

OPTIMASI PEMBUATAN BIJI BUATAN TANAMAN STEVIA (*STEVIA REBAUDIANA BERTONI*)

Eko Hadi Cahyono, Saiful Mukhlis, Sutrisno

Laborium Kultur Jaringan Jurusan Produksi Pertanian

Politeknik Negeri Jember. Jember. Jawa Timur.

Email : hadicahyoneko@gmail.com

Abstrak

Stevia rebaudiana Bert merupakan tanaman perdu yang berasal dari perbatasan Paraguay, Brazil dan Argentina. Daun tanaman ini menghasilkan glikosida steviol yaitu suatu metabolit sekunder yang memiliki tingkat kemanisan 200-300 kali lebih manis dibandingkan sukrosa Tebu. Metode perbanyakan stevia secara konvensional tidak dapat memenuhi kebutuhan benih ataupun bibit stevia yang semakin meningkat. Kultur jaringan mampu memenuhi kekurangan tersebut karena memiliki potensi untuk menghasilkan plantlet yang seragam dalam jumlah banyak. Namun metode tersebut memiliki kekurangan dalam hal : 1) Kemasan plantlet dalam botol tidak efisien dan efektif dalam pengiriman dan 2) Perlu Aklimatisasi sebelum ditanam dilapang. Kultur jaringan dapat lebih menguntungkan bila plantletnya dapat dikemas dalam bentuk biji buatan/enkapsulasi Permasalahannya hingga saat ini belum ada teknik enkapsulasi yang optimal untuk hasil kultur jaringan Stevia. Tujuan penelitian ini adalah: 1) Mendapatkan konsentrasi optimal alginat untuk pembuatan biji buatan; 2) Mendapatkan macam eksplan yang optimal untuk pembuatan biji buatan; 3) Mengetahui pengaruh penyimpanan terhadap kemampuan tumbuh dan ketahanan hidup biji buatan. Metode penelitian disusun Faktorial (2 faktor) dengan 5 ulangan. Faktor Pertama adalah konsentrasi natrium alginat dengan 3 taraf yaitu : 2 % (A1), 3% (A2) dan 4% (A3). Faktor kedua 2 macam eksplan yaitu: 1) stek satu ruas stevia hasil perbanyakan secara kultur jaringan (RS1); 2) stek dua ruas stevia hasil perbanyakan secara kultur jaringan (RS2). Biji buatan stevia disimpan 1 minggu, 2 minggu, Parameter inti yang diamati yaitu pengamatan selama pembuatan biji buatan: kondisi kapsul/biji buatan : utuh, robek, lunak, padat, pertumbuhan eksplan sampai menembus kapsul, dan persentase kontaminasi. Parameter penunjang yakni kemampuan tumbuh dan ketahanan hidup eksplan setelah biji buatan di simpan selama 1 minggu, 2 minggu, terhadap persentase eksplan hidup, persentase bertunas dan persentase berakar.

Kata kunci : *biji buatan, alginat, Stevia rebaudiana, lama simpan*

I. PENDAHULUAN

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dikenal sebagai tanaman pemanis alami non-kalori. Tanaman ini berasal dari dataran tinggi Paraguay di Amerika Selatan. Stevia termasuk famili Asteraceae, merupakan tanaman tahunan dengan habitus semi herba yang tingginya mencapai dua meter. Tanaman ini mengandung glikosida jenis steviosida terutama pada daun dengan tingkat kemanisan 100-300 kali lebih manis daripada gula pasir (Das et al. 2006; Madan et al. 2010). Rasa manis yang dihasilkan stevia dapat memiliki berbagai manfaat dalam kehidupan manusia. Sebagai pemanis, steviosida aman digunakan dan cocok untuk penderita diabetes karena secara klinis dapat mempertahankan kadar gula dalam darah. Selain itu, stevia juga berpotensi untuk dijadikan obat hipoglikemik, kardiovaskular, antimikroba, tonik pencernaan, serta perawatan gigi dan kulit (Geuns et al. 2004; Das et al. 2006; Gauchan et al. 2014). Manfaat stevia sebagai pemanis berpotensi untuk mensubstitusi sebagian penggunaan gula tebu di Indonesia. Hal ini dapat dilihat dari semakin berkembangnya pembudidayaan dan pengolahan tanaman stevia. Budidaya stevia secara

komersial saat ini terdapat di Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah dan Kabupaten Bandung, Jawa Barat.

