

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN, DAN HIPOTESIS

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Tanaman *Stevia rebaudiana*

Stevia rebaudiana diklasifikasikan secara botani pada tahun 1899 oleh Moisés Santiago Bertoni. Awalnya bernama *Eupatorium rebaudianum*, namanya berubah menjadi *Stevia rebaudiana* Bertoni pada tahun 1905 (Khiraoui dkk, 2017). Klasifikasi tanaman stevia menurut *United States Department of Agriculture* (2010) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkultur	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivision	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Asteranae
Order	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: <i>Stevia</i> Cav.
Spesies	: <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) Bertoni

Tanaman Stevia adalah tanaman berbentuk perdu dengan tinggi 60 sampai 90 cm atau kurang dari 1 m, berasal dari Amambay yaitu daerah bagian Timur Laut Paraguay (Lemus-Mondaca dkk, 2012). Saat ini pembudidayaannya telah menyebar ke wilayah lain di dunia, termasuk Canada dan beberapa bagian Asia dan Eropa (Khiraoui dkk, 2017).

Morfologi tanaman stevia ini mempunyai daun yang tidak bertangkai dengan panjang antara 3-4 cm. Bentuk daun memanjang dengan bagian tengah lebar, bagian ujung mengecil dengan ujung daun tumpul, dan tepi daun bergerigi mulai

dari bagian tengah hingga ujung daun (Madan dkk, 2010). Batangnya berkayu dan berbulu serta pangkal batangnya akan menjadi lunak saat tanaman sudah tua dan cabang yang banyak pada batang (Talha dkk, 2012). Perakaran tanaman stevia memiliki sedikit percabangan. Stevia termasuk bunga hermaprodit (Talha dkk, 2012) yang terdiri atas lima kelopak kecil berwarna putih sampai dengan ungu pucat (Lemus-Mondaca dkk, 2012). Talha dkk. (2012), menyatakan bunga stevia memiliki ukuran 7-15 mm. Bunga tersebut berbentuk terompet. mahkota berbentuk tabung, tungkai putik dan benang sari pendek berbentuk silindris, kepala sari berwarna kuning, putik berbentuk jarum.



Gambar 1. Tanaman *Stevia rebaudiana*
Sumber: (Lemus-Mondaca dkk, 2012)

Stevia rebaudiana menarik minat ekonomi dan ilmiah karena mengandung senyawa steviosida dan repbaudiosida-A dengan tingkat kemanisan 300 kali dibandingkan gula tebu pada daunnya (Geuns, 2003). Daun stevia memiliki kandungan senyawa utama seteviosida antara 4 sampai 20% dari berat kering sebagai komponen pemberi rasa utama. Untuk mendapatkan senyawa tersebut pada daun tanaman stevia diperlukan proses pengeringan terlebih dahulu sebelum diekstraksi. Proses pengeringan untuk mendapatkan bubuk stevia bisa dilakukan dengan menjemur atau menggunakan oven (Berin, 2021).

Negara Jepang menjadi negara pertama di Asia yang memasarkan stevioside sebagai pemanis dalam obat-obatan dan industri makanan. Sejak saat itu, budidaya tanaman ini meluas ke negara-negara lain di Asia, antara lain China, Malaysia, Singapura, Korea Selatan, Taiwan, dan Thailand (Khiraoui dkk, 2017).

Tanaman stevia merupakan tanaman tidak tahan kekeringan, tumbuh baik dengan kadar air tanah di atas kapasitas lapang dan membutuhkan kelembaban tanah yang tinggi, mentolerir tanah yang sangat basah. Di daerah tropis tanaman ini dapat dibudidayakan sepanjang tahun dan dipanen beberapa kali, dengan jumlah gula stevia per tahun melebihi jumlah gula stevia di daerah subtropis yang hanya ditanam satu kali dalam setahun (Busono dan Dini, 2015).

