

KONSERVASI DAN REGENERASI STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) SECARA *IN VITRO*

Sitti Fatimah Syahid

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

Email : ifa_sy@yahoo.co.id

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) merupakan tanaman yang digunakan sebagai pemanis alami yang sangat bermanfaat untuk kesehatan. Perbanyak stevia secara konvensional dapat dilakukan menggunakan biji dan setek. Namun penggunaan biji kurang efektif karena rendahnya keberhasilan perkecambahan. Metode perbanyak stevia melalui kultur jaringan telah diperoleh baik untuk multiplikasi tunas maupun induksi perakaran. Untuk memelihara plasma nutfah stevia secara ek-situ dapat dilakukan melalui konservasi di laboratorium dalam keadaan tumbuh. Upaya konservasi stevia telah dilakukan dengan menumbuhkan tunas dalam media Murashige dan Skoog (MS) dengan penambahan Benzil Amino Purin (BAP) konsentrasi 0,1 mg/l dan tanpa penambahan BAP. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa penyimpanan tunas stevia dalam keadaan tumbuh baik tanpa diberi BAP ataupun dengan aplikasi BAP dengan konsentrasi rendah mampu mengurangi intensitas sub kultur selama delapan bulan. Teknik ini membantu pemeliharaan karena dapat mengurangi biaya sub kultur. Regenerasi biakan setelah disimpan tidak menurun dan dapat kembali tumbuh dengan normal.

Kata kunci : *Stevia rebaudiana* Bertoni, konservasi *in vitro*.

PENDAHULUAN

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), sinonim *Eupatorium rebaudianum* Bertoni merupakan tanaman pemanis alami dari famili Asteraceae. Stevia termasuk tanaman perdu yang berasal dari Sierra Amambay di wilayah timur laut Paraguay. Saat ini, stevia telah dibudidayakan di Amerika Utara, China, Korea dan Jepang. Selain itu, tanaman ini juga diperbanyak untuk skala penelitian di Thailand, Israel, Kanada, Amerika Serikat, Meksiko, dan Eropa. Pada awal tahun 1970, stevia sudah ditanam di Indonesia menggunakan biji yang diimpor dari Jepang (de Guzman and Siemonsma 1999).

Stevia sudah digunakan semenjak ratusan tahun yang lalu di negara asalnya, yaitu di Paraguay sebagai pemanis makanan. Bahkan, stevia telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit perut, luka bakar, dan terkadang dipakai sebagai alat kontrasepsi (Pratiwi 2017). Daun stevia mengandung delapan senyawa kimia dari golongan terpen glukosida yaitu : steviosida, steviolbiosida, rebaudiosida (A, B, C, D dan E) dan dulcosida A (Geuns 2003). Kandungan senyawa steviosida dalam daun kering stevia terdapat dalam kisaran jumlah 4-20% dan jumlah ini tergantung juga kepada kultivar tanaman dan teknik budidaya yang digunakan (Geuns 2000).

Stevia bersifat non-karsinogenik. Zat pemanis dalam stevia, yaitu steviosida dan rebaudiosida tidak dapat difermentasi oleh bakteri dalam mulut menjadi asam. Oleh karena itu, stevia tidak menyebabkan gangguan pada gigi. Stevia dapat dimanfaatkan sebagai pencegah timbulnya plak gigi dan menurunkan akumulasinya sebesar 5,82%. Gula stevia rendah kalori sehingga cocok dikonsumsi oleh penderita diabetes dan obesitas (De slavutzky and Blauth 2010). Ekstrak kering daun stevia mengandung flavonoid, asam amino, lipid, minyak atsiri, klorofil yang larut dalam air, xanthopil, asam hidroksinamat dan gula bebas (Komissarenko et al., 1994; Esmat and Ferial 2009).

Perbanyak stevia dapat dilakukan dengan biji dan setek. Namun, perbanyak dengan biji kurang efektif karena rendahnya keberhasilan melalui perkecambahan. Perbanyak menggunakan setek menghasilkan benih yang seragam, namun, jumlahnya terbatas. Perbanyak stevia secara massal dapat dilakukan melalui metode kultur jaringan dan telah diperoleh tingkat multiplikasi tunas maupun induksi perakarannya (Arlianti et al., 2013). Untuk mempertahankan koleksi plasma nutfah tanaman stevia, perlu dilakukan upaya konservasi spesies yang diantaranya dapat dilakukan secara ek-situ baik di rumah kaca, kebun percobaan maupun laboratorium (Sudarmonowati 2005).