Pengembangan stevia dilakukan dengan perbanyakan tanaman secara generatif maupun vegetatif. Perbanyakan secara vegetatif dilakukan dengan menggunakan anakan, berupa tunas atau bonggol, stek batang dan melalui teknik kultur jaringan. Namun demikian, masih terdapat kendala dalam pengembangan stevia, di antaranya adalah perbanyakan bibit dalam jumlah besar dan harganya yang belum kompetitif (Djajadi 2014). Perbanyakan tanaman menggunakan teknik kultur jaringan dapat menghasilkan bahan tanam unggul secara massal dan cepat. Kultur jaringan stevia umumnya dilakukan melalui multiplikasi tunas, organogenesis dan embriogenesis somatik (Sumaryono dan Sinta 2011).

Metode konvensional tidak dapat memenuhi kebutuhan bibit unggul stevia, karena itu perlu dipertimbangkan pemanfaatan teknik kultur jaringan. Ragapadmi (2002) menyebutkan bahwa teknik kultur jaringan dapat digunakan untuk menghasilkan bibit dan plantlet mikro dalam jumlah banyak, seragam, *true of tipe*, dalam waktu relatif singkat, dan tidak

tergantungan musim. Namun teknik ini memiliki kelemahan yaitu 'kemasan' plantlet dalam botol dan perlunya aklimatisasi sebelum tanam, sehingga mendorong pengembangan teknik lebih lanjut dalam bentuk *biji buatan* / biji buatan.

Siahaan (1996) menyatakan *biji buatan* (biji buatan) adalah eksplan (embrio somatik atau meristem, atau tunas pucuk) yang dibungkus dengan suatu bahan penyalut khusus (enkapsulasi) supaya tidak rusak, dapat disimpan dan dapat dikedambahkan. Biji buatan merupakan salah satu cara untuk dapat menyimpan embrio somatik, mata tunas, potongan pucuk muda, embrio yang diisolasi dari keping benih, titik tumbuh dengan tujuan mencegah penurunan daya tumbuh. Teknik ini juga dapat meningkatkan efisiensi pengiriman benih (Haris dan Mathius, 1995).

Teknik enkapsulasi diharapkan akan menjadi salah satu cara penanganan bibit hasil kultur jaringan *stevia* agar dapat ditanam langsung di lapang. Teknik ini diharapkan dapat mempermudah pengemasan, pengangkutan dan distribusi bibit untuk jarak jauh, dan sebagai *carrier* pada kapsul pembungkus dapat disertakan nutrisi, zat pengatur tumbuh, dan bahan protektan yang dapat menjaga viabilitas biji buatan (Haris dan Mathius, 1995).

Tujuan Penelitian Penelitian ini bertujuan mendapatkan jenis eksplan yang optimal untuk pembuatan biji buatan, mendapatkan konsentrasi optimal, alginat untuk enkapsulasi eksplan hasil kultur jaringan *stevia* mengetahui Lama penyimpanan terhadap kemampuan tumbuh dan viabilitas biji buatan *stevia*.

II. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember, di Jember, Jawa Timur mulai bulan Juli sampai Desember 2020

B. Bahan dan Alat

Bahan tanam yang digunakan adalah (1) eksplan satu ruas batang plantlet hasil kultur jaringan (RS1), (2) eksplan dua ruas batang plantlet hasil kultur jaringan (RS2).

Bahan kimia yang digunakan terdiri dari Alginic acid-Sodium salt (Sigma), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Bactocyn, Benlate, larutan MS, aquades, agar-agar, alkohol teknis 96 %, spiritus, aluminium foil, plastik *wrap*, kertas saring, kertas *tissue*, plastik tahan panas,

Alat-alat yang digunakan adalah tabung gelas erlenmeyer 1000 ml, gelas ukur 100 ml, gelas piala, pipet volume, corong gelas, gelas pengaduk, sendok teh, cawan petri, botol *jelly*, timbangan analitik, autoklaf, laminar cabinet air flow, disetingset, desikator, lampu bunsen, rak kultur yang dilengkapi lampu *fluorescence* dengan intensitas cahaya 1000 –

2000 luks, ruang inkubasi dengan lama penyinaran 16 jam perhari, kulkas, kamera, gelas plastik, hand sprayer, dan alat tulis.

C. Metode Percobaan

Percobaan ini disusun dengan Faktorial (2 faktor), 3 ulangan. Faktor pertama adalah 2 jenis eksplan yang dienkapsulasi yaitu (1) eksplan satu ruas batang plantlet hasil kultur jaringan (RS1), (2) eksplan dua ruas batang plantlet hasil kultur jaringan (RS2). Faktor kedua adalah konsentrasi Natrium alginat dengan 3 taraf perlakuan konsentrasi yaitu : 2% (A1), 3% (A2), dan 4% (A3).