Tanaman stevia merupakan tanaman yang tidak tahan terhadap kekeringan, tumbuh optimal pada kondisi tanah dengan kadar air di atas kapasitas lapang, membutuhkan kelembaban tanah yang tinggi, serta mampu mentolerir tanah yang sangat basah. Pada daerah tropis, tanaman ini dapat dibudidayakan sepanjang tahun dan dipanen pertama kali pada umur 3–4 bulan setelah tanam, dan dapat dipanen sebanyak 3–4 kali per tahun, sehingga menghasilkan produksi gula stevia tahunan yang lebih tinggi dibandingkan daerah subtropis yang umumnya hanya ditanam dan dipanen 2–3 kali per tahun, tergantung pada kondisi iklim dan varietas tanaman (Busono dan Dini, 2015; Rukmana, 2003).

Untuk Indonesia pertumbuhan yang baik pada daerah dengan ketinggian tempat 700 sampai 1.500 mdpl, curah hujan 1.400 mm/tahun dengan suhu lingkungan antara 20 sampai 24°C. Jenis tanah yang baik untuk tanaman ini adalah latosol, podsolik, dan andosol di dataran tinggi. (Busono dan Dini, 2015). Budidaya tanaman stevia di Indonesia telah di coba di beberapa daerah yang memiliki ketinggian tempat 1000 meter di atas permukaan laut (mdpl) seperti di daerah Tawangmangu, Sukabumi, Garut, Bengkulu, Jawa Timur, dan Sulawesi Selatan (Rukmana, 2003).

2.1.2. Kultur jaringan stevia

Kultur jaringan atau teknik propagasi mikro, yaitu suatu metode pengembangbiakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman yang aseptik, pada media dan lingkungan aseptik, sehingga bagian tanaman tersebut akan tumbuh dan berkembang membentuk tumbuhan yang lengkap dan identik dengan induknya. Menurut Dewanti (2018) kultur jaringan memiliki beberapa kelebihan yaitu untuk memperbanyak massal, waktu yang dibutuhkan relatif singkat, tidak tergantung

musim, bebas penyakit, memudahkan transportasi, dapat digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder, dan menyimpan plasma nutfah.

Keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan tanaman dengan teknik kultur *in vitro* dipengaruhi oleh, antara lain: sumber bahan tanam yang digunakan sebagai eksplan, media, hormon pertumbuhan sebagai zat pengatur tumbuh dan lingkungan (Basri, 2016). Eksplan adalah pengertian untuk bahan tanam awal yang digunakan dalam mikropopagasi. Eksplan dapat berupa sel (kultur sel), protoplas (kultur protoplas), epidermis, empulur (kultur jaringan), meristem apikal atau lateral (kultur meristem), tunas apikal maupun lateral (kultur tunas), serta irisan batang, daun maupun akar (kultur organ) (Dwiyani, 2015).

Keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan tanaman stevia dengan teknik kultur *in vitro* salah satunya dapat dilihat pada penelitian Rahmawati dkk. (2020) pada eksplan tunas tanaman stevia akhir pengamatan (30 HST) menunjukkan bahwa adanya interaksi antara konsentrasi media MS dan hormon auksin dalam memacu kemunculan akar. Menghasilkan jumlah akar tertinggi dengan rata-rata 4,23 terdapat pada perlakuan NAA dengan modifikasi media 1/2 MS.

Arlianti, Syahid, & Kristina (2013) melakukan penelitian stevia dengan induksi perakaran pada media MS dengan beberapa hormon auksin (IAA, IBA dan NAA) dimana hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur NAA lebih efektif menginduksi stevia secara *in vitro* pada konsentrasi 0,2 mg/l, dengan jumlah akar tujuh sampai delapan per tanam.