KONSERVASI *IN VITRO* *S. rebaudiana* Bertoni

Konservasi *in vitro* merupakan upaya pemeliharaan koleksi plasma nutfah dalam keadaan aseptik. Berbagai keuntungan dari konservasi plasma nutfah adalah : 1) biakan dapat disimpan dalam ruang terbatas (botol kultur) dan tidak memerlukan areal yang luas, 2) biakan dapat diperbanyak sewaktu-waktu diperlukan, 3) biakan bebas hama dan penyakit karena lingkungan tumbuh kultur terkendali, dan 4) biakan dapat dipergunakan dalam pertukaran plasma nutfah antar negara (George and Sherrington 1984). Konservasi *in vitro* dapat dilakukan melalui tiga cara yaitu 1) penyimpanan dalam keadaan tumbuh /penyimpanan jangka pendek, 2) penyimpanan dengan pertumbuhan minimal /penyimpanan jangka menengah, dan 3) penyimpanan jangka panjang melalui proses pembekuan atau kriopreservasi (Lestari 2007). Setelah konservasi *in vitro*, biasanya dilakukan uji regenerasi atau pertumbuhan biakan di media awal. Bila selama konservasi pertumbuhan biakan tidak terganggu maka kecepatan tumbuh di media regenerasi tidak akan menurun dan biakan akan tumbuh dan berkembang dengan optimal.

Konservasi *in vitro S. rebaudiana* Bertoni di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) dilakukan dalam keadaan tumbuh (penyimpanan jangka pendek). Penyimpanan dalam keadaan tumbuh merupakan teknik penyimpanan kultur jaringan untuk perbanyak biasa yang memerlukan pemindahan/sub kultur secara rutin agar biakan tetap hidup. Untuk menghindari perubahan genetik tanaman, biasanya biakan dipelihara dalam media dengan penambahan zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi rendah.

Untuk konservasi *in vitro S. rebaudiana* Bertoni telah dilakukan menggunakan media tumbuh Murashige and Skoog (MS) tanpa zat pengatur tumbuh dan yang ditambahkan zat pengatur tumbuh Benzyl Amino Purine (BAP) konsentrasi rendah 0,1 mg/l (Gambar 1). Hasil pengamatan selama delapan bulan penyimpanan di kedua

media yang digunakan, menunjukkan jumlah tunas, panjang tunas maupun jumlah akar di media MS yang diperkaya BAP 0,1 mg/l lebih banyak dibandingkan pada media MS tanpa BAP (Tabel 1).

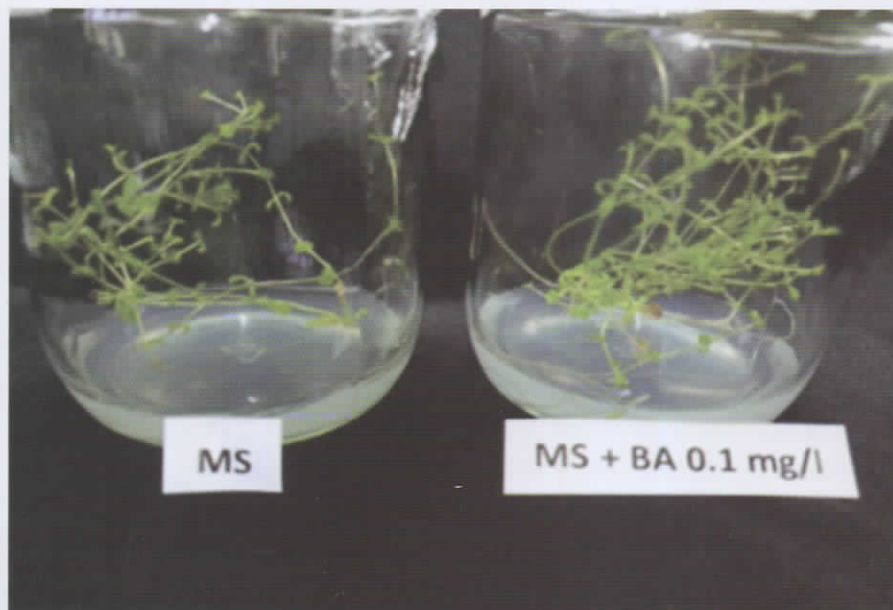
penyimpanan dalam keadaan tumbuh hanya dapat dilakukan untuk jangka waktu 3 samapai 4 bulan. Melewati masa simpan empat bulan, pertumbuhan biakan mulai menurun dan daun mulai berwarna cokelat (Syahid et al. 2015).