D. Pelaksanaan Percobaan

• Sterilisasi Alat

Botol kultur, cawan petri, tabung reaksi, dan semua alat untuk pembuatan media serta alat tanam (diseksi) dicuci bersih, dikeringkan dan diautoklaf pada tekanan 1.1 kg/cm² dengan suhu 121°C selama 1 jam. Laminar air flow cabinet disterilkan dengan menyemprotkan alkohol 95% pada semua dinding dan permukaannya serta lampu ultraviolet dinyalakan selama satu jam menjelang digunakan.

• Pembuatan Media

Media padat Murashige and Skoog (MS) digunakan sebagai media dasar persiapan eksplan dan pengujian daya simpan biji buatan. Sedangkan media cair (tanpa agar) Murashige and Skoog (MS) digunakan sebagai pelarut alginat dalam pembuatan biji buatan. Untuk memudahkan pembuatan media dibuat larutan stok dari formulanya. Media dibuat dengan memipet larutan stok sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan. Larutan media diukur pH-nya dan diatur sekitar 5.80 dengan menambahkan beberapa tetes HCl 1 N atau NaOH 1 N. Kemudian pembuatan media padat ditambahkan agar sebanyak 8 g/l kedalam larutan media MS dan dimasak sampai mendidih. Media kemudian dituang kedalam tiap botol kultur steril sebanyak 25 ml, ditutup dengan aluminium foil dan diautoklaf selama 20 menit pada tekanan 1.1 kg/cm² dengan suhu 121°C. Media steril disimpan dalam ruang kultur selama 3 hari sebelum digunakan.

• Persiapan Eksplan

Eksplan yang dimaksud pada penelitian ini adalah bahan tanam untuk pembuatan biji buatan. Tujuan tahap ini adalah untuk mendapatkan sumber bahan tanam yang akan dienkapsulasi. Bibit *stevia* yang digunakan umur 6 bulan. Sterilisasi stek batang akan dilakukan dengan merendam ke dalam larutan fungisida, bakterisida, bayclin dan pencelupan alkohol 96 % dilanjutkan pemotongan stek batang. Dua ruas stek batang *stevia* ditanam dalam media dasar MS tanpa Zat Pengatur Tumbuh dengan sukrosa

30g/l dan agar 8 g/l. Setiap botol kultur ditanami 3 stek batang yang ditempatkan di ruang kultur terang 16 jam perhari dengan suhu 24 – 26 °C, intensitas cahaya 1000 – 2000 luks selama 8 minggu.

Pemanenan ruas batang sebagai eksplan pembuatan biji buatan dilakukan didalam alat Laminair Cabinet Air Flow dengan macam eksplan yang akan digunakan adalah (1) eksplan satu ruas batang plantlet hasil kultur jaringan (RS1), (2) eksplan dua ruas batang plantlet hasil kultur jaringan (RS2)

- Prosedur Enkapsulasi atau Pembuatan biji buatan

Tahap kerja enkapsulasi eksplan atau pembuatan biji buatan dilakukan sebagai berikut. Pelarut alginat menggunakan larutan MS dengan ABA 3 mg/l diautoklaf selama 20 menit pada tekanan 1,1 kg/cm² dengan suhu 121°C . Enkapsulasi eksplan dilakukan dengan mengambil media alginat sesuai perlakuan dengan sendok teh, satu eksplan dimasukkan pada media alginat sampai tertutupi dengan sendok teh yang lain dan untuk mengeraskannya menjadi gel kapsul, masukkan pada larutan 2 g/150 ml CaCl₂.2H₂O steril yang kemudian direndam serta digoyang pelan mengikuti gerakan dasar wadah selama 10 menit.

- Pengemasan dan Penyimpanan Biji buatan.

Sebelum biji buatan dikemas, biji buatan direndam dalam campuran larutan fungisida (1 g/100ml Benlate) dan bakterisida (0,1 ml/100 ml Bactocyn) selama 2 menit untuk mengontrol kontaminasi. Biji buatan dikemas dalam botol jely sebanyak 10 kapsul dan botol jely direkat dengan plastik wrap. Kemasan-kemasan kapsul kemudian diberi perlakuan penyimpanan, selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu dengan kondisi terang.

