tissue Cult.* 13: 47-51.
- Bohidar, S, M Thirunavookkasu and TV Ro. 2008. Effect of Plant Growth Regulators on *in vitro* micropropagation of "Garden Rue" (*Ruta graveolens* L.). *International Journal of Integrative Biology, IJIB*(3): 36-43.
- De Slavutzky and SM Blauth. 2010. Stevia and sucrose effect on plaque formation. *Journal of Consumer Protection and Food Safety.* 5: 213-216.
- Geuns JMC. 2003. Molecules of interest-stevioside. *Phytochem*, 64: 913-921.
- Goettoeller J and A Ching. 1999. Seed germination in *Stevia rebaudiana*. *Perspective on new Crops and new uses.* ASHS Press, Alexandria, VA: pp. 510-511.
- Gunawan LW. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tanaman. Departemen Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. 165 hlm.
- <http://www.ciputraentrepreneurship.com/beranda/2796.html>.
- Kristina NN dan SFSyahid. 2012. Induksi perakaran dan aklimatisasi tanaman tabat barito setelah konservasi *in vitro* jangka panjang. *Bul. Littro.* 23(1): 11-20.
- Megeji NW, JK Kumar, V Singh, VK Kaul and PS Ahuja 2005. Introducing *Stevia rebaudiana*, a natural zero calorie sweetener. *Curr Sci* 88 (5): 801-805.
- Mousumi D. 2008. Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *Journal of Medicinal Plants Research.* 2(2): 045-051.
- Pratiwi T. 1995. Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Terhadap Variasi Somaklonal Tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni). Thesis. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor. 57 hlm.
- Rostiana O dan D Seswita. 2007. Pengaruh Indole Butyric Acid dan Naphtaleine Acetic Acid Terhadap Induksi Perakaran Tunas *Piretrum (Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis) Klon Prau 6 Secara *In Vitro*. *Bul. Littro*, 18(1): 39-48.
- Salisbury FB and CW Ros. 1995. *Perkembangan Tumbuhan dan Fisiologi* Jilid III. ITB. Bandung. ITB Press.
- Wardiyati T. 1998. *Kultur Jaringan Tanaman Hortikultura.* FP UB. Malang.
- Wattimena GA. 1992. *Bioteknologi Tanaman Laboratorium Kultur Jaringan.* Institut Pertanian Bogor. Bogor.