Penelitian Parnidi dan Ridhawati (2020) melaporkan mikropopagasi pada tanaman stevia. Dengan induksi tunas setevia menggunakan media MS dengan penambahan ZPT BAP berbagai konsentrasi. Didapatkan hasil media perakaran terbaik pada perlakuan media MS + IAA 1 mg/l yang mampu menginduksi perakaran lebih cepat, menghasilkan jumlah akar yang lebih banyak dan akar yang lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan lain.

2.1.3. Organogenesis

Organogenesis dalam kultur jaringan adalah proses terbentuknya organ dari jaringan eksplan secara langsung, maupun secara tidak langsung (melalui fase

kalus) (Dwiyani, 2015). Pada dasarnya, regenerasi tanaman melalui organogenesis dibedakan menjadi 3 tipe, yaitu:

- a) Organogenesis secara langsung dari eksplan yang memiliki primordia tunas dapat terjadi jika jaringan eksplan yang digunakan memiliki bakal tunas (*pre-existing shoots*) yang belum muncul ke permukaan. Tunas apikal (*apical buds*), tunas lateral (*laterally buds*), dan irisan buku/ruas pada batang (*nodal segment*) dapat dijadikan bahan eksplan dengan penambahan hormon sitokinin pada media kultur untuk induksi tunas dan memunculkan tunas-tunas tersebut, tidak hanya satu tunas tapi proliferasi sehingga muncul tunas dalam jumlah banyak.
- b) Organogenesis secara langsung dari eksplan yang tidak memiliki bakal tunas dapat terjadi jika tunas muncul secara langsung misalnya dari irisan daun. Misalnya, tunas-tunas kecil dapat tumbuh secara langsung dari irisan daun anggrek *Vanda tricolor* yang ditanam pada media dasar MS tanpa hormon. Selanjutnya tunas-tunas tersebut disubkultur ke media untuk induksi akar untuk menghasilkan plantlet.
- c) Organogenesis secara tidak langsung terjadi jika organ yang terbentuk (dalam hal ini tunas) terjadi melalui fase kalus. Contohnya adalah pada kultur umbut kelapa sawit.

2.1.4. Media DKW

Media Driver and Kuniyuki Walnut (DKW) merupakan media kultur jaringan yang banyak digunakan, termasuk untuk *Stevia rebaudiana*, karena kandungan hara makro dan mikro yang lebih tinggi dibandingkan media MS. Media ini tersedia dalam dua formulasi, yaitu 1 DKW dan ½ DKW. Pada 1 DKW, unsur nitrogen (N), fosfor (P), kalsium (Ca), magnesium (Mg), dan sulfur (S) berada pada konsentrasi tinggi, disertai kadar Zn^{++} hampir dua kali lipat dari MS serta kandungan Ni^{+} yang berperan dalam metabolisme nitrogen (Driver, 1986). Komposisi tersebut membuat 1 DKW lebih efektif untuk regenerasi adventif, pembentukan akar, dan pertumbuhan tunas, terutama pada tanaman berkayu atau yang membutuhkan nutrisi tinggi. Roostika, Darwanti, dan Mariska (2016) menunjukkan bahwa DKW

memberikan respons *in vitro* terbaik dibanding media lain pada kultur tanaman purwaceng.

. Sebaliknya, media $\frac{1}{2}$ DKW memiliki konsentrasi nutrisi lebih rendah sehingga tekanan osmotiknya lebih ringan bagi eksplan. Kondisi ini membantu mengurangi stres fisiologis, browning, dan kerusakan jaringan, terutama pada eksplan sensitif atau pada tahap awal kultur. Media $\frac{1}{2}$ DKW juga sering lebih efektif mendorong organogenesis langsung karena kadar ion yang tidak terlalu tinggi memungkinkan sel beradaptasi dan berdiferensiasi lebih cepat tanpa pembentukan kalus berlebihan. Kombinasi auksin rendah, seperti IAA, pada $\frac{1}{2}$ DKW dilaporkan dapat mempercepat pembentukan tunas, sejalan dengan Gaspar, Kevers, dan Penel (2003) yang menyatakan bahwa media berkekuatan rendah dapat menurunkan stres metabolik dan meningkatkan regenerasi organ. Komposisi media DKW tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Media Driver dan Kuniyuki Walnut (DKW)