- Pengujian Kemampuan Tumbuh dan Ketahanan Hidup.

Uji ini dilakukan dengan menumbuhkan eksplan setelah perlakuan simpan 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu, dengan melepas alginat penyalut pada kondisi suhu 24°C – 26°C, kelembaban 65 – 70%, intensitas cahaya 1000 – 2000 luks, 16 jam /hari. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 28 hari.



Gambar 1. Keberhasilan Pembentukan Biji buatan

Penggunaan natrium alginat dengan konsentrasi 3,0 dan 4,0 % sebagai bahan enkapsulasi eksplan stevia dapat membentuk biji buatan yang utuh, tidak robek, padat serta semua bagian eksplan terbungkus atau tersaluti natrium alginate kecuali konsentrasi 2%

Parameter Yang Diamati: *Pengamatan Selama Pembuatan Dan Penyimpanan Biji Buatan

Pengamatan visual selama pembuatan dan masa penyimpanan biji buatan dilakukan setiap hari sesuai masa simpan 1 minggu, 2 minggu, terhadap :

1. Kondisi kapsul hasil pembuatan biji buatan, yakni : utuh, robek, lunak, padat (%).
2. Pertumbuhan eksplan didalam kapsul (%)
3. Pertumbuhan eksplan sampai menembus kapsul.
3. Biji buatan/Kapsul yang terkontaminasi (%). Persentase kapsul yang terkontaminasi jamur dan bakteri

- Pengamatan Terhadap Daya Tumbuh Setelah Penyimpanan

Kemampuan tumbuh dan ketahanan hidup eksplan setelah pelepasan alginat pada masa simpan 1 minggu, 2 minggu, diamati setelah 14 hari ditumbuhkan pada media MS tanpa ZPT, melalui parameter :

1. Persentase eksplan hidup.
2. Persentase bertunas
3. Persentase berakar

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengamatan Visual Selama Pembuatan dan Penyimpanan Biji buatan

Pengamatan terhadap *biji buatan* selama pembuatan sampai penyimpanan dilakukan terhadap kondisi kapsul, pertumbuhan eksplan didalam kapsul, dan kontaminasi oleh mikroorganisma.

Setiap konsentrasi alginat yang dicobakan menghasilkan biji buatan dengan kondisi seperti terlihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

TABEL 1. KEBERHASILAN PEMBENTUKAN *BIJI BUATAN*

Na – Alginat (%)	Kapsul <i>biji buatan</i>	Kondisi
2,0 + MS	lunak	eksplan tidak dapat dibungkus sempurna
3,0 + MS	padat	eksplan dapat dibungkus
4,0 + MS	lebih padat	eksplan dapat dibungkus

<i>Biji buatan</i> dengan alginat 2,0 % (A1)	<i>Biji buatan</i> dengan alginat 3,0 % (A2)	<i>Biji buatan</i> dengan alginat 4,00 % (A3)
--	--	---

(Tabel 1 dan Gambar 1). Menurut Siahaan (1996) kondisi *biji buatan* yang tidak utuh menyulitkan untuk dipindah, sedangkan kondisi yang terlalu padat tidak mendukung pertumbuhan dan perkembangan

eksplan. Dengan demikian, penggunaan natrium alginat 2% menyulitkan untuk dipindah, konsentrasi 3% dan 4% yang dicobakan tidak akan mengurangi kemampuan eksplan untuk tumbuh dan berkembang.

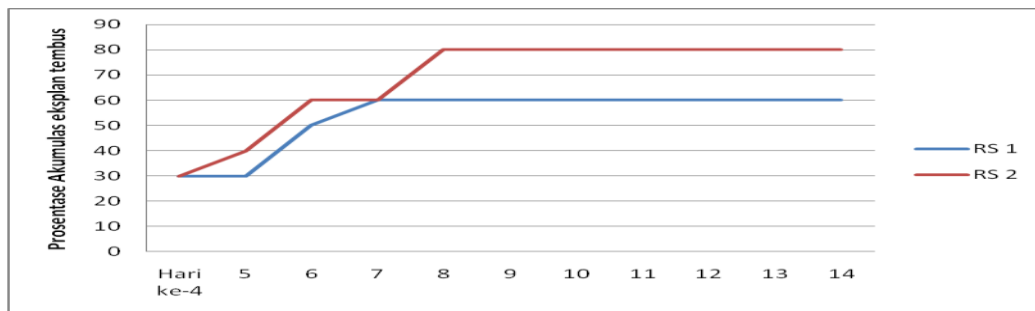
Pada pembuatan *biji buatan* dengan menggunakan eksplan RS1, setiap 100 ml gel larutan natrium mampu membentuk sekitar 75 buah.. Sementara itu, jika eksplan yang dipergunakan RS2, setiap 100 ml gel natrium alginat mampu membentuk sekitar 65 buah. Rata-rata biji buatan yang diperoleh secara berurutan memiliki berat 0,44 g dengan diameter 0,66 cm; dan 0,69 g dengan diameter 0,75 cm untuk biji buatan yang berasal dari eksplan RS1 dan RS2

