

**PENGARUH PENAMBAHAN NAA DAN BAP DALAM MEDIA NEW
PHALAENOPSIS TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA DALAM
KALUS DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertonii M.)
YANG DITANAM DI SURAKARTA**



Oleh:

**Dwi Setyaningrum
16102885 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

**PENGARUH PENAMBAHAN NAA DAN BAP DALAM MEDIA NEW
PHALAENOPSIS TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA DALAM
KALUS DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertonii M.)
YANG DITANAM DI SURAKARTA**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.F)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia budi*

oleh:

**Dwi Setyaningrum
16102885 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**PENGARUH PENAMBAHAN NAA DAN BAP DALAM MEDIA NEW
PHALAENOPSIS TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA DALAM
KALUS DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertonii M.)
YANG DITANAM DI SURAKARTA**

Oleh:

Dwi Setyaningrum

16102885 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : Juni 2014



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dra. Kartinah W., S.U.

Penguji:

1. Titik Sunarni, M.Si., Apt.
2. Ratno Agung S., S.Si., M.Sc.
3. Kartinah W., Dra., SU.
4. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

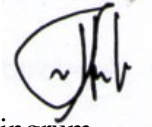
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan dapat disebutkan dalam daftar pustaka

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2014

Tanda tangan



Dwi Setyaningrum

16102885 A

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sebab bagi Allah tidak ada yang mustahil.

(Lukas 1:37)

Ini Pun Akan Berlalu.

(Ajahn Chah)

Kupersembahkan untuk :

- Tuhan Yang Maha Esa puji dan syukur hanya kepada
- Mu.
- Alm. Ayah dan ibunda tercinta, terimakasih atas
do'anya
- Saudara-saudaraku yang selalu mendo'akan dan
memberi semangat kepada ku
- Aga,ma, almamater, bangsa dan negaraku

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan, berkat rahmat dan karunia – Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi yang berjudul "**PENGARUH PENAMBAHAN NAA DAN BAP DALAM MEDIA NEW PHALAENOPSIS TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA DALAM KALUS DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertonii M.) YANG DITANAM DI SURAKARTA.**"

Ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh derajat sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari banyak pihak maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Winarso Suryolegowo, SH., MPd. Selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU, MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Fransiska Leviana, MSi., Apt., selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu nya untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kartinah W,SU, selaku pembimbing pendamping yang telah dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dra. Kartinah W., SU., dan Drs. Supriyadi, M.Si., yang telah mengijinkan penulis ikut serta dalam penelitian Hibah bersaing tahun 2013, yang didanai oleh DP2M yang berjudul "INDUKSI KALUS DAUN STEVIA DENGAN PERLAKUAN

BEBERAPA ZAT PENGATUR TUMBUH SERTA PENGARUHNYA
TERHADAP KADAR STEVIOSIDA”.

6. Bapak / Ibu dosen selaku penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan Penulisan skripsi ini.
7. Alm. Ayah dan Ibunda tercinta (bakti ananda kepadamu) serta seluruh anggota keluarga dirumah yang selalu memberikan dukungan serta do'anya yang tercurahkan kepada penulis sehingga dapat memberikan semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
8. Semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, banyak kekurangan yang terdapat dalam skripsi ini. Segala bentuk saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Akhir kata penulis berharap semoga apa yang telah penulis kemukakan dapat berguna bagi penulis khususnya, dan bagi pembaca pada umumnya.

Surakarta, Juni 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
INTISARI	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tanaman Stevia	7
1. Sistematika tanaman	7
2. Habitat dan morfologi tanaman stevia	7
3. Kandungan kimia	8
4. Khasiat dan penggunaan	9
B. Kultur Jaringan Tanaman	10
1. Media	11
1.1. Unsur hara makro.....	11
1.2. Unsur hara mikro	12
1.3. Karbon dan sumber energi	12
1.4. Mio – inositol.....	12
1.5. Vitamin	13
1.6. Asam – asam amino	13
1.7. Zat pepadat.....	13
1.8. Zat pengatur tumbuh	14
1.9. Zat tambahan organik kompleks	15
2. Sterilisasi.....	15

