

92
FAR

**LAPORAN PENELITIAN
PEMANFAATAN TANAMAN STEVIA REBAUDIANA BERTONII M
SEBAGAI SUMBER BAHAN PEMANIS**

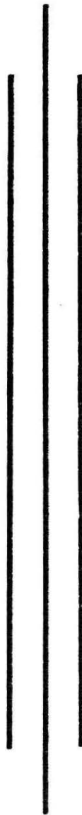
1982 - 1983



**PUSAT PENELITIAN FARMASI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
J A K A R T A**

LAPORAN PENELITIAN
PEMANFAATAN TANAMAN STEVIA REBAUDIANA BERTONII M
SEBAGAI SUMBER BAHAN PEMANIS

1982 — 1983



PUSAT PENELITIAN FARMASI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
J A K A R T A

PERSONALIA PENELITIAN

Susunan personalia pada Penelitian Pemanfaatan Tanaman Stevia rebaudiana Bertoni¹ M sebagai Sumber Bahan Pemanis sesuai Surat Keputusan Pemimpin Proyek Penelitian Farmasi/Kepala Pusat Penelitian Farmasi No. 359/BPPK/SK/V/04/82 tanggal 22 April 1982 adalah sebagai berikut :

Ketua Pelaksana : Drs. Johnny Ria Hutapea

Peneliti Utama : Drs. Djumidi

Peneliti : Dra. Umi Kadarwati
Drs. Bambang Wahjoedi
Drs. Sutjipto

Pembantu Pelaksana : Sugeng Sugiarto B.Sc.
Soerahso
Suwarni
Sri Djuliani
Herawati Gultom

Pembantu Administrasi : Elfrieda Purba

Tenaga Ahli : Ir. Yaya Soenarya

Sehubungan dengan tugas belajar atas nama Drs. Bambang Wahyoedi, maka susunan personalia di atas mengalami perubahan sesuai Surat Keputusan Pemimpin Proyek Penelitian Farmasi/Kepala Pusat Penelitian Farmasi No. 995/BPPK/SK/V/12/82 tanggal 8 Desember 1982, sebagai berikut :

Drs. Bambang Wahyoedi diganti oleh Drs. Janahar Murad.

PENGANTAR

Tulisan ini berisikan seluruh kegiatan yang dilaksanakan serta hasil-hasil yang diperoleh pada Penelitian pemanfaatan Stevia rebaudiana Bertoni M sebagai sumber bahan pemanis yang dilakukan di Pusat Penelitian Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Dep.Kes. R.I.

Sebahagian dari hasil yang diperoleh pernah disampaikan pada Kongres Ilmiah ke IV ISFI tahun 1983 di Jakarta, sehingga tidak lagi diuraikan secara terperinci dalam tulisan ini.

Dengan selesainya tulisan ini makin lengkaplah informasi tentang keadaan tanaman Stevia rebaudiana Bertoni M di Indonesia, yang berarti makin lengkap pulalah bahan untuk usaha realisasi pemanfaatan tanaman ini seperti yang diharapkan.

Materi hasil selengkapnya termasuk tanaman dan kristal zat manis yang diisolasi ada di Balai Penelitian Tanaman Obat, Puslit Farmasi, Tarungmangu.

Sekalipun telah diusahakan semaksimal kemampuan, kemungkinan kesalahan dan kekurangan selalu ada. Untuk itu tanggapan dan saran demi perbaikan akan diterima dengan senang hati.

Harapan kami semoga buku ini bermanfaat bagi mereka yang berminat terhadap tanaman Stevia.

Pemulis

26 Juli 1983

ABSTRAK

Dalam usaha pemanfaatan sumber bahan alam nabati untuk pengadaan zat pemanis serta mendukung Pelaksanaan Obat Nasional, pemanfaatan tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni M sebagai sumber bahan pemanis, memberi harapan potensial yang dapat dikembangkan di Indonesia.

Dalam kaitan itu pengetahuan mengenai pengadaan bahan, farmakognosi, keamanan, metoda isolasi zat pemanis dan lain-lainnya sangat diperlukan.

Untuk itu dilakukan penelitian Pemanfaatan tanaman *Stevia rebaudiana* Bertoni M dengan meneliti budidaya tanamannya, pengolahan lepas panen serta isolasi zat pemanis termasuk identifikasi bahan dan hasil isolasi, penetapan rasa dan daya racun akut serta daya racun subkronik.

Diperoleh hasil :

Budidaya umum menghasilkan produksi daun 3,42 ton/ha, kristal berwarna putih gading hasil isolasi 5,026 % dari daun dengan kekeringan 11,56 % kadar air dan rasa manis berkisar 200 - 350 kali gula biasa (sukrosa) serta secara akut daun *Stevia* aman ("Practically non toxic") dan secara subkronik pada tikus tidak berindikasi membahayakan.