REGENERASI KULTUR SETELAH KONSERASI

Uji regenerasi biakan setelah dilakukan konservasi sangat diperlukan untuk mengetahui kemampuan kultur apakah mengalami perubahan selama penyimpanan. Konservasi pada keadaan tumbuh dengan Pengujian pertumbuhan/regenerasi biakan *S. rebaudiana* Berton penggunaan zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi rendah biasanya tidak menimbulkan perubahan dalam regenerasi. Untuk regenerasi biakan stevia setelah masa simpan delapan bulan ke media yang baru (MS + BAP 0.1 mg/l), tidak mengurangi respon pertumbuhan. Kultur dapat tumbuh dengan sempurna dengan pertumbuhan normal (Gambar 2).

Satu minggu setelah biakan di kulturkan kembali ke dalam media MS + BAP 0,1 mg/l tunas-tunas baru mulai keluar, daun tanaman menjadi hijau dan biakan dapat tumbuh dengan normal. Kedua media tumbuh tersebut baik MS tanpa BAP maupun MS dengan penambahan BAP 0,1 mg/l dapat digunakan untuk tujuan konservasi dalam keadaan tumbuh.

Satu minggu setelah biakan di kulturkan kembali ke dalam media MS + BAP 0,1 mg/l tunas-tunas baru mulai keluar, daun tanaman menjadi hijau dan biakan dapat tumbuh dengan normal. Kedua media tumbuh tersebut baik MS tanpa BAP maupun MS dengan penambahan BAP 0,1 mg/l dapat digunakan untuk tujuan konservasi dalam keadaan tumbuh.

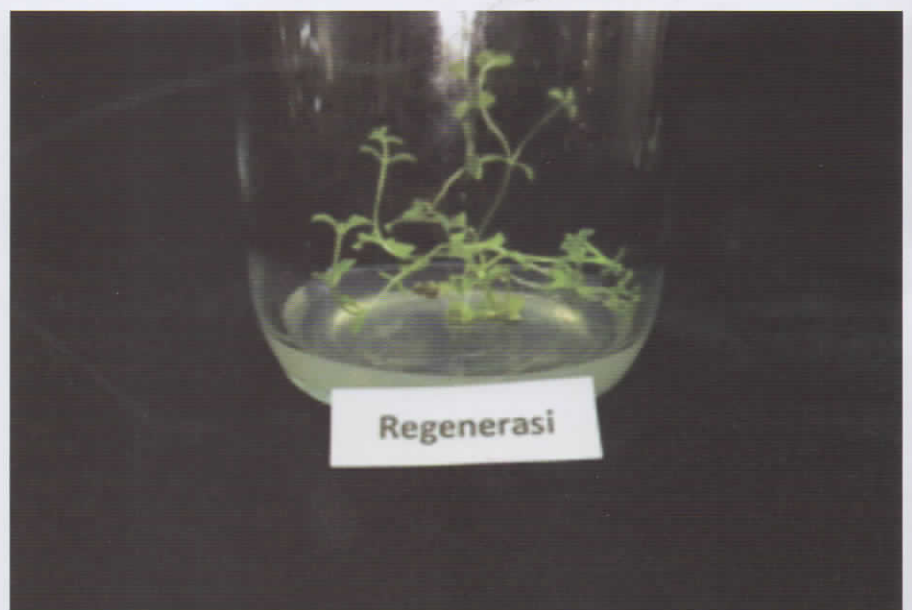


Gambar 1. Konservasi *S. rebaudiana* Bertoni dalam keadaan tumbuh di media MS (kiri) dan pada media MS+BAP0.1 mg/l (kanan), selama delapan bulan.