Komponen	Media DKW	
Unsur Makro	mg/l	mg/M
NH ₄ NO ₃	1416	17,7
MgSO ₄	361,49	3
KNO ₃	-	-
KH ₂ PO ₄	265	1,95
KCl	-	-
K ₂ SO ₄	1559	18
CaCl ₂	112,5	1,01
Ca(NO ₃) ₂ .2H ₂ O	1664,64	8,3
Unsur Mikro	mg/l	μM
ZnSO ₄ H ₂ O	17	72,19
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,39	1,61
MnSO ₄ H ₂ O	33,8	200
KI	-	-
H ₃ BO ₃	4,8	77,63
FeNaEDTA	44,63	121,61
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,25	1
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	-
Vitamin	mg/l	μM
Glycine	2	26,64
Myo-Inositol	100	554,94
Nicotinic acid	1	8,12
Pyridoxine-HCl	-	-
Thiamine-HCl	2	5,93

Sumber: Driver dan Kuniyuki Walnut (1984)

Zuyasna (2013) melakukan penelitian pada tanaman kakao. Dari hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa zat pengatur tumbuh pikloram dengan media DKW mampu menumbuhkan embrio somatik dari bagian staminodia berbagai genotipe eksplan kakao yang adaptif di Aceh.

Hasil penelitian Azzahra, Saptadi, dan Mariana (2018) pada perbanyakan tanaman apel (*Malus* sp) batang bawah dengan perlakuan dua media dan konsentrasi ZPT yang berbeda untuk menghasilkan kalus dari eksplan yang digunakan. Zat pengatur tumbuh yang digunakan pada penelitian ini adalah BA dan GA3, berdasarkan hasil yang di dapatkan bahwa konsentrasi 0,5 BA mg/l + 0,1 GA3 mg/l menghasilkan jumlah kalus dengan persentase tertinggi pada media DKW. Pada media DKW dengan 0,5 mg/L BA + 0,1 mg/L GA3 mengalami proses pertumbuhan kalus yang paling tinggi dengan persentase 96% lebih besar dari media MSV.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ajijah (2016), mengenai pembentukan embrio somatik kakao. Mendapatkan hasil persentase pembentukan kalus kakao klon ICCRI 4 paling tinggi diperoleh pada penggunaan eksplan staminoid menggunakan media dasar DKW (92,5%), diikuti eksplan mahkota bunga pada media dasar DKW (90%). Sementara itu, persentase pembentukan embrio somatik dan jumlah embrio somatik paling tinggi diperoleh pada penggunaan eksplan mahkota bunga, juga pada media DKW (36,5% dan 2,3 embrio per eksplan). Penggunaan media dasar DKW pada media induksi kalus primer dengan eksplan mahkota bunga lebih direkomendasikan untuk menginduksi pembentukan embrio somatik pada klon kakao ICCRI 4.

Mirah dkk. (2021) melaporkan penelitian tentang konsentrasi sitokinin dan jenis media terhadap pertumbuhan eksplan buku stevia tetraploid. Dari pengamatan penelitian didapatkan hasil bahwa penambahan BAP 1 mg/L pada media DKW menghasilkan tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah tunas lateral lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Kontrol pada media DKW menghasilkan jumlah akar lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya.

2.1.5. Zat pengatur tumbuh auksin (IAA dan IBA)

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan. Zat pengatur tumbuh dalam media kultur sangat berperan penting karena perannya dalam membantu pembelahan dan perkembangan sel serta meningkatkan metabolisme dalam tubuh eksplan (Hapsoro dan Yusnita, 2018).