DAFTAR ISI

J U D U L

SUSUNAN ANGGOTA PENELITI

DAFTAR ISI

PENGANTAR 1

A B S T R A K 11

I. PENDAHULUAN 4

1. Latar belakang dan kerangka pemikiran
2. Permasalahan
3. Hipotesa
4. Tujuan Penelitian
5. Kegunaan hasil penelitian

II. BAHAN DAN CARA 4

1. B a h a n
2. Metoda pelaksanaan

III. H A S I L 8

1. Budidaya
2. Pengolahan lepas panen
3. Hasil penetapan rasa manis kristal
4. Hasil penetapan LD₅₀

IV. D I S K U S I 22

DAFTAR PUSTAKA 23

UCAPAN TERIMA KASIH 24

DAFTAR TABEL

1. Hasil panen daun (gram).	8
2. Perubahan berat bahan pada penjemuran dengan sinar matahari langsung.	9
3. Kadar air daun setelah pengeringan	10
4. Kadar air daun segar	10
5. Golongan kimia yang terkandung dalam daun Stevia.	15
6. Kadar hasil isolasi kristal zat manis.	15
7. Khromatografi lapisan tipis kristal hasil isolasi dan ekstrak serbuk daun Stevia.	16
8. Khromatografi lapisan tipis kristal hasil isolasi.	18
9. Penetapan rasa manis ekuivalen dengan larutan gula (sukrosa).	19
10. Hasil pemeriksaan pada tikus percobaan.	20

DAFTAR LAMPIRAN

1. Spesifikasi lahan dan data cuaca.	I
2. Skema prosedur isolasi zat manis dari daun Stevia.	III
3. Hasil panen herba (gram).	IV
4. Identifikasi kualitatif kristal zat manis.	V
5. Reaksi kristal di bawah mikroskop.	VII
6. Pemberian pupuk.	VIII
7. Rancangan percobaan daya racun subkronik pada tikus.	VIII

I. PENDAHULUAN

1. Latar belakang dan kerangka pemikiran.

Oleh sebahagian penduduk yang tinggal di beberapa daerah Kabupaten Karanganyar, Surakarta sering digunakan bahagian daun dari satu jenis tanaman untuk memberi rasa manis dalam minuman dan makanan mereka yang dibarengi dengan pendapat tidak berbahaya bagi yang berpenyakit gula. Tanaman ini mereka kenal sejak pertengahan tahun 1960 an.

Pada pelaksanaan Inventarisasi Tanaman Obat di Balai Penelitian Tanaman Obat, Pusat Penelitian Farmasi (1), sekaligus dilakukan uji pendahuluan terhadap jenis tanaman tersebut. Ternyata tanaman dimaksud dikenal dengan nama *Stevia rebaudiana Bertoni M.*, yang merupakan bahan perhatian para ahli selubung dengan usaha mencari zat pemanis baru. Tanaman *Stevia rebaudiana Bertoni M.*, dikatakan berasal dari Amerika Latin di daerah Brasil, Paraguay dan sekitarnya (2,3).

Penelitian yang pernah dilakukan menyebutkan bahwa zat pemanis yang diperoleh dari tanaman tersebut mempunyai rasa 200 - 300 kali gula biasa serta berkalori rendah (4,5). Tidak mengganggu rasa minuman sirop (6) dan relatif tidak berbahaya serta telah dipasarkan di Jepang, Taiwan dan Korea (7,8).

Dalam hal pengadaan bahan melalui perbanyakan tanaman dilakukan dari biji atau sobekan tanaman. Oleh karena biasanya bijinya steril dan sukar dibibitkan, maka perbanyakan tanaman untuk maksud penggunaan skala besar digunakan cara penyobekan tanaman (9).

Zat manis yang terkandung pada tanaman *Stevia* lebih terkonsentrasi pada bahagian daunnya (5). Daun ini mengandung antara lain glykosida-diterpen dimana steviosida, Rebaudiosida A dan Rebaudiosida C (Dulcosida B merupakan kandungan dalam jumlah yang relatif terbanyak (10).

Negara Indonesia dalam memenuhi kebutuhan zat pemanis sebagian besar masih harus mengimpor dengan biaya yang tidak sedikit. Zat pemanis yang umum digunakan baik untuk makanan dan minuman maupun obat-obatan adalah gula biasa (sukrosa), sakarin dan sodium siklamat.

Memenuhi kebutuhan zat pemanis dalam negeri, Pemerintah secara terus menerus melakukan berbagai usaha.

Terdorong dari gambaran hasil penelitian yang pernah dilakukan dan hal lainnya seperti tersebut di atas, tanaman *Stevia rebaudiana* Bertonii M merupakan bahan yang sangat menarik dan potensial serta mempunyai prospek yang dapat diharapkan untuk dimanfaatkan sebagai sumber bahan pemanis. Keadaan ini sekaligus dapat digunakan untuk pengganti atau substitusi Sakarin dan Sodium siklamat yang akhir-akhir ini mulai diragukan keamanannya terhadap tubuh manusia.

2. Permasalahan.

Salah satu karya dalam Pembangunan Nasional di bidang kesehatan adalah Kebijakan mengenai obat dalam arti luas, dengan sasaran antara lain menuju swasembada dalam pengadaannya (11).

Dalam kaitan sasaran bahan dan atau obat untuk dimanfaatkan, Kebijakan Obat Nasional menyebutkan berbagai langkah penanganan diperlukan agar dapat dicapai hasil berdaya guna dan berhasil guna (12).

