

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH
2,4-D DAN KINETIN TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA
PADA KALUS DAUN STEVIA**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*



Diajukan Oleh :

**Rini Elviah
15113357A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH
2,4-D DAN KINETIN TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA
PADA KALUS DAUN STEVIA**



Oleh :

**Rini Elviah
15113357 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH
2,4-D DAN KINETIN TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA
PADA KALUS DAUN STEVIA**

Oleh :

Rini Elviah
15113357 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 23 Agustus 2014

Mengetahui,

Fakultas Farmasi

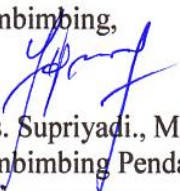
Universitas Setia Budi

Dekan,



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

Pembimbing,


Drs. Supriyadi., M.Si.
Pembimbing Pendamping,


Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo., SU.

Penguji :

1. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.
2. Ratno Agung S., S.Si., M.Sc.
3. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo., SU.
4. Drs. Supriyadi., M.Si.

1. 

2. 

3. 

4. 

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, 23 Agustus 2014

Tanda tangan

Rini Elviah
15113357 A

HALAMAN PERSEMBAHAN

Teriring rasa syukur kehadiran Allah SWT karya kecil ini kupersembahkan teruntuk :

1. Bapak dan ibu tercinta, terimakasih telah membuatku terlahir kedunia, do'akan aku jadi farmasis sukses ya....
2. Kakak_ku (mb lis & mas yudie), adek_ku (nur & amin), aku sayang kalian...
3. Keluarga besarku (Pakdhe, Budhe, Om, Bulik, sepupu-sepupu dan keponakanku) terimakasih atas dukungan dan semangatnya...I Love You All...
4. Teman-teman transfer angkatan 2011, aku sangat beruntung mengenal kalian. Thanks for all...
5. Bapak, Ibu dosenku, terimakasih atas bimbingan dan waktunya.
6. Almamaterku Universitas Setia Budi Surakarta.
7. Pemberi tulang rusuk untukku yang masih jadi rahasia Allah, semoga Allah segera memberi jawaban.

MOTTO

*Biar setetes asal jernih, Biar salah karya sendiri, Biar jelek
milik pribadi.*

Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan

QS. Al Insyiroh : 6

*Tidak ada yang sama seperti kegagalan, belajarlal terus !!!!
kegagalan bukanlah ketika kita jatuh, kegagalan terjadi hanya
ketika kita tidak bangkit kembali.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN KINETIN TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA PADA KALUS DAUN STEVIA”** dapat terselesaikan.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan bantuan dari berbagai pihak, maka dalam 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. Drs. Supriyadi, M.Si., selaku Pembimbing utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kartinah W. S, SU., selaku pembimbing pendamping yang telah dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt., selaku penguji utama yang telah meluangkan waktunya untuk menguji skripsi ini.
6. Ratno Agung S., S.Si., M.Sc., selaku penguji kedua yang telah meluangkan waktunya untuk menguji skripsi ini.

7. Dra. Kartinah W. S, SU., dan Drs. Supriyadi, M.Si., yang telah berkenan memberikan kesempatan penulis berperan serta dalam penelitian dengan judul “INDUKSI KALUS DAUN STEVIA DENGAN PERLAKUAN BEBERAPA ZAT PENGATUR TUMBUH SERTA PENGARUHNYA TERHADAP KADAR STEVIOSIDA”, terimakasih atas semua bantuannya.
8. Bapak / Ibu dosen yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.
9. Orang tua yang senantiasa memberi dukungan dan semangat, terimakasih atas do’a dan kucuran dananya.
10. Teman-teman transfer angkatan tahun 2011 terimakasih atas kerjasamanya.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu terselesaikannya skripsi ini.

Penulis telah berusaha semaksimal mungkin dalam menyelesaikan skripsi ini, namun kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini.

Akhir kata penulis mengharapkan semoga skripsi ini dapat mencapai sasaran serta bermanfaat bagi semua yang membacanya.

Surakarta, 23 Agustus 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Stevia	6
1. Sistematika tumbuhan	6
2. Nama latin	6
3. Morfologi tanaman	6
4. Kandungan kimia	7
5. Khasiat dan kegunaan	7
B. Kultur Jaringan Tanaman	8
1. Media	9