2.1. Sterilisasi enkas.....	15
2.2. Sterilisasi alat dan media	15
2.3. Sterilisasi eksplan.....	16
3. Eksplan.....	16
4. Subkultur	17
5. Masalah dalam kultur jaringan tanaman	17
5.1. Kontaminasi	17
5.2. Pencoklatan (“ <i>browning</i> ”)	18
C. Steviosida	19
1. Sifat	19
2. Biosintesis	20
3. Analisis steviosida secara Kromatografi Lapis Tipis.....	21
a. Analisis kualitatif.....	21
b. Analisis kuantitatif.....	22
D. Landasan Teori.....	22
E. Hipotesis.....	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	25
A. Populasi dan Sampel	25
B. Variabel Penelitian	25
1. Identifikasi variabel utama.....	25
2. Klasifikasi variabel utama.....	25
3. Definisi operasional variabel utama.....	26
C. Bahan dan Alat.....	27
1. Bahan	27
2. Alat-alat.....	27
2.1. Kultur eksplan, sterilisasi alat dan media	27
2.2. Pelumatan daun dan kalus dan penyarian	27
2.3. Analisa kualitatif dan kuantitatif	28
D. Jalannya Penelitian	28
1. Determinasi tanaman	28
2. Pengambilan bahan	28
3. Pembuatan medium	28
4. Sterilisasi alat dan ruang	29
4.1. Sterilisasi alat dan media	29
4.2. Sterilisasi enkas.....	29
5. Sterilisasi eksplan dan penanaman eksplan	30
5.1. Sterilisasi eksplan.....	30
5.2. Penanaman eksplan	30
6. Perlakuan	31
7. Evaluasi pembentukan kalus.....	31
7.1. Prosentase keberhasilan pembentukkan kalus	31
7.2. Saat eksplan membentuk kalus	31
7.2. Berat kalus	31
8. Ekstraksi daun dan kalus <i>Stevia rebaudiana</i> Bertonii M	31

	9. Analisis kualitatif dan kuantitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis	32
	9.1. Pembuatan larutan baku	32
	9.2. Pembuatan larutan uji	32
	9.3. Analisa kualitatif	32
	9.4. Analisa kuantitatif	32
	E. Alur penelitian	33
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	34
	A. Hasil Determinasi dan Deskripsi Tanaman.....	34
	1. Determinasi tanaman.....	34
	2. Deskripsi tanaman.....	34
	3. Pengambilan bahan tanaman stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertonii M.)	34
	B. Kultur Jaringan Tanaman Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertonii M.)	35
	1. Pembuatan media New Phaleonopsis	35
	2. Sterilisasi ruang, alat dan media	36
	3. Hasil sterilisasi dan penanaman eksplan	37
	3.1. Hasil sterilisasi eksplan daun stevia.....	37
	3.2. Hasil penanaman eksplan.....	38
	C. Evaluasi Kalus.....	39
	1. Prosentase keberhasilan	39
	2. Subkultur.....	40
	3. Berat kalus.....	41
	D. Hasil Pengujian	42
	1. Uji kualitatif	42
	2. Uji kuantitatif	43
	2.1.Pembuatan kurva baku steviosida standar	43
	2.2.Penetapan kadar steviosida dalam daun dan kalus daun stevia.....	44
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	47
	A. Kesimpulan	47
	B. Saran	48
	DAFTAR PUSTAKA	49
	LAMPIRAN.....	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Struktur kimia steviosida	19
2. Biosintesis steviosida jalur mevalonat	20
3. Skema alur penelitian	34
4. Grafik kurva baku standar steviosida.....	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Desinfektan yang biasa digunakan untuk sterilisasi eksplan	16
2. Perlakuan konsentrasi kombinasi zat pengatur tumbuh	31
3. Hasil pembuatan media New Phaeonopsis (NP) dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP	35
4. Bahan dan waktu sterilisasi eksplan daun stevia.....	37
5. Prosentase keberhasilan eksplan membentuk kalus.....	39
6. Kalus yang tumbuh setelah subkultur	40
7. Rata – rata berat kalus daun stevia.....	41
8. Kromatografi Lapis Tipis steviosida standar, ekstrak daun, dan kalus daun stevia	42
9. Luas area bercak standar pada 4 lempeng KLT	43
10. Kurva baku standar pada 4 lempeng KLT	43
11. Hasil penetapan kadar steviosida dalam daun dan kalus daun stevia	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan determinasi	53
2. Sertifikat steviosida standar	54
3. Komposisi media New Phaleonopsis (NP)	56
4. Skema pembuatan media New Phaleonopsis 1 liter	57
5. Foto alat yang digunakan untuk penelitian	58
6. Foto tanaman stevia <i>Stevia rebaudiana</i> Bertonii M.....	59
7. Foto kalus daun stevia.....	60
8. Ekstrak daun dan kalus daun stevia	65
9. Foto lempeng KLT daun stevia.....	66
10. Foto lempeng KLT kalus daun stevia	67
11. Kromatogram seri konsentrasi standar dan daun stevia replikasi 1	68
12. Kromatogram seri konsentrasi standar dan daun stevia replikasi 2	73
13. Kromatogram seri konsentrasi standar dan kalus daun stevia replikasi 1	78
14. Kromatogram seri konsentrasi standar dan kalus daun stevia replikasi 2.....	86
15. Perhitungan kadar steviosida dalam daun dan kalus daun stevia.....	92