Bertitik tolak dari kebijakan tersebut, dalam hubungan pemanfaatan tanaman *Stevia rebaudiana* Bertonii M sebagai sumber bahan pemanis berbagai hal harus diteliti, karena masih belum diketahui.

Pengalaman sementara menunjukkan dari tanaman yang masih dapat diperoleh dari lahan-lahan, dilakukan perbanyakan menggunakan benih yang dibiakkan, namun hasilnya belum memuaskan.

Isolasi zat pemanis dari tanaman tersebut dikatakan memberi hasil terbaik dengan menggunakan pelarut metanol sekalipun masih sukar untuk memperoleh bentuk kristalnya (13).

Pengalaman dari segi pengadaan dan kelestarian sumber dikaitkan dengan kondisi alam Indonesia, demikian juga mutu bahan dan data untuk kontrol kualitas, keamanan dalam penggunaan serta efisiensi dalam penggunaan dari segi sari zat pemanis dari tanaman sumber merupakan masalah yang memerlukan pengungkapan.

Dari uraian-uraian di atas, terlihat bagaimana langkah pemanfaatan *Stevia* dapat dilakukan, setelah melalui beberapa hal yang terlebih dahulu harus dan perlu diketahui.

3. Hipotesis

Memperhatikan sifat dan potensi terkandung dari tanaman *Stevia rebaudiana* Bertonii M seperti telah diuraikan sebelumnya dan dikaitkan dengan usaha mendukung Kebijakan Obat Nasional serta bertitik tolak pada pandangan memenuhi syarat sebagaimana umumnya mencari bahan/obat baru, dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

Tanaman *Stevia rebaudiana* Bertonii M dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan pemanis dengan tersedianya bahan, baik tanaman sebagai bahan baku maupun zat pemanis dan dapat teridentifikasi serta aman dalam penggunaannya.

4. Tujuan penelitian

Melihat latar belakang permasalahan, keadaan alam Indonesia sebagai sumber bahan alam dan keadaan-keadaan lainnya, penelitian ini dilahirkan dengan tujuan :

Pemanfaatan sumber bahan alam nabati dalam rangka mencukupi jumlah kebutuhan zat pemanis sebagai bahan untuk pemeliharaan dan peningkatan kesehatan yang sekaligus diharapkan dapat sebagai pengganti Sakarin dan Sodium siklamat.

Tujuan yang lebih khusus ialah :

Pemanfaatan *Stevia rebaudiana* Bertonii M sebagai sumber bahan pemanis meliputi penelitian pembibitan dan kultivasi tanaman, isolasi zat manis, identifikasi dan segi aman dalam pemakaiannya.

5. Kegunaan hasil penelitian

Disamping mencapai pembuktian dan menjawab hipotesis yang diajukan, kegunaan dari hasil yang diperoleh adalah, langkah pemanfaatan serta pengembangan selanjutnya dapat ditetapkan, yang jelas amat berguna dikaitkan dengan program Pembangunan di bidang Kesehatan terutama di dalam kebijaksanaan pengadaan/ melengkapi bahan dan obat. Selain itu data-data yang diperoleh dapat membantu Lembaga Pengawas yakni Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan dalam memberi izin produksi kepada masyarakat produsen.

II. BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental di lapangan dan di laboratorium.

1. Bahan

Bahan/sarana yang digunakan :

- a. Lahan kebun seluas 400 m² pada ketinggian 1.700 m dpl.
- b. Bibit tanaman Stevia hasil sobekan umur 15 hari dan biji.
- c. Tikus jantan berat 100 - 150 g dan mencit berat 20 - 25 g.
- d. Pupuk N sebagai UREA (46 % Urea).
Pupuk P sebagai TSP (46 % P₂O₅).
Pupuk K sebagai KCL (60 % K₂O).
NPK (15 : 15 : 15).
Pupuk kandang.
- e. Zat-zat kimia : penyari, pengisolasi, reagensia (G.Merck).

† Alat penyari, percolator, soklet, pengup vakum, tamur pemanas, kolom kromatografi, Spektrofotometer U.V - Perkin Elmer 402.

‡ Alat untuk histopatologi dan kegiatan farmakologi.

2. Metode pelaksanaan

Pelaksanaan penelitian dibagi dalam 4 (empat) kegiatan.

1. Kegiatan kultivasi secara umum, untuk mengungkap dapat tidaknya tumbuh, sekaligus pengadaan bahan untuk pelaksanaan kegiatan penelitian. Di samping itu dilakukan penelitian perkecambahandan pembibitan.
2. Kegiatan mengetahui sifat-sifat fisik, kimia dan farmakognostik tanaman Stevia, ekstraksi, isolasi dan kristalisasi zat pemanis serta identifikasi kualitatifnya.
3. Kegiatan penetapan rasa.
4. Kegiatan mengetahui keamanan dalam pemakaian.

2.1. Kultivasi

2.1.1. Pembibitan

Percobaan pembibitan dilakukan dengan melihat daya kecambah benih dari suatu kondisi kematangan buah dari mana benih itu diambil.