1.1. Garam-garam anorganik	10
1.2. Sumber karbon dan energi	10
1.3. Vitamin	10
1.4. Asam amino	10
1.5. Zat pengatur tumbuh	11
2. Sterilisasi	12
2.1. Sterilisasi ruangan	12
2.2. Sterilisasi alat dan media	12
2.3. Sterilisasi eksplan	13
3. Eksplan	13
4. Subkultur	13
5. Masalah dalam kultur jaringan tanaman	14
5.1. Kontaminasi	14
5.2. Pencoklatan (“ <i>browning</i> ”)	14
5.3. Pertumbuhan terhambat atau stagnasi	14
C. Steviosida	15
D. Kromatografi lapis tipis	16
E. Landasan teori	18
F. Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Populasi dan Sampel	22
B. Variabel Penelitian	22
1. Identifikasi variabel utama	22
2. Klasifikasi variabel utama	23
3. Definisi operasional variabel utama	23
C. Bahan dan Alat	24
1. Bahan	24
2. Alat	24
2.1. Kultur jaringan tanaman	24
2.2. Analisa kualitatif dan kuantitatif	24
D. Metode penelitian	24
1. Determinasi tanaman	24
2. Pengambilan bahan dan deskripsi tanaman	25
3. Pembuatan media NP	25
4. Sterilisasi alat, media, dan entkas	26
4.1. Sterilisasi alat dan media	26
4.2. Sterilisasi entkas	26
5. Sterilisasi eksplan dan penanaman eksplan	26
5.1. Sterilisasi eksplan	26
5.2. Penanaman eksplan	27
5.3. Subkultur kalus	27

6.	Evaluasi pembentukan kalus	28
6.1.	Prosentase keberhasilan pembentukkan kalus	28
6.2.	Saat eksplan membentuk kalus	28
7.	Ekstraksi steviosida	28
8.	Analisis kualitatif dan kuantitatif	28
8.1.	Analisis kualitatif	28
8.2.	Analisa kuantitatif	28
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	30
A.	Hasil Determinasi dan Deskripsi Tanaman.....	30
1.	Determinasi tanaman.....	30
2.	Deskripsi tanaman Stevia dan pengambilan bahan tanaman	30
B.	Kultur Jaringan Tanaman.....	32
1.	Pembuatan media New Phalaenopsis (NP)	33
2.	Sterilisasi ruang, alat dan media	33
3.	Sterilisasi eksplan.....	34
4.	Penanaman eksplan.....	35
C.	Evaluasi Kalus.....	35
1.	Prosentase keberhasilan	35
2.	Waktu eksplan membentuk kalus	37
3.	Subkultur.....	38
D.	Ekstraksi daun dan kalus daun Stevia	39
1.	Ekstraksi daun Stevia	39
2.	Ekstraksi kalus daun Stevia	39
E.	Hasil uji steviosida	40
1.	Hasil analisa kualitatif.....	40
2.	Uji kuantitatif.....	43
2.1.	Pembuatan kurva baku steviosida standar	43
2.2.	Penetapan kadar steviosida dalam daun.....	44
2.3.	Penetapan kadar steviosida dalam ekstrak kalus daun Stevia.....	45
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	47
A.	Kesimpulan	47
B.	Saran	47
	DAFTAR PUSTAKA	48
	LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin	12
Gambar 2. Struktur Steviosida.....	15
Gambar 3. Foto tanaman Stevia.....	31
Gambar 4. Kromatogram senyawa steviosida setelah disemprot dengan pereaksi semprot Lieberman Burchard berwarna kuning coklat	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pembuatan media New Phalaenopsis (NP) dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin	33
Tabel 2. Bahan dan waktu sterilisasi eksplan daun Stevia	34
Tabel 3. Prosentasi keberhasilan eksplan membentuk kalus	36
Tabel 4. Pengaruh pemberian zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin terhadap waktu induksi kalus daun Stevia.....	37
Tabel 5. Prosentase keberhasilan kalus yang tumbuh setelah subkultur.....	39
Tabel 6. Perhitungan hRf steviosida standar dan ekstrak daun Stevia	42
Tabel 7. Perhitungan hRf steviosida standar dan ekstrak kalus daun Stevia.....	43
Tabel 8. Kurva baku steviosida standard ekstrak daun Stevia.....	44
Tabel 9. Kurva baku steviosida standard ekstrak kalus daun Stevia	44
Tabel 10. Hasil penetapan kadar steviosida dalam ekstrak daun Stevia.....	45
Tabel 11. Hasil penetapan kadar steviosida dalam ekstrak kalus daun Stevia	45
Tabel 12. Rata-rata hasil penetapan kadar steviosida dalam kalus daun Stevia...	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman Stevia	50
Lampiran 2. Certificate of Analysis steviosida standard	51
Lampiran 3. Komposisi media New Phalaenopsis (NP).	52
Lampiran 4. Skema pembuatan media New Phalaenopsis (NP) 1 liter.....	53
Lampiran 5. Foto kalus <i>Stevia rebaudiana</i> Bertonii M.....	54
Lampiran 6. Foto ekstrak daun dan kalus <i>Stevia rebaudiana</i> Bertonii M.....	59
Lampiran 7. Sampel daun <i>Stevia rebaudiana</i> Bertonii M.....	60
Lampiran 8. Kromatogram steviosida standard dan ekstrak daun Stevia sebanyak 2 replikasi.....	61
Lampiran 9. Kromatogram steviosida standard dan ekstrak kalus daun Stevia sebanyak 2 replikasi.....	70
Lampiran 10. Perhitungan kadar steviosida ekstrak daun dan kalus daun Stevia.	82
Lampiran 11. Perhitungan harga Retardian factor (hRf) ekstrak kalus dengan kromatografi lapis tipis.....	89
Lampiran 12 Perhitungan harga Retardian factor (hRf) ekstrak daun dengan kromatografi lapis tipis.....	90