Table 1. Jumlah panjang tunas, dan jumlah akar *S. rebaudiana* Bertoni pada penyimpanan di media MS dan MS + BAP 0,1 mg/l, selama delapan bulan.

Media konservasi	Jumlah tunas	Panjang tunas (cm)	Jumlah akar (cm)	Visual kultur
MS + BAP 0 mg/l	2.1 a	4.1 b	0.7 b	Daun agak kecil, kultur steril
MS + BAP 0.1 mg/l	2.5 a	5.1 a	1.9 a	Daun agak kecil, kultur steril

Penyimpanan biakan dalam keadaan tumbuh biasanya memerlukan upaya pemindahan/sub kultur ke media yang sama secara rutin. Umumnya sub kultur dilakukan setiap 3-4 bulan sekali bila penyimpanan dilakukan dalam keadaan tumbuh. Namun, pada biakan *S. rebaudiana* Bertoni, teknik penyimpanan di dalam media MS tanpa penambahan BAP ataupun dengan pemberian BAP ke dalam media sebanyak 0,1 mg/l dapat memperpanjang masa simpan kultur selama delapan bulan tanpa adanya tindakan pemindahan ke dalam media yang sama. Kultur stevia mempunyai respon yang baik terhadap perlakuan penyimpanan dalam keadaan tumbuh. Respon pertumbuhan tanaman terhadap penyimpanan secara in vitro berbeda. Untuk kelompok famili Zingiberaceae diantaranya jahe (*Zingiber officinale* Rosc.), temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), dan kunyit (*Curcuma domestica* Roxb.)



Gambar 2. Regenerasi tanaman setelah konservasi selama 8 bulan

KESIMPULAN

Konservasi in vitro dalam keadaan tumbuh dapat dilakukan pada kultur *S. rebaudiana* Bertoni. Penyimpanan biakan dengan teknik tersebut mampu memperpanjang masa simpan kultur selama delapan bulan tanpa diperlukannya kegiatan pemindahan biakan/sub kultur ke dalam media yang baru. Teknik ini lebih menghemat biaya pemeliharaan koleksi plasma nutfah di laboratoorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Arlianti T, SF Syahid, NN Kristina dan O Rostiana (2013). Pengaruh auksin IAA, IBA dan NAA terhadap induksi perakaran tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana*) secara in vitro. Buletin Tanaman Rempah dan Obat. 24(2): 57-62.
- de Guzman CC and JS Siemonsma (1999). Plant Resources of South East-Asia. Prosea No. 13: Spices. Bogor, p. 207-211.
- De Slavutzky and SM Blauth (2010). Stevia and sucrose effect on plaque formation. Journal of Consumer Protection and Food Safety. 5:213-216.
- Esmat AA and MAS Ferial (2009). Physico-chemical assessment of natural sweeteners stviosides produced from Stevia rebaudiana Bertoni. J. Agric.Mansoura Univ. 34 912): 11037-11057.
- George EF and PD Sherington (1984). Plant propagation by tissue culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegetics, England.709p
- Geuns JMC (2000). Safety of Stevia and stevioside. Recent Res. Devel. Phytochem. 4: 75-88.
- Geuns JMC (2003). Stevioside. Phytochemistry. 64:913-921.
- Komissarenko NF., AL Derkach, IP Kovalyov and Bublik NP (1994). Diterpene glycosides and phenylpropanoids of Stevia rebaudiana Bertoni. Rast. Res. 1(2):53-64.
- Lestari E (2007). Kultur Jaringan : Menjawab persoalan pemenuhan kebutuhan akan peningkatan kualitas bibit unggul dan perbanyakannya secara besar-besaran. Penerbit Akademia, Jakarta. 60 Hlm.
- Pratiwi. R (2017). Tanaman stevia sebagai pengganti gula lebih sehat. <https://helohehat.com> (diakses 30 Agustus 2017).
- Sudarmonowati E (2005). Konservasi Plasma Nutfah. Buku pedoman pengelolaan Plasma Nutfah Perkebunan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 329 Hlm.
- Syahid SF, NN Kristina dan T Arlianti (2015). Konservasi in vitro tanaman rempah dan obat. Laporan Hasil Penelitian (Tidak dipublikasi).