Buah diambil dari tiga kali variasi panen tanaman yang diperbanyak dengan cara sobekan (sivilan) dengan tinggi tanaman 10 cm, ditanam pada sebidang lahan dan dibagi dalam 3 kelompok. Masing-masing kelompok menjadi sumber atas variasi perlakuan dan waktu panen untuk dikecambahkan dalam rangka pengadaan bibit dimaksud (14).

2.1.2. Budidaya

Sebidang lahan luas 400 m^2 (20×20) dihomoginkkan dengan jalan dicangkul 2 - 3 kali dan dikelantang. Lahan dibagi dalam 13 gulud ukuran $1 \text{ m} \times 20 \text{ m}$, jarak antar gulud $0,5 \text{ m}$ dan tinggi $0,4 \text{ m}$ masing-masing gulud.

Tujuh hari sebelum ditanam, diberi pupuk kandang sebanyak $\approx 90 \text{ Kg}$ per gulud.

Setiap gulud ditanam 100 bibit dengan jarak tanam $0,4 \times 0,4 \text{ m}$.

Bibit berasal dari sobekan tanaman (sivilan), tinggi : 10 - 11 cm, jumlah daun : 5 - 10 helai, umur : 15 hari (populasi bibit tertanam 32.500 tanaman/Ha).

Penanaman dimulai tanggal 27 April 1982.

Pemeliharaan termasuk pengairan, pendangiran dan pemupukan dilakukan pada saat dibutuhkan.

Pemupukan dilakukan sebagaimana umumnya cara dan maksud pemupukan, atas dasar situasi perkembangan tanaman.

Panen dilakukan pada waktu tanaman mulai berbunga dipagi hari pada saat matahari bersinar. Cara panen dengan memotong batang setinggi 2 cm di atas tanah. Dibersihkan kemudian ditimbang berat herba dan daun.

Melengkapi data dilakukan analisa tanah dan pengamatan cuaca (lampiran 1).

2.2. Hasil panen diolah dan dikeringkan.

- 2.2.1. Pengeringan dengan sinar matahari langsung, bahan ditempatkan pada tampah-tampah. Setiap hari setelah penyinaran bahan ditimbang. Penyinaran dihentikan apabila tidak terjadi lagi perubahan berat pada beberapa hari penyinaran secara berturut-turut.
- 2.2.2. Pemeriksaan kadar air dilakukan terhadap bahan segar dan kering menurut metode penetapan kadar air dalam Farmakope Indonesia.
- 2.2.3. Pemeriksaan morfologi-anatomi daun dan serbuk secara makroskopis dan mikroskopis.
- 2.2.4. Untuk mengetahui golongan kimia yang terkandung dalam daun dilakukan pemeriksaan terhadap ekstrak alkohol 96 % dari daun kering dengan metode tertentu (15, 16, 17, 18, 19, 20, 21).
- 2.2.5. Dengan sasaran memperoleh zat pemanis yang terkandung dalam daun uji pendahuluan beberapa metode isolasi dipelajari dan dicoba (9, 10, 22, 23, 24, 25). Disamping itu juga dilakukan variasi penyarian, yakni perkolasi, maserasi dan sokletasi, serta variasi pelarut penyari air, ethanol, methanol dan kloroform.
Uji yang dilakukan belum memberi hasil dalam bentuk kristal seperti yang diharapkan, atau/ dan memerlukan proses pengerjaan yang panjang. Untuk itu dilakukan modifikasi, sehingga disusun prosedur yang hanya menggunakan beberapa pelarut tertentu (14).
Bagan prosedur pada lampiran 2.
- 2.2.6. Kristal hasil isolasi diperiksa dengan menggunakan metode uji tetes dan kromatografi lapisan tipis dengan menggunakan berbagai pelarut pengelusi.

2.3. Penetapan Rasa

Dibuat larutan gula (sukrosa) dalam air dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200, 250, 300, 350 g/l. Tiap wadah larutan diberi tanda. Kemudian dibuat larutan dalam air 1 g/l kristal hasil isolasi (larutan A).

Penetapan rasa dilakukan oleh 10 responden, 5 laki-laki 5 perempuan satu persatu secara terpisah. Setiap responden diminta untuk menunjukkan wadah mana yang sama rasa manisnya dengan larutan A.

2.4. Untuk mengetahui keamanan bahan, dilakukan penentuan LD_{50} dan toksisitas subkronik bahan.

Digunakan sari air dari serbuk (mesh 48) daun kering Stevia.

2.4.1. Penentuan daya racun akut (LD_{50}).

Digunakan metoda Carrol S. Weil terhadap mencit secara intra peritoneal. Kematian mencit dihitung 24 jam setelah pemberian bahan. Dengan ekstraksi polasi cara Paget dan Barnes dikalikan dengan faktor risiko diperoleh LD_{50} . Statusnya bahan dapat digolongkan sesuai penggolongan Cleason (1969) (26,27,28).

2.4.2. Penentuan daya racun secara subkronik dilakukan pada sejumlah tikus jantan secara oral yang dibagi dalam 12 kelompok.