Umumnya ada dua zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan dalam kultur *in vitro*, yakni auksin dan sitokinin. Dalam penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur *in vitro* tergantung pada arah pertumbuhan jaringan tanaman yang diinginkan. Untuk pembentukan tunas digunakan sitokinin, sedangkan untuk pembentukan akar atau pembentukan kalus digunakan auksin. Pada masing-masing tanaman tidak sama jenis serta konsentrasi zat pengatur tumbuhnya karena tergantung pada genotipe serta kondisi fisiologi jaringan tanaman.

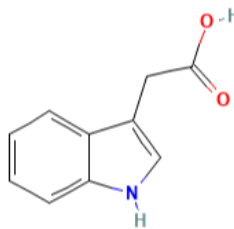
Pengaruh zat pengatur tumbuh untuk perbanyakan tanaman dengan memacu pertumbuhan akar adalah auksin. Auksin memiliki peran ganda tergantung pada struktur kimia, konsentrasi, dan jaringan tanaman yang diberi perlakuan. Auksin digunakan untuk menginduksi pembentukan kalus, kultur suspensi, dan akar, yaitu dengan memacu pemanjangan dan pembelahan sel di dalam jaringan kambium (Lestari, 2011). Dengan rasio auksin yang lebih tinggi dari sitokinin akan menstimulasi terbentuknya akar, sedangkan rasio sitokinin yang lebih tinggi dari auksin akan menginduksi terbentuknya tunas. Jika auksin dan sitokinin pada konsentrasi yang sama maka akan terbentuk kalus. (Dwiyani, 2015). Pemberian konsentrasi auksin eksogen yang rendah akan meningkatkan pembentukan akar, sedangkan konsentrasi auksin yang tinggi akan menghambat pembentukan akar (Hutapea, Isda, & Fatonah, 2013). Zat pengatur tumbuh golongan auksin yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* adalah: indole-3- acetic acid (IAA) dan indole butyric acid (IBA) (Basri, 2016).

a) IAA

IAA adalah satu-satunya auksin alami atau sintesis yang ditemukan pada tumbuhan. Auksin lainnya adalah auksin sintetik dengan mekanisme kerja yang

mirip dengan auksin endogen (Torres, 1989). IAA merupakan auksin yang berperan dalam pembesaran sel, menghambat pertumbuhan tunas samping, merangsang terjadinya absisi, berperan dalam pembentukan jaringan xilem dan floem, serta berpengaruh terhadap pemanjangan dan perkembangan akar (Herlina dkk, 2016).

Dalam kultur jaringan stevia, penggunaan IAA sebagai hormon perangsang akar sangat penting, terutama pada tahap aklimatisasi setelah pembentukan tunas. Penambahan IAA pada media MS (Murashige and Skoog) dapat meningkatkan jumlah akar, panjang akar, serta kualitas bibit yang dihasilkan. Penelitian oleh Putri, Yani, dan Harahap (2020) menunjukkan bahwa pemberian IAA sebesar 1–2 mg/L dalam media MS dapat secara signifikan meningkatkan keberhasilan perakaran eksplan tunas stevia.



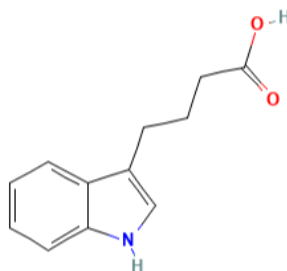
Gambar 2. Struktur Molekul IAA
(Sumber: National Center for Biotechnology Information, 2023)

b) IBA

Auksin IBA atau NAA memiliki efektivitas lebih kuat daripada IAA, umumnya digunakan untuk merangsang pembentukan akar atau bersamaan dengan sitokinin untuk merangsang pembentukan kalus (Hapsoro dan Yunita, 2018). IBA (Indole Butyric Acide) adalah jenis auksin yang lebih efisien dalam menstimulasi perakaran dibandingkan dengan IAA. Secara komersial IBA telah diketahui sebagai auksin utama yang digunakan dalam induksi akar adventif (Farida dan Muslihatin, 2017).