Selama dalam penyimpanan, kapsul biji buatan ternyata mengalami penurunan bobot. Diduga bobot kapsul berkurang akibat penguapan. Rerata pengurangan bobot kapsul disajikan dalam tabel 2.

TABEL 2. PENGURANGAN BOBOT KAPSUL (%) SELAMA MASA PENYIMPANAN

Konsentrasi Na Alginat	Masa Penyimpanan (Minggu)	
	1	2
2,0 %	9,8	23,4
3,0 %	7,0	8,3
5,0 %	5,3	8,2

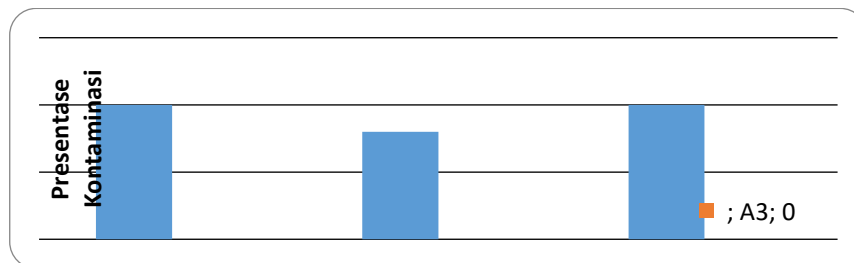
Walaupun bobot berkurang selama penyimpanan seperti pada tabel 2, namun tidak ditemukan kapsul yang mengkerut (dehidrasi berat) atau kapsul dengan keadaan melunak. Berbeda dengan apa yang dilaporkan Siahaan (1996), bahwa pada enkapsulasi bibit mikro kentang ditemukan kapsul yang mengkerut (dehidrasi berat) dan kapsul dengan keadaan melunak.



Gambar 2. Presentase Akumulasi Eksplan Menembus Kapsul Alginat

Eksplan mengalami pertumbuhan menembus kapsul alginat hingga masa penyimpanan 8 hari (gambar 2). Hal ini diduga tidak ada penambahan zat pengatur tumbuh ABA yang ditambahkan pada alginat. Menurut Salisbury dan Ross (1992), ABA eksogen merupakan penghambat kuat bagi perkecambahan benih, sehingga menyebabkan dormansi. Penelitian Lestari dan Purnamaningsih (2000) menginformasikan, pemberian 5 ppm ABA

mampu meningkatkan daya simpan bibit mikro daun dawa selama 7 bulan tanpa menyebabkan penurunan daya tumbuh. Siahaan (1996), melaporkan bahwa bibit mikro kentang yang dienkapsulasi tanpa ABA, mulai merobek kapsul setelah 7 hari disimpan pada kondisi cahaya dan menembus kapsul alginat setelah 10 hari.



Gambar 3. Presentase Kontaminasi Terhadap Konsentrasi Alginat

Berdasarkan hasil pengamatan, kontaminasi pada biji buatan yang diakibatkan oleh bakteri tidak dijumpai, tetapi kontaminasi oleh jamur terjadi sampai 20 persen (gambar 3). Alginat selain berfungsi sebagai pengganti endosperm juga

berperan sebagai pelindung embrio dari serangan hama dan penyakit. Untuk itu biasanya ditambahkan suatu *agent* anti mikroorganisma pada campuran

penyusun selubung benih sintetis (<http://benih sintetis.blogspot.com/2008>). Bahan yang ditambahkan antara lain fungisida, bakterisida atau insektisida dengan memperhatikan tingkat fitotoksitasnya terhadap embrio.

Hasil Percobaan pembuatan biji buatan tersebut diatas menimbulkan kontaminasi kurang dari 20 % dikarenakan pelarut alginat menggunakan larutan MS kemudian ditambah fungisida (Benlate 0,02 g/100ml) dan bakterisida (Agrept 0,01ml/100ml) dapat mengontrol kontaminasi dengan baik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Bapat dan Rao (1990), bahwa penambahan fungisida (Carbondezam) dapat melindungi biji buatan dari kontaminasi.