Kelompok I s/d IV diberikan bahan selama 1 bulan, kelompok V s/d VIII diberikan bahan selama 3 bulan, kelompok IX s/d XII diberikan bahan selama 6 bulan. Kelompok I, V dan IX diberikan bahan ekuivalen dengan 320mg serbuk/100 gram berat badan; kelompok III, VII dan XI menerima 3,2 mg serbuk/100 gram berat badan, dan kelompok IV, VIII dan XII hanya diberikan sebagai pelarut (larutan). Setelah waktu yang ditentukan hewan dimatikan dan diseksi serta diperiksa secara makroskopik.

Organ-organ jantung, paru-paru, hati, limpa, ginjal, usus, testis dan serat lintang diperiksa secara mikroskopis setelah diproses dan diwarnai dengan hematoksilin dan eosin.

/ kelompok II, VI dan X menerima 32 mg/100 gram berat badan.

1. Budidaya

1.1. Pada penelitian daya kecambah hasil menunjukkan perkecambahan maksimum : di rumah kaca 75 % pada ketinggian 650 m d.p.l dan di rumah kaca 65 % pada ketinggian 1.100 m d.p.l, benih berasal dari panen buah tanaman tua setelah mengalami 3 kali masa panen. (14).

1.2. Panen dilakukan setelah tanaman mulai bertunga. Polen Periode 1 tahun tanam, dapat dilakukan 4 kali masa panen ; yaitu hari ke 83 setelah bibit ditanam, seterusnya hari ke 78, 77, 75 setelah tiap panen.

Tabel 1. Hasil panen daun (gram).

Gulud Masa panen	I	II	III	IV	V	Total	Per Ha
	VI	VII	VIII	IX	X		
	XI	XII	XIII	-	-		
I. (Hari ke 83)	330,46	775,37	548,98	731,87	415,67	7775,06	194376,50
	308,75	299,18	730,82	782,50	505,16		
	689,11	763,29	893,90	-	-		
II. (Hari ke 78)	1208,99	1211,69	1010,39	1239,81	891,46	16948,67	423716,75
	1277,43	1759,63	1365,94	1093,16	1219,02		
	1336,50	1454,64	1880,01	-	-		
III. (Hari ke 77)	3378,87	1555,95	2096,82	2280,30	3058,11	57401,39	1435034,70
	4313,92	5741,01	5076,52	4645,08	5088,93		
	5880,60	8114,37	7070,91	-	-		
IV. (Hari ke 75)	3310,23	1395,04	1906,41	2123,88	2823,81	54789,76	1369744,00
	3152,29	5471,07	4812,06	4434,54	4870,93		
	5760,15	7922,11	6607,24	-	-		

Jumlah produksi daun dari 4 kali panen adalah 136,91 Kg (3,42 ton/ha).

Produksi seluruh tanaman berjumlah 199,75 atau 4993,89 Kg/ha (lampiran2).

2. Pengolahan lepas panen

2.1. Penjemuran dengan sinar matahari langsung, menunjukkan susut berat mulai konstan pada hari ke 3 setelah dijemur 11,5 jam (Tabel 2).

% rata-rata susut berat $72,38 \pm 0,63 \%$.

Tabel : 2. Perubahan berat bahan pada penjemuran dengan sinar matahari langsung. *).

Waktu		Sample (gram)				Keterangan
Hari	Jam	I	II	III	IV	
0	0	250	280	1000	1000	0 jam — bahan segar.
1.	3,5	160	162	750	760	
2.	5	90	98	580	582	
3.	3	70	75	275	282	
4.	3	70	75	275	282	
5.	3,5	70	75	275	282	
% susut berat		72 %	73,21 %	72,5 %	71,8 %	Rata-rata = $72,38 \pm 0,63 \%$

*). Dijemur hanya saat matahari bersinar.

2.2 Kadar air bahan yang telah dikeringkan rata-rata $11,56 \pm 0,91\%$ dan kadar air bahan segar rata-rata $84,55 \pm 0,54 \%$ (Tabel 3,4).

^{Stupa}
 Tabel 3 : Kadar air daun setelah pengeringan

Sample	Sample (Gram)	Pelarut (ml)	Air yang dihasilkan (ml)	Kadar air %
1.	10	100	1,1	11
2.	10	100	1,19	11,9
3.	10	100	1,0	10
4.	10	100	1,2	12
5.	10	100	1,2	12
6.	10	100	1,25	12,5

% Rata - rata = $11,56 \pm 0,91$.

