

SKRIPSI

**OPTIMALISASI PRODUKSI STEVIOSIDA DARI KALUS DAUN
Stevia rebaudiana Bertoni DENGAN VARIASI KOMBINASI
ZAT PENGATUR TUMBUH**

Disusun oleh :

**Aditya Fendy Heryanto
NPM : 100801144**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2014**

**OPTIMALISASI PRODUKSI STEVIOSIDA DARI KALUS DAUN
Stevia rebaudiana Bertoni DENGAN VARIASI KOMBINASI
ZAT PENGATUR TUMBUH**

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh
Derajat Sarjana S-1**

Disusun oleh :

**Aditya Fendy Heryanto
NPM : 100801144**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2014**

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul

OPTIMALISASI PRODUKSI STEVIOSIDA DARI KALUS DAUN *Stevia rebaudiana* Bertoni DENGAN VARIASI KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH

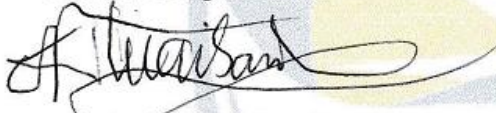
yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Aditya Fendy Heryanto
NPM : 100801144

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari Senin tanggal 10 Juli 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Pembimbing Utama,



(Prof. Dr. C. J. Soegihardjo, Apt.)

Anggota Tim Penguji,



(Drs. F. Sinung Pranata, M.P.)

Pembimbing Kedua,



(L. M. Ekawati Purwijantiningsih, S.Si., M.Si.)

Yogyakarta, 25 Juli 2014

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,



(Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc.)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini ku persembahkan untuk :

Emak Saptowati (Khoe Djit Nio)

Papa Edy Susanto (Loe Eng Hoey)

Mama Dwi Selowati (Tan Hwie Lien)

Mama Dwi Mustikawati (Tan Hwie Tjoe)

Ko Oryza Sativanus Susanto, S.Kom.

Keluarga Besar VESA

Nadyaviani Selo Abi

Terima kasih atas bantuan, dukungan, semangat dan doa yang telah kalian berikan

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Aditya Fendy Heryanto
NPM : 100801144
Judul Skripsi : OPTIMALISASI PRODUKSI STEVIOSIDA DARI KALUS DAUN
Stevia rebaudiana Bertoni DENGAN VARIASI KOMBINASI ZAT
PENGATUR TUMBUH

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan disusun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik. Apabila di kemudian hari ternyata terbukti sebagai plagiarisme, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku berupa pencabutan predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya.

Yogyakarta, 15 Juli 2014

Yang menyatakan,



Aditya Fendy Heryanto

100801144

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas berkat dan karunia-Nya yang selalu membimbing dan melindungi penulis, sehingga dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul **“Optimalisasi Produksi Steviosida dari Kalus Daun *Stevia rebaudiana* Bertoni Dengan Variasi Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh”**. Skripsi ini merupakan tugas akhir yang wajib dilaksanakan sebagai syarat kelulusan untuk menyelesaikan studi S-1 di Fakultas Teknobiologi UAJY. Penelitian dan naskah skripsi ini kiranya tidak dapat terselesaikan dengan baik jika tanpa adanya pihak-pihak yang membantu dan mendukung penulis. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang sangat berperan selama proses penelitian dan penyelesaian naskah skripsi. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Yayasan Slamet Riyadi dan Universitas Atma Jaya Yogyakarta atas beasiswa PSSB yang membiayai penulis untuk studi selama 4 tahun.
2. Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Teknobiologi UAJY yang telah mengizinkan dan membantu berlangsungnya penelitian ini.
3. Prof. Dr. C. J. Soegihardjo, Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan pengarahan, masukan, nasihat dan pendampingan selama penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.
4. L. M. Ekawati Purwijantiningsih, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah membantu penulis dalam memberikan pengarahan, nasihat, saran dan masukan selama penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.