DAFTAR SINGKATAN

BAP	Benzil Amino Purin
g	gram
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
mg	mili gram
MS	Murashige & Skoog
NAA	Naftalen Asam Asetat
NP	New Phalaenopsis
<i>ppm</i>	part per million
TLC	Thin Layer Chromatography
ZPT	zat pengatur tumbuh

INTISARI

SETYANINGRUM D, 2014, PENGARUH PENAMBAHAN NAA DAN BAP DALAM MEDIA NEW PHALAENOPSIS TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA DALAM KALUS DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertonii M.) YANG DITANAM DI SURAKARTA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Stevia rebaudiana Bertonii M. merupakan salah satu tanaman obat di Indonesia. Stevia bermanfaat untuk menurunkan kadar gula darah, antimikroba, penurunan tekanan darah, oraltonek, dan antikanker. Steviosida merupakan salah satu kandungan kimia terbesar pada tanaman stevia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dalam menginduksi kalus daun stevia, merangsang pembentukan steviosida dalam kalus daun stevia, mengetahui konsentrasi penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP yang mampu meningkatkan kadar steviosida dalam kalus daun stevia, dan untuk mengetahui kadar steviosida yang terkandung dalam kalus daun stevia.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode kultur jaringan tanaman menggunakan medium New Phaleonopsis dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dengan variasi konsentrasi NAA 1 ppm : BAP 0 ppm, NAA 0,25 ppm : BAP 0,75 ppm, NAA 0,5 ppm : BAP 0,5 ppm, NAA 0,75 ppm : BAP 0,25 ppm, NAA 1 ppm : BAP 0 ppm. Evaluasi kalus dilakukan terhadap prosentase keberhasilan eksplan membentuk kalus, waktu induksi, dan rata-rata berat kalus. Analisa kualitatif dan kuantitatif kandungan steviosida dilakukan dengan KLT secara densitometri dengan fase gerak kloroform : metanol : air (10:15:2), fase diam silika gel F₂₅₄.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP mampu menginduksi pertumbuhan kalus daun stevia dengan prosentase keberhasilan terbesar pada penambahan NAA 0,5 ppm dan BAP 0,5 ppm yaitu sebesar 78,95%. Rata – rata berat kalus terbesar yaitu 1,2190 pada penambahan NAA 0,5 ppm dan BAP 0,5 ppm. Penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP tidak mampu meningkatkan pembentukan steviosida. Kadar steviosida terbesar pada penambahan NAA 0 ppm dan BAP 1 ppm sebesar 0,043%.

Kata kunci : Kalus daun stevia, New Phaleonopsis (NP), zat pengatur tumbuh NAA dan BAP, steviosida

ABSTRACT

SETYANINGRUM D, 2014 , EFFECT OF ADDITION OF NAA AND BAP IN NEW PHALAEOPSIS MEDIUM ON THE CONTENT STEVIOSIDA IN CALLUS STEVIA LEAF (*Stevia rebaudiana* Bertonii M.) WHICH PLANTED IN SURAKARTA, THESIS, FACULTY OF FARMASI, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Stevia rebaudiana Bertonii M. is one of the medicinal plant in Indonesia. Stevia plant beneficial in decreasing blood sugar level and blood pressure, antimicrobial, oraltonic and anticancer. The aim of this study was to know the ability of plant – growth regulator NAA and BAP in inducing stevia leaves callus, stimulating steviosida formation, to know concentration of plant – growth regulator NAA and BAP that can increase the concentration of stevioside and to know the concentration of stevioside in stevia leaf callus.

This study used plant tissue culture method with New Phaleonopsis (NP) medium added with growth regulators NAA and BAP dosage 0 ppm : 1 ppm; 0,25 ppm: 0,75 ppm; 0,5 ppm: 0,5 ppm; 0,75 ppm: 0,25 ppm; 1 ppm: 0 ppm. Callus evaluation was conducted on the percentage of successful callus explants formed, time induction, and average callus weight. Analysis qualitative and quantitative content of stevioside was determined by densitometry TLC with mobile phase chloroform : methanol : water (10:15:2), and stationary phase silica F₂₅₄.