^{air tawar}
 Tabel 4 : Kadar daun segar

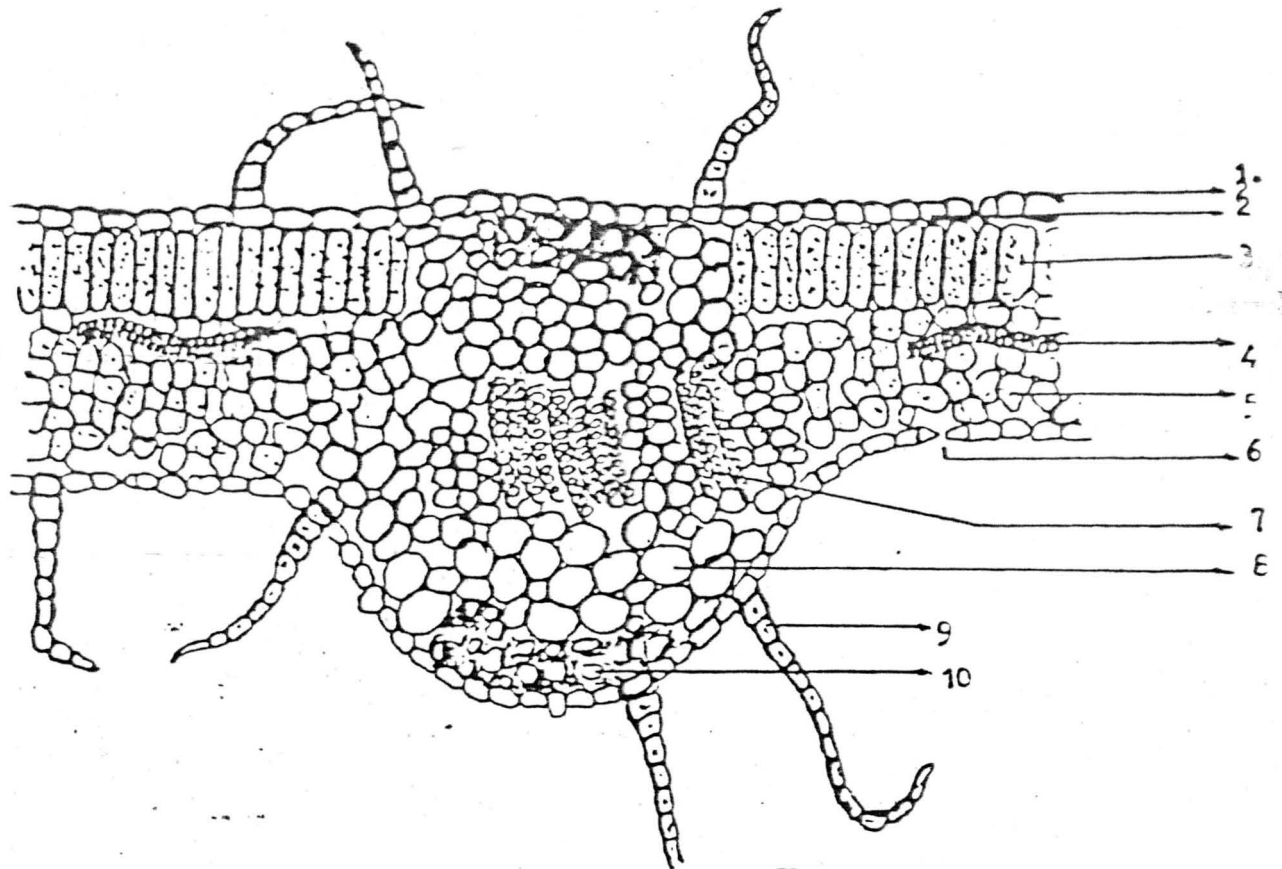
Sample	Sample (Gram)	Pelarut (ml)	Air yang dihasilkan (ml)	Kadar air %
1.	10	100	8,39	83,9
2.	10	100	8,49	84,9
3.	10	100	8,48	84,8
4.	10	100	8,52	85,2
5.	10	100	8,46	84,6
6	10	100	8,39	83,9

% Rata - rata = $84,55 \pm 0,54$.

2.3.1. Pemeriksaan morfologi -anatomi daun memberi hasil (Gambar I).

Epidermis atas	: Terdiri dari selapis sel, dengan dinding sel yang berombak cukup dalam.
Epidermis bawah	: Terdiri dari selapis sel, dinding sel sedikit berombak.
Palisade parenkim	: Terdiri satu lapis, yang tersusun beberapa sel yang memanjang membentuk seperti pagar, didalamnya terdapat bintik-bintik yang transparans. Panjang sel hampir atau sama dengan setengah dari mesofil.
Spons parenkim	: Sel-selnya hampir bulat, penuh dengan bintik-bintik transparans, jarak sel-selnya satu dengan yang lain sangat rapat.
Rambut daun	: Panjang-panjang, terdiri dari 5 - 12 sel dinding sel tebal berbintik-bintik, ujung runcing.
Mulut daun	: Permukaan atas lebih banyak dari, permukaan bawah.
Berkas pengangkut	: Dengan penebalan bentuk jala.
Jaringan penguat (Kolenkim)	: Sel-selnya dengan penebalan sudut, terletak diatas epidermis bawah dan terletak dibawah epidermis atas.