B. Hasil Pengujian Daya Tumbuh Setelah Penyimpanan

Daya tumbuh atau viabilitas adalah kemampuan benih untuk hidup, yang ditunjukkan oleh gejala pertumbuhan dan gejala metabolismenya (Sadjad, 1986). Gejala pertumbuhan tersebut, seperti yang dipakai sebagai parameter percobaan ini, meliputi persentase eksplan hidup, persentase eksplan berakar baru, dan pertumbuhan tunas. Sebelum ditumbuhkan ke media alginat penyalut biji buatan dilepas terlebih dahulu. Uji daya tumbuh dilakukan setelah biji buatan disimpan 1, dan 2 minggu.

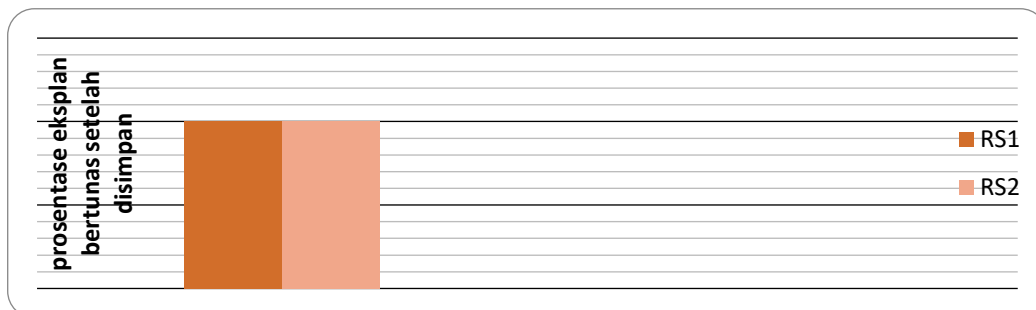
Uji daya tumbuh dimaksudkan untuk mengetahui berapa lama biji buatan dapat disimpan, tanpa mengurangi daya tumbuh dan ketahanan hidupnya. Selain itu, juga untuk mencari konsentrasi alginat dan jenis eksplan yang optimal. Pendugaan masa simpan ini bermanfaat untuk mengantisipasi waktu yang diperlukan bagi pengiriman bibit mikro tanaman hasil kultur jaringan ketempat yang jauh (Siahaan, 1996).

C. Persentase Eksplan Hidup

Akumulasi persentase total eksplan hidup dihitung dari penjumlahan eksplan yang menembus alginat dengan eksplan yang tidak menembus alginat (table 6). Sedangkan eksplan yang tidak menembus alginat dan melewati masa simpan terlihat pada gambar 3.

TABEL 2. AKUMULASI PROSENTASE TOTAL EKSPAN HIDUP (EKSPAN MENEMBUS ALGINATE DAN TIDAK MENEMBUS ALGINAT)

Macam Eksplan	Masa Penyimpanan (Minggu)	
	1	2
RS1	90 %	90%
RS2	86 %	86 %



Gambar 4. Persentase Eksplan Hidup pada Macam Eksplan setelah penyimpanan

Persentase eksplan hidup diamati setelah perlakuan penyimpanan. Keberhasilan dari penyimpanan biji buatan ditandai dengan calon tunas aksilar eksplan masih warna hijau dan atau ada pertumbuhan.

Penggunaan jenis eksplan sebagai bahan pembuatan biji buatan memberikan perbedaan terhadap persentase eksplan hidup pada penyimpanan 1 minggu dengan rata-rata persentase hidup eksplan RS1 dan RS2 secara berurutan yaitu 30 dan 26 persen. Dengan demikian eksplan RS1 memiliki persentase eksplan hidup lebih tinggi sampai penyimpanan 1 minggu (Gbr 6).