The results of the study showed that variations in the concentration of growth regulators NAA and BAP were able to induce callus growth of stevia leaf with the largest percentage of success on the addition of NAA and BAP 0.5 ppm 0.5 ppm is equal to 78.95%. Average weight is 1.2190 greatest callus on NAA addition of 0.5 ppm and 0.5 ppm BAP. The addition of plant growth regulators NAA and BAP are not able to increase the formation of steviosida. Steviosida greatest levels of NAA in the addition of 0 ppm and 1 ppm BAP at 0.043%.

Keyword : Stevia leaf callus, New Phaleonopsis (NP), plant growth regulators NAA and BAP, stevioside

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sejak zaman nenek moyang tanaman tradisional sudah digunakan sebagai obat. Sekitar 80 – 85% dari populasi di dunia mengembangkan tanaman tradisional untuk digunakan sebagai terapi dengan menggunakan ekstrak tanaman atau zat aktif yang terkandung dalam tanaman (Bekele 2008).

Senyawa-senyawa kimia yang terkandung di dalam tumbuhan merupakan sumber utama untuk industri farmasi. Sebagian besar senyawa-senyawa kimia tersebut berasal dari spesies-spesies tumbuhan tropis, tetapi karena kualitas ketersediaan dan biaya yang mahal, menyebabkan sintesis kimiawi tidak ekonomis maka dikembangkan teknik kultur jaringan tanaman untuk biosintesis metabolit sekunder (Anonim 1989).

Stevia rebaudiana Bertoni atau *Eupatorium rebaudianum* L. merupakan salah satu jenis tanaman obat di Indonesia, yang termasuk dalam familia Compositae / Asteraceae (Depkes 2000). *Stevia rebaudiana* Bertoni merupakan pemanis alami non kalori yang bisa digunakan untuk menggantikan pemanis buatan bagi penderita diabetes. Telah dibuktikan dalam penelitian bahwa daun *Stevia rebaudiana* Bertoni dapat berfungsi sebagai antihiperqlikemik, insulinotropik, glukagonostatik, dan antihipertensi (Jeppesen *et al* 2002).

Daun *Stevia rebaudiana* Bertoni mengandung glikosida diterpen yaitu steviosida sebanyak 5-10%, rebaudiosida A sebanyak 2-4%, dan memiliki kandungan senyawa lain yang kadarnya belum diketahui yaitu steviolbiosida,

rebaudiosida B, rebaudiosida C, rebaudiosida D, rebaudiosida E, rebaudiosida F, dulcosida A, kumarin, asam sinamat, dan fenilpropanoid (Pande 2013). Steviosida komponen pemanis utama pada daun *Stevia rebaudiana* Bertoni memiliki rasa manis 300 kali dibandingkan dengan sukrosa (4 % b/v) (Geuns 2003).

Budidaya tanaman ini secara konvensional dengan memperbanyak biji, tetapi pertumbuhannya sedikit serta memerlukan waktu yang lama untuk memperolehnya. Selain itu budidaya tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni secara generatif memiliki kerugian yaitu kandungan senyawa di dalamnya tidak dapat dikontrol karena nutrisi yang didapat dari tanah juga tidak dapat dikontrol. *Stevia rebaudiana* Bertoni dapat dibudidayakan dengan cara kultur jaringan tanaman untuk memproduksi kalus dalam jumlah banyak dengan waktu yang singkat (Gupta *et al* 2010). Budidaya dengan menggunakan metode kultur jaringan tanaman dapat mengontrol kondisi pertumbuhan dengan pengaturan zat pengatur tumbuh, nutrisi media, pH sehingga optimasi untuk menghasilkan metabolit sekunder dalam tanaman lebih cepat dan lebih banyak dibandingkan dengan tanaman asal yang ditanam secara konvensional. Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa kultur jaringan tanaman dapat berhasil meningkatkan kandungan metabolit sekunder di dalam kalus. Arif berhasil meningkatkan kandungan solasodin dalam tanaman *Solanum khasianum* Clarke dengan menambahkan *Sacharomyces cerevisiae* H. pada medium kultur yang digunakan. Metabolit sekunder dari tanaman *Taxus*, yaitu taxol telah dibuktikan oleh beberapa peneliti dapat ditingkatkan kadarnya dengan menggunakan metode kultur jaringan tanaman. Selain itu masih banyak lagi metabolit sekunder yang telah berhasil ditingkatkan kandungannya dengan metode kultur jaringan tanaman, yaitu

codein, morfin, ginsenosida, L-DOPA, beberin, diosgenin, capsaicin, camptothecin, vinblastin, vinkristin, tanshinon, dan podophyllotoksin (Tsay *et al* 2003).