2.3.2. Morfologi-anatomi batang, dan mikroskopis serbuk daun dan batang dapat dilihat pada gambar II, III, dan IV.

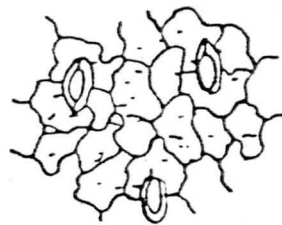


- | | |
|----------------------|----------------------|
| 1. Kutikula | 6. Mulut daun |
| 2. Epidermis atas | 7. Berkas pengangkut |
| 3. Palisade parenkim | 8. Parenkim |
| 4. Berkas pengangkut | 9. Rambut daun |
| 5. Spons parenkim | 10. Kolenkim |

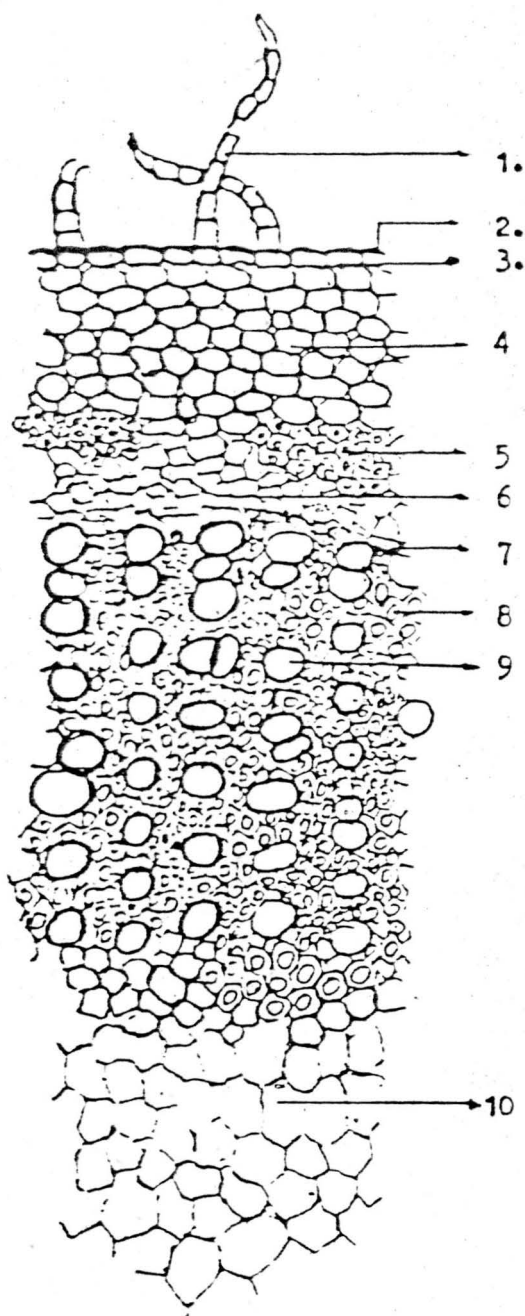
Gambar I b. Penampang epidermis dilihat dari permukaan atas/bawah.