5. Drs. F. Sinung Pranata, M.P. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan untuk menyempurnakan naskah skripsi ini.
6. Prof. Jan. M. C. Geuns dari *Katholieke Universiteit Leuven*, Haverlee-Belgia yang telah memberikan steviosida dan referensi-referensi terkait penelitian.
7. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si. yang telah memberikan waktunya untuk berdiskusi dengan penulis selama proses penelitian.
8. Ludmilla Fitri Untari, S.Si., M.Si. dari Fakultas Biologi UGM yang telah memudahkan penulis untuk mendapatkan referensi-referensi terkait penelitian.
9. F. R. Sulistyowati, Catarina Puput, Albertus A. Adirianto, Aditya Bimo dan Yohanes Wagiran selaku staff laboratorium yang telah membantu selama jalannya penelitian di laboratorium.
10. Adrian S. Rahardjo, Eveline Kurniati, Lidya Kartika, Victoria N. Kirana, Hendra, Venansius Galih, Abdulloh Khudry, Astri Asih, Stella Shen, Martha F. Endika dan Osmond, teman-teman dan rekan penelitian yang membantu dalam teknis penelitian maupun diskusi selama proses penelitian dan penyusunan naskah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan naskah skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, oleh karena itu penulis sangat terbuka untuk menerima masukan dan saran yang sifatnya membangun. Semoga laporan penelitian ini dapat bermanfaat untuk berbagai pihak.

Yogyakarta, 15 Juli 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGAJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI	xiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang	1
B. Keaslian penelitian	4
C. Perumusan masalah	5
D. Tujuan	6
E. Manfaat	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Deskripsi Tanaman <i>Stevia rebaudiana</i>	7
B. Steviosida sebagai metabolit sekunder	8
C. Biosintesis steviosida	10
D. Kultur <i>in vitro</i> dan induksi kalus	12
E. Medium kultur <i>in vitro</i>	13
F. Zat pengatur tumbuh	14
G. Ekstraksi dengan prinsip refluks dan <i>cold finger</i>	16
H. Kromatografi lapis tipis (KLT)	18
I. Spektrodensitometri <i>in situ</i>	19
J. Hipotesis	20
III. METODE PENELITIAN	21
A. Waktu dan tempat pelaksanaan	21
B. Alat dan bahan	21
C. Rancangan percobaan	22
D. Tahapan penelitian	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
A. Inisiasi Kalus	34
B. Kecepatan waktu induksi kalus	36

	Halaman
C. Persentase induksi kalus	37
D. Indeks pertumbuhan	40
E. Morfologi kalus	42
F. Kandungan steviosida	44
V. SIMPULAN DAN SARAN	51
A. Simpulan	51
B. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perlakuan Jenis Medium terhadap Kecepatan Induksi Kalus Daun Stevia yang diinduksi oleh 2,4-D 1 mg/l	22
Tabel 2. Perlakuan Jenis Medium dan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Stevia	23
Tabel 3. Perlakuan Jenis Medium dan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh terhadap Kandungan Steviosida Kalus Daun Stevia	23
Tabel 4. Kecepatan Waktu Induksi Kalus Eksplan Daun Stevia yang diinduksi 2,4-D 1 mg/l dengan Variasi Jenis Medium.....	36
Tabel 5. Indeks Pertumbuhan (%) Kalus Eksplan Daun Stevia Minggu Ke-6 pada Medium ½ MS dan NP dengan Variasi Kombinasi ZPT	40
Tabel 6. Morfologi Kalus Eksplan Daun Stevia pada Medium ½ MS dan NP dengan Variasi Kombinasi ZPT	43
Tabel 7. Kadar Steviosida (µg) Kalus Daun Stevia Minggu Ke-6 pada Medium ½ MS dan NP dengan Variasi Kombinasi ZPT	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	8
Gambar 2. Struktur Steviosida.....	9
Gambar 3. Skema Biosintesis Steviosida melalui Jalur MEP	11
Gambar 4. Diagram Skematik Tabung <i>Cold Finger</i>	17
Gambar 5. Pelengkungan Eksplan Daun Stevia Umur Lima hari pada Medium Induksi	34
Gambar 6. Awal Pembentukan Kalus Eksplan Daun Stevia Umur 11 hari pada Medium Induksi	35
Gambar 7. Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Stevia Umur Tiga minggu pada Medium Induksi	35
Gambar 8. Kontaminasi Jamur pada Eksplan Daun Stevia	38
Gambar 9. Indeks Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Stevia Minggu Ke-6 pada Medium ½ MS dan NP dengan Variasi Kombinasi ZPT	41
Gambar 10. Perbandingan Morfologi Kalus Eksplan Daun Stevia yang Ditumbuhkan pada Medium ½ MS dan NP dengan Variasi Kombinasi ZPT pada Minggu Ke-6.....	44
Gambar 11. Serbuk Kering Kalus Daun Stevia	45
Gambar 12. Pengujian Kualitatif Ekstrak Kalus Daun Stevia.....	45
Gambar 13. Kandungan Steviosida Kalus Eksplan Daun Stevia Minggu Ke-6 pada Medium ½ MS dan NP dengan Variasi Kombinasi ZPT	47
Gambar 14. Diagram Skematik Produksi Glikosida Steviol	49
Gambar 15. Hasil Pengukuran Lamda Maksimal Steviosida	62