Keberhasilan pertumbuhan eksplan sangat ditentukan pada pemilihan medium pertumbuhan. Pada penelitian yang dilakukan Wiryosoendjoyo (2009), menunjukkan pertumbuhan kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni pada medium New Phalaenopsis (NP) lebih cepat daripada medium Murashige Skoog (MS), sehingga pada penelitian ini digunakan medium NP. Kandungan unsur – unsur hara makro dan mikro pada medium NP tidak jauh berbeda dengan medium MS, tetapi kadarnya lebih kecil. Kandungan garam – garam yang tinggi pada medium MS dapat menyebabkan kondisi hipertonis terhadap eksplan.

Zat pengatur tumbuh juga memiliki peran penting dalam kultur jaringan tanaman karena zat pengatur tumbuh merupakan hormon sintetis yang memiliki aktivitas fisiologis menyerupai hormon tanaman. Zat pengatur tumbuh dalam penggunaannya ditambahkan ke dalam medium kultur. Auksin dan sitokinin memiliki peran terpenting dalam pengaturan pertumbuhan dan perkembangan pada kultur jaringan dan kultur organ (George *et al* 2008).

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan tanaman dan biasanya sudah menjadi bagian penting dalam medium kultur. Auksin berperan dalam pembelahan sel dan perpanjangan sel. Golongan auksin yang sudah pernah dilakukan penelitian terhadap steviosida adalah NAA (asam naftalen asetat), 2,4-D (2,4-diklorofenoksi asetat), dan IBA (asam indol butirat). Sitokinin sering ditambahkan bersama dengan auksin. Sitokinin berperan dalam stimulasi pembelahan sel dan mengontrol morfogenesis. Golongan sitokinin yang sudah pernah dilakukan

penelitian terhadap stevia adalah kinetin dan BAP (benzil amino purin) (George *et al* 2008; Ariesta 2010; Nofriani 2010; Rahmawati 2010; Masdiana 2010).

Beberapa peneliti sudah pernah melakukan penelitian mengenai kalus daun stevia. Das (2006) telah melakukan percobaan dengan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA – BAP dan 2,4-D – BAP dengan menggunakan medium MS. Ariesta (2010) juga pernah melakukan penelitian dengan menggunakan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dengan perbandingan konsentrasi 0,25/0,75; 0,5/0,5; dan 0,75/0,25 ppm pada medium NP. Eksplan yang digunakan oleh Ariesta (2010) berasal dari Tawangmangu, sedangkan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tanaman dari Tawangmangu yang telah beradaptasi di Surakarta. Bibit tanaman yang berasal dari Tawangmangu kemudian ditanam di Surakarta. Eksplan yang digunakan untuk penelitian adalah tunas baru yang tumbuh di Surakarta. Eksplan yang telah beradaptasi di Surakarta memiliki perbedaan morfologi, yaitu daun lebih lebar, pendek dan lebih tebal. Pada penelitian sebelumnya belum mendapatkan hasil peningkatan kadar steviosida, sehingga dilakukan penelitian kembali dengan kondisi eksplan yang berbeda. Pada penelitian ini diharapkan penggunaan eksplan dari tanaman asal yang berbeda tempat tumbuh akan memberikan hasil peningkatan kadar steviosida dengan penggunaan kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti merumuskan beberapa permasalahan, yaitu :

Pertama, apakah dengan pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP pada media NP mampu menginduksi kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni?

Kedua, apakah pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP mampu merangsang pembentukan steviosida dalam kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni?

Ketiga, berapa konsentrasi penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP yang mampu meningkatkan kadar steviosida dalam kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni dari tanaman asal yang ditanam di Surakarta?

Keempat, berapakah kadar steviosida tertinggi yang terkandung dalam kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni pada kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP pada media NP dalam induksi kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Kedua, untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP dalam merangsang pembentukan steviosida dalam kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Ketiga, untuk mengetahui konsentrasi penambahan zat pengatur tumbuh NAA dan BAP yang mampu meningkatkan kadar steviosida dalam kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni dari tanaman asal yang ditanam di Surakarta.

Keempat, untuk mengetahui kadar steviosida tertinggi yang terkandung dalam kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni pada kombinasi zat pengatur tumbuh NAA dan BAP.

D. Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai pengaruh penambahan NAA dan BAP sebagai zat pengatur tumbuh pada medium New Phalaenopsis (NP) dalam menginduksi kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni dan pembentukan steviosida pada kalus daun *Stevia rebaudiana* Bertoni. Penelitian ini juga sebagai informasi untuk peningkatan produksi steviosida dengan metode kultur jaringan tanaman.