- Persentase Eksplan Bertunas

Data persentase eksplan bertunas didapatkan dari sample biji buatan yang eksplannya tidak menembus

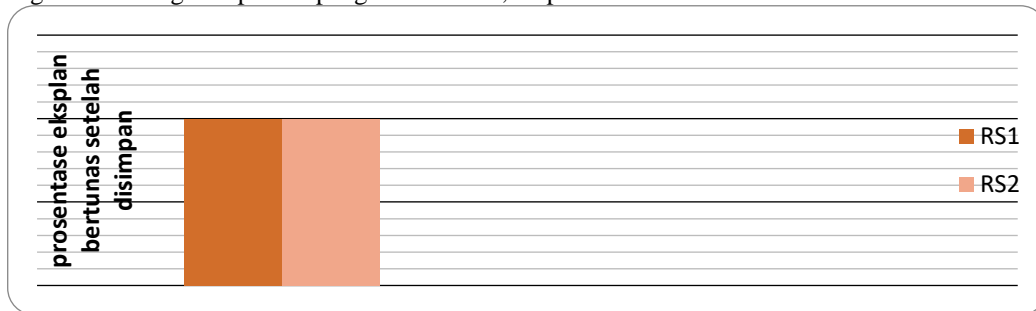
alginat tapi masih hidup kemudian alginat dikelupas (buka) dan eksplan ditanam di media Murashige and Skoogs tanpa zat pengatur tumbuh, pertumbuhan tunas diamati setelah 14 hari penanaman Gambar 6.

Pada Gambar 6. terlihat persentase eksplan bertunas biji buatan setelah penyimpanan 1 minggu untuk perlakuan jenis eksplan sama 100 persen. Hal ini menunjukkan kedua jenis eksplan mempunyai kemampuan yang pada daya uji tumbuh setelah disimpan 1 minggu.

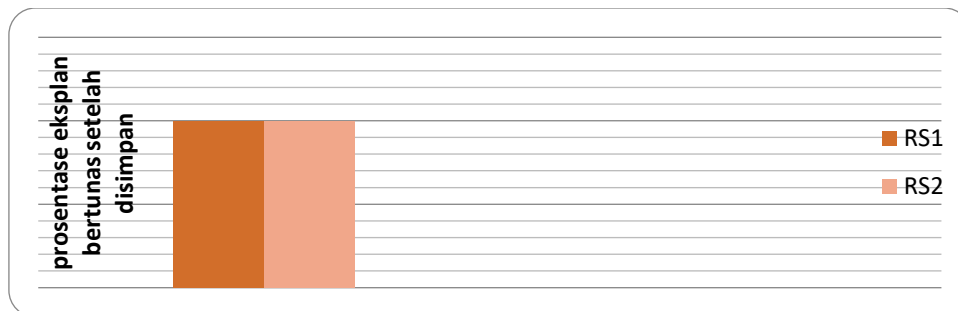
D. Persentase Eksplan Berakar

Data persentase eksplan berakar didapatkan dari sample biji buatan yang eksplannya tidak menembus alginat tapi masih hidup kemudian alginat

dikelupas (buka) dan eksplan ditanam di media Murashige and Skoogs tanpa zat pengatur tumbuh, pertumbuhan tunas diamati setelah 14 hari penanaman Gambar 6.



Gambar 5. Prosentase Eksplan Bertunas Setelah penyimpanan



Gambar 6. Prosentase Eksplan Berakar setelah penyimpanan

Pada Gambar 6. terlihat persentase eksplan berakar biji buatan setelah penyimpanan 1 minggu untuk perlakuan jenis eksplan sama 100 persen. Hal ini menunjukkan kedua jenis eksplan mempunyai kemampuan yang sama pada daya uji tumbuh setelah disimpan 1 minggu.

IV. SIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil percobaan yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Eksplan yang paling baik untuk pembuatan biji buatan stevia adalah RS1, yakni eksplan satu ruas hasil perbanyakan secara kultur jaringan
2. Konsentrasi alginat 3 % (A2) merupakan konsentrasi optimal dalam pembuatan biji buatan stevia hasil kultur jaringan sampai penyimpanan 1 minggu untuk parameter pengamatan visual :kondisi hasil pembuatan biji buatan, prosentase eksplan menembus alginat dan tingkat kontaminasi.