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Medium MS (<i>Murashige and Skoog</i>).....	59
Lampiran 2. Komposisi Medium NP (<i>New Phalaenopsis</i>).....	60
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Indeks Pertumbuhan Kalus Eksplan Daun Stevia (%).....	61
Lampiran 4. Hasil Pengukuran Berat Kering Kalus (g) dan λ maks Steviosida	62
Lampiran 5. Hasil Pengukuran Kadar Steviosida Kalus Eksplan Daun Stevia dan Daun Stevia (μg)	63
Lampiran 6. Hasil Pengukuran Harga Rf dan AUC Bercak Steviosida.....	64
Lampiran 7. Kurva Regresi Standar Steviosida	65
Lampiran 8. Uji t Parameter Kecepatan Waktu Induksi Kalus Eksplan Daun Stevia.....	66
Lampiran 9. Analisis Varian dan Uji Duncan Parameter Indeks Pertumbuhan (%) Kalus Eksplan Daun Stevia	67
Lampiran 10. Analisis Varia dan Uji Duncan Parameter Kadar Steviosida (μg) Kalus Eksplan Daun Stevia.....	69
Lampiran 11. Analisis Korelasi Indeks Pertumbuhan Kalus (%) dan Kadar Steviosida (μg)	70

INTISARI

Steviosida merupakan salah satu metabolit sekunder dari tanaman *Stevia rebaudiana* yang digunakan sebagai pemanis alami non kalori. Steviosida memiliki rasa manis 300 kali dari sukrosa dan telah diuji tanpa efek samping. Kemampuan biji stevia untuk berkecambah sangat rendah dan perbanyakannya secara vegetatif juga terbatas. Oleh karena itu, kultur *in vitro* digunakan untuk produksi metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi produksi steviosida dari kalus daun stevia yang diinduksi dengan 2,4-D 1 mg/l dan dipelihara dengan berbagai variasi kombinasi ZPT (2,4-D 0,5 mg/l + NAA 0,5 mg/l + Kin 1 mg/l; NAA 0,1 mg/l + BAP 2 mg/l; NAA 2 mg/l; IBA 2 mg/l + BAP 2 mg/l dan 2,4-D 1 mg/l) pada medium ½ MS dan NP. Data kuantitatif yang diperoleh meliputi kecepatan waktu induksi kalus, persentase induksi kalus, indeks pertumbuhan kalus dan kandungan steviosida, sedangkan data kualitatif yang diperoleh meliputi morfologi kalus (warna dan tekstur kalus). Kandungan steviosida pada kalus diukur menggunakan kromatografi lapis tipis-densitometri dengan eluen aseton–etil asetat–air (5:4:1) sebagai fase geraknya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan kecepatan waktu induksi kalus pada medium ½MS dan NP. Jumlah kalus yang terinduksi mencapai 70,2% dengan tekstur kompak dan berwarna putih kekuningan. Harga Rf steviosida diperoleh antara 0,31 – 0,34 dengan λ maksimum 289 nm. Indeks pertumbuhan kalus tertinggi dan kadar steviosida tertinggi diperoleh dari kombinasi IBA 2 mg/l + BAP 2 mg/l. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa tidak adanya korelasi antara indeks pertumbuhan dengan kadar steviosida. Kadar steviosida pada daun stevia masih lebih tinggi dari kalus daun stevia.

Kata kunci : *Stevia rebaudiana*, steviosida, kalus, KLT-densitometri