Dalam kultur *in vitro* stevia, pemberian hormon IBA sangat berperan pada tahap perakaran eksplan. Setelah proses induksi dan multiplikasi tunas yang biasanya menggunakan sitokinin (seperti BAP), eksplan tunas kemudian ditransfer ke media dengan tambahan IBA untuk merangsang pembentukan akar. Beberapa penelitian melaporkan bahwa pemberian IBA dengan konsentrasi antara 0,5–2,0

mg/L mampu meningkatkan jumlah akar, panjang akar, dan persentase eksplan yang berhasil berakar (Rafiq, Dahot, & Mangrio, 2007; Putri, Fajriyah, & Sari, 2021).



Gambar 3. Struktur Molekul IBA
(Sumber: National Center for Biotechnology Information, 2023)

2.2. Kerangka pemikiran

Perbanyakan tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) secara umum masih dilakukan melalui biji dan stek, namun metode tersebut memiliki beberapa kendala, antara lain daya kecambah biji yang rendah, pertumbuhan tanaman yang tidak seragam, serta keterbatasan jumlah bahan tanam vegetatif. Kondisi tersebut menyebabkan perbanyakan stevia secara konvensional menjadi kurang efektif dalam mendukung pengembangan stevia secara berkelanjutan. Oleh sebab itu, diperlukan suatu teknik perbanyakan yang mampu menghasilkan bibit stevia yang lebih cepat, efisien, serta tidak bergantung pada musim, salah satunya dengan teknik kultur jaringan. Dengan teknik kultur jaringan, jumlah tanaman baru yang dihasilkan dari satu sumber eksplan dapat mencapai puluhan hingga ratusan tanaman, sehingga metode ini berpotensi digunakan sebagai teknik perbanyakan stevia secara *in vitro* (George dkk., 2008).

Kultur jaringan tanaman adalah suatu teknik dimana menumbuhkan sel atau jaringan tanaman di laboratorium pada media buatan yang mengandung unsur hara steril sehingga diperoleh tanaman utuh (Dwiyani, 2015). Perbanyakan tanaman dalam kultur jaringan dapat dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis (Purnamaningsih, 2002). Dwiyani (2015) menyatakan organogenesis adalah proses pembentukan propagul berupa organ. Keunggulan organogenesis adalah kemungkinan terjadinya mutasi rendah, metode ini lebih

mudah dan tidak memerlukan subkultur berulang-ulang, sehingga daya regeneratif kalus tidak terpengaruh (Purnamaningsih, 2006).

Dalam teknik kultur jaringan, Media kultur jaringan berperan penting sebagai sumber unsur hara dan zat pendukung pertumbuhan eksplan. Komposisi unsur hara, vitamin, gula, asam amino, dan zat pengatur tumbuh menentukan keberhasilan pertumbuhan dan diferensiasi eksplan secara *in vitro*, sehingga media harus memiliki keseimbangan nutrisi sesuai kebutuhan fisiologis eksplan untuk mendukung pembelahan dan pemanjangan sel secara optimal. Salah satu media yang bagus digunakan untuk tanaman stevia adalah media Driver dan Kuniyuki Walnut (DKW), karena memiliki kandungan unsur hara makro dan mikro yang lebih tinggi dibandingkan media MS (Mirah dkk., 2021). Namun, konsentrasi unsur hara yang terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan eksplan, terutama jika dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh yang beraktivitas tinggi (Roostika, Mariska, dan Purnamaningsih, 2005). Oleh karena itu, modifikasi konsentrasi media melalui penggunaan media $\frac{1}{2}$ (*half strength*) perlu dipertimbangkan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa media MS $\frac{1}{2}$ (*half strength*) menghasilkan pertumbuhan eksplan yang lebih baik dibandingkan media penuh (*full strength*) (Purwanto, Purwantono, dan Madin, 2007; Rahmawati dkk., 2020). Media DKW yang tersedia dalam konsentrasi $\frac{1}{2}$ DKW dan 1 DKW memungkinkan penyesuaian kebutuhan nutrisi eksplan sesuai fase pertumbuhan, sehingga diharapkan mendukung pertumbuhan stevia secara optimal.