INTISARI

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH 2,4-D DAN KINETIN TERHADAP KANDUNGAN STEVIOSIDA PADA KALUS DAUN STEVIA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Stevia (Stevia rebaudiana Bertonii M.) merupakan salah satu tanaman sumber pemanis alami yang berasal dari Paraguay. Daun *Stevia* mengandung steviosida, rebaudiosida A, rebaudiosida B, rebaudiosida C, rebaudiosida D, rebaudiosida E, steviolbiosida, dulkosida A. Zat pengatur pertumbuhan merupakan salah satu komponen pelengkap media yang memegang peranan penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kombinasi antara 2,4-D dan kinetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin yang mampu menginduksi kalus daun *Stevia* dan mengetahui kadar steviosida yang terkandung di dalam kalus secara TLC densitometri.

Penelitian ini dilakukan dengan metode kultur jaringan tanaman menggunakan medium New Phalaenopsis (NP) dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin dengan variasi konsentrasi 2,4-D 0 ppm : kinetin 1 ppm, 2,4-D 0,25 ppm : kinetin 0,75 ppm, 2,4-D 0,5 ppm : kinetin 0,5 ppm, 2,4-D 0,75 ppm : kinetin 0,25 ppm, 2,4-D 1 ppm : kinetin 0 ppm. Evaluasi kalus dilakukan terhadap prosentase keberhasilan eksplan membentuk kalus, waktu induksi dan subkultur. Analisa tanaman asal dan kalus dilakukan secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak kloroform-etanol-air (15:10:1) fase diam silika gel 60 F 254 dan analisa kuantitatif secara TLC densitometri.

Hasil penelitian pada tanaman hasil adaptasi dan kalus daun *Stevia* dengan variasi konsentrasi penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin mampu merangsang pembentukan kalus daun *Stevia*. Kadar steviosida tertinggi diperoleh pada penambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh kinetin 1 ppm. Kadar steviosida yang terkandung dalam kalus daun *Stevia* lebih tinggi dibandingkan kadar steviosida yang terkandung dalam tanaman.

Kata kunci : Steviosida, kalus daun *Stevia*, New Phalaenopsis (NP), 2,4-D dan kinetin

ABSTRACT

ELVIYAH R, 2014, GIVING EFFECT OF COMBINATION OF THE SUBSTANCE OF GROWTH REGULATOR 2,4-D AND KINETIN CONTENT OF STEVIOSIDA STEVIA LEAVES ON CALLUS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M.) is one of the natural sweetener sources wich from Paraguay. *Stevia* leaf contains steviosida, rebaudiosida A, rebaudiosida B, rebaudiosida C, rebaudiosida D, rebaudiosida E, steviolbiosida, dulkosida A. Growth regulating substances is one of the complementary components that media plays an important role preformance process of plant growth and development. Of growth regulators used in this study is a combination of 2,4-D and kinetin. This research aimed to know increasing of growth controller 2,4-D and kinetin that well to do kalus induction of *stevia* leaf and know steviosida level wich containing in TLC densitometry manner.

The study was conducted with plant tissue culture method using New Phalaenopsis (NP) medium with the addition of 2,4-D and kinetin plant growth regulator, with various concentration of 2,4-D 0 ppm and kinetin 1 ppm, 2,4-D 0,25 ppm and kinetin 0,75 ppm, 2,4-D 0,5 ppm and kinetin 0,5 ppm, 2,4-D 0,75 ppm and kinetin 0,25 ppm, 2,4-D 1 ppm and kinetin 0 ppm. Evaluation of callus was conducted on the percentage of success of explants to form callus, induction time, and the average weight of callus. Analysis of plant origin and callus conducted qualitatively by thin layer chromatography using a mobile phase of chloroform-ethanol-water (15:10:1) stationary phase silica gel 60 F 254 and TLC densitometry quantitative analysis.

The results of research on the origin of plants an *Stevia* leaf callus with the addition of various concentration of growth regulator 2,4-D and kinetin able to stimulate the formation of callus *Stevia* leaf. Steviosida highest rate earned on additional growth regulator substances concentration 2,4-D 0 ppm and kinetin 1 ppm. Steviosid level contained in the *Stevia* leaf callus adaptation steviosida higher than the level contained in the plant origin.

Keywords : Steviosida, *Stevia* leaves callus, New Phalaenopsis (NP), 2,4-D and kinetin