B. Saran

Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mendapatkan bahan dan teknik enkapsulasi yang optimal untuk mewujudkan peranan biji buatan stevia dalam program revitalisasi pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Anisa Hadiyana, dkk. 2015. *Iniasi Tunas Secara Kultur Jaringan Pada Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) Dengan Konsentrasi IBA dan BAP Yang Berbeda*. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Serang
- [2]. Bapat, V. A., M. Mhatre, and P. S. Rao. 1987. *Propagation of Morus Indica L. (Mulberry.) by Encapsulated Shoot Buds*. Plant Cell Rep. 6 : 393-395.
- [3]. Bapat, 1993. *Studies on synthetic seeds of sandalwood (Santalum album L.) mulberry (Morus indica L.)*. p. 381 – 407.
- [4]. Das K, Dang R, Rajasekharan PE. 2006. *Establishment and maintenance of callus Stevia rebaudiana Bertoni under aseptic environment*. Nat Product Radiance. 5(5):373-376.
- [5]. Djajadi, 2014. *Pengembangan Tanaman Pemanis Stevia rebaudiana B*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Malang
- [6]. Ermayanti, T. D, dkk. 2017. *Peningkatan Pertumbuhan Kultur Tunas Stevia rebaudiana Bertoni pada Media dengan Peningkatan Kadar Vitamin dan Glisin serta serta Penggunaan Jenis Tutup Tabung Berbeda*. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Bogor
- [7]. Fardiaz, D. 1989. *Hidrokoloid*. Lab. Kimia dan Biokimia Pangan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor. Hal 360.
- [8]. Ganapathi, T.R., P. Suprasanna, V.A. Bapat and P.S. Rao. 1992. *Propagation of through encapsulated shoot tips*. Plant Cell Rep. 11 : 571 – 575.

- [9]. Gauchan DP, Dhakal A, Sharma N, Bhandari S, Maskey E, Shrestha N, Gautam R, Giri S, Gurung S. 2014. *Regenerative callus induction and biochemical analysis of Stevia rebaudiana* Bertoni. J Adv Lab Res Biol. 5(3):41-45.
- [10]. Haris, N dan Mathius Toruan, N. 1995. *Teknologi In Vitro Untuk Pengadaan Benih Tanaman Perkebunan*. Warta Puslit Biotek Perkebunan I (1), 2 – 9.
- [11]. Kitto, S.L and Janick, J 1985. *Production of synthetic seeds by encapsulating asexual embryos of carrot*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110(2):277-282.
- [12]. Li, X. Q. 1990. *Introduction to Biji buatan*. P 52-55. In Li, X. Q. (ed). *Studies on Biji buatan of Plants*. Peking University Press, Beijing.
- [13]. Luwanska, A. et al. 2015. *Application of in vitro stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) cultures in obtaining steviol glycoside rich material*. Institute of Natural Fibres and Medicinal Plants. Poznan, Poland
- [14]. Mareta, D. 2008. *Kapsulasi dan Desikasi pada Pembuatan Benih Sintetik*. Blogspot.com. <http://benih sintetik.blogspot.com/2008>. Diakses pada 17 Oktober 2008.
- [15]. Nower.2014. *In vitro Propagation and Synthetic seeds Production : An Efficient Methods for Stevia rebaudiana Bertoni*. Sugar Tech Volume 16, pages 100-108
- [16]. Putri, Y. D, dkk. 2019. *Formulasi dan Evaluasi Losion Tabir Surya Ekstrak Daun Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)*. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Bandung
- [17]. Ragapadmi, P., 2002. *Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik dan beberapa Gen yang Mengendalikannya*. Buletin Agrobio 5(2):51;58.
- [18]. Redenbaugh, K. J. Nichol, M. Rossler, and B. Paasch. 1984. *Encapsulation of Somatic Embryos for Artificial Seed Production*. In vitro 20 : 256-257. (Abst).
- [19]. Redenbaugh, K., and S. E. Ruzin. 1988. *Biji buatan production and forestry*. p.225-238. In Dhawan, V. (ed) *Applications of Biotechnology in Forestry and Horticulture*. Plenum Press. New York.
- [20]. Saiprasad, S. V. G. 2001. *Biji buatan and their Applications*. General Article. Division of Biotechnology, Indian Institute of Horticulture Science, Bangalore. India.
- [21]. Siahaan, F. R. 1996. *“Enkapsulasi Bibit Mikro Kentang (Solanum tuberosum L.) dengan Natrium Alginat”*. Thesis Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- [22]. Sudarmonowati, E dan A. S. Bachtiar. 1994. *“Produksi Biji Buatan : Enkapsulasi Tunas Pucuk Acacia Mangium”*. hal. 25-30. Proceeding Seminar Nasional Hasil-hasil Penelitian dan pengembangan Bioteknologi II. Cibinong, Bogor.
- [23]. Sumaryono, Dan Sinta, M. M. 2018. *Pertumbuhan, Produksi Biomassa, dan Kandungan Glikosida Steviol pada Lima Klon Stevia Introduksi di Bogor, Indonesia*. Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia. Bogor
- [24]. Wang, Q and A. Perl. 2006. *“Cryopreservation Of Embryogenic Cell Suspensions by Encapsulation-Vitrification”*. Methods Mol Biol. 318 : 77-86.