Selain media, zat pengatur tumbuh (ZPT) merupakan faktor penting yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Salah satu ZPT yang berperan besar dalam kultur jaringan adalah auksin. Auksin berfungsi mengatur pembelahan dan pemanjangan sel, serta berperan penting dalam induksi pembentukan akar dan kalus (Pierik, 1987). Jenis auksin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan adalah Indole-3-acetic acid (IAA) dan Indole-3-butyric acid (IBA). IAA merupakan auksin alami yang memiliki aktivitas fisiologis tinggi dalam merangsang pertumbuhan dan diferensiasi jaringan, namun kurang stabil karena mudah terdegradasi. Oleh karena itu, penggunaan IAA pada konsentrasi rendah hingga sedang dinilai lebih efektif dalam mendukung pertumbuhan eksplan tanpa menimbulkan stres fisiologis

(Nissen dan Sutter, 1990). Sedangkan IBA merupakan auksin sintetik yang lebih stabil dan efektif dalam menginduksi pembentukan akar karena mampu bertahan lebih lama dalam jaringan tanaman dan secara perlahan diubah menjadi IAA aktif (Epstein dan Ludwig-Müller, 1993).

Berbagai hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh nyata dari kombinasi auksin dan media terhadap pertumbuhan stevia secara *in vitro*. Heryanto, Soegihardjo, dan Purwijantiningih (2014) menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) terbaik terdapat pada perlakuan medium IBA 2 mg/l + 2 BAP 2 mg/l. Sementara itu, Sumaryono dan Sinta (2011) melaporkan multiplikasi tunas stevia terbaik pada medium dengan IAA 0,35 mg/L + BA 1,12 mg/L. Avivi, Mohammad, Setiyono, dan Rifngatul (2022) melaporkan induksi tunas yang baik yaitu perlakuan (IAA 0,3 mg/l + BAP 2 mg/l + kotiledon) memunculkan tunas dan kalus dengan cepat pada tanaman tomat.

Rahmawati dkk. (2020) melaporkan bahwa penambahan IAA 0,2 mg/L pada media $\frac{1}{2}$ MS menghasilkan jumlah dan panjang akar stevia yang lebih baik dibandingkan IBA 0,2 mg/L. Arlianti dkk. (2013) pengaruh auksin IAA dan IBA pada ekplan tunas tanaman stevia secara *in vitro* menunjukkan bahwa pemberian zat pengatur tumbuh IBA lebih baik menginduksi akar stevia secara *in vitro* pada konsentrasi 0,2 mg/l daripada zat pengatur tumbuh IAA. Selain itu, Guruchandran dan Sasikumar (2013) menyatakan bahwa konsentrasi IAA 1,5 mg/L memberikan respon akar stevia terbaik secara *in vitro*.

Pengaruh pengurangan komposisi media juga dilaporkan oleh Asmono dan Lestari (2020), pada penggunaan media $\frac{1}{2}$ MS (*half strength*) menghasilkan tinggi tunas stevia rata-rata 6,07 cm dan panjang akar 17,50 cm, sedangkan pada media MS 0 (*full strength*) hanya menghasilkan tinggi tunas 2,90 cm dan panjang akar 8,61 cm. Hal ini menunjukkan bahwa pengurangan kekuatan media mampu meningkatkan pertumbuhan vegetatif tanaman.

2.3. Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Pemberian kombinasi hormon zat pengatur tumbuh auksin dan media DKW berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) secara *in vitro*.
2. Terdapat salah satu kombinasi hormon zat pengatur tumbuh auksin dan media DKW yang terbaik terhadap pertumbuhan eksplan tanaman stevia (*Stevia rebaudiana*) secara *in vitro*.