Epidermis bawah

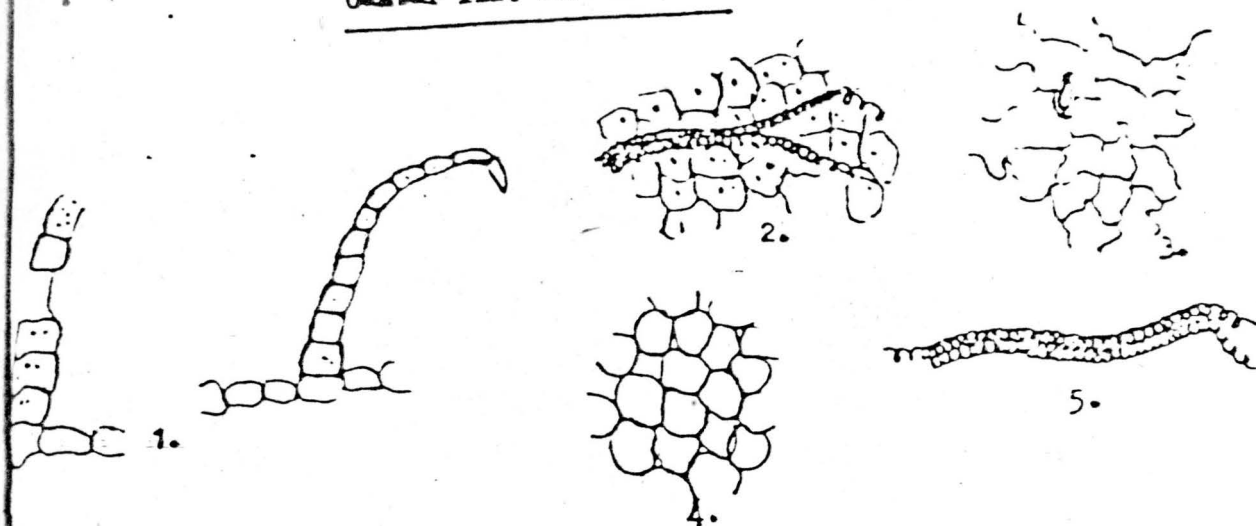


Epidermis atas



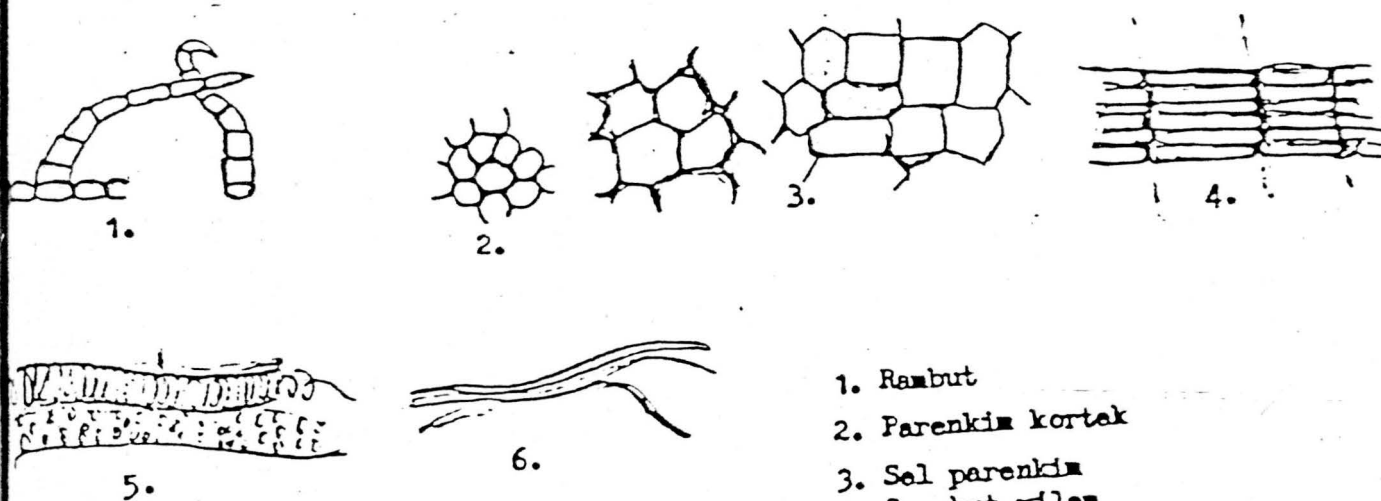
1. Rambut
2. Kutikula
3. Epidermis atas
4. Parenkim kortek
5. Sklerenkim
6. Floem
7. Kambium
8. Xilem
9. Meta xilem
10. Sel parenkim

Gambar III. Serbuk daun.



1. Rambut
2. Spons parenkim
3. Epidermis
4. Parenkim
5. Berkas pembuluh

Gambar IV. Serbuk batang.



1. Rambut
2. Parenkim kortek
3. Sel parenkim
4. Serabut xilem
5. Berkas pembuluh
6. Serabut sklerenkim

2.4. Kandungan golongan kimia yang terdapat pada daun menunjukkan adanya golongan saponin, Kardenolida, Bufadienolida, Polifenol dan Antrakinon.

Tabel 5 : Golongan kimia yang terkandung dalam daun Stevia.

Golongan kimia	Kandungan
Alkaloida	-
Saponin	+
Kardenolida Bufadienolida	+
Flavonoida	-
Tanin	-
Polifenol	+
Antrakinon	+
Glikosida sianogenik	-

+ Mengandung golongan dimaksud.

2.5. Hasil isolasi kristal zat manis dari daun Stevia pada beberapa kali ulangan.

Tabel 6. Kadar hasil isolasi kristal zat manis.

Sample	Kadar %
I	4,92
II	5,00
III	5,19
IV	5,12
V	5,00
VI	4,85
VII	5,10

*) . Kadar rata - rata = $5,026 \pm 0,119$.

4.6. Dengan pelarut pengelusi tertentu, dilihat di bawah sinar U.V ^{dan} dari Khromatografi lapisan tipis, kristal zat manis menunjukkan noda sebagai berikut (tabel 7). Identifikasi kualitatif menggunakan U.V Spektrofotometer menunjukkan panjang gelombang maksimum (λ maks) pada 202 nm dengan sel 1 cm dalam larutan 0,25 % aquadest.

Tabel 7. Khromatografi lapisan tipis kristal hasil isolasi dan ekstrak serbuk daun Stevia.

Cairan pengembang	Pewarna	Penampakan noda			
		Kristal		Ekstraksi	
		Jumlah noda	Rf	Jumlah noda	Rf
1	2	3	4	5	6
Ethyl Ac - MeOH - H ₂ O 100 : 16½ : 13½	U.V. (1)	-	-	3 Ungu	0,73
				Biru	0,79
				Merah	0,94
	Dragendorff	1 Oranye	0,03	1 Oranye	0,87
	U.V. (2)	-	-	3 Biru	0,73
				Biru	0,79
				Biru	0,94
Hexan - Aceton = 1 : 4	U.V (1)	Biru lemah	0,15	1 Biru lemah	0,18
	Pewarna Carr	-	-	-	-
	Price	-	-	-	-
	U.V. (2)	Biru lemah	0,15	1 Biru lemah	0,18
Chloroform - Methanol = 1 : 1	U.V. (1)	-	-	1 Biru kemerahan	0,29
	Pewarna Ked-de	-	-	1 Hijau ke coklatan	0,29
	U.V. (2)	-	-	1 Biru kemerahan	0,29

1	2	3	4	5	6
Benzene - Ethyl Acetat - Asam Acetat = 75 : 24 : 1	U.V (1)	-	-	5 Biru Merah Biru Merah Merah	0,32 0,36 0,41 0,75 0,81
	10 % KOH dalam Methanol	-	-	1 Hijau	0,81
	U.V. (2)	-	-	1 Hijau	0,81
Chloroform - Methanol - Air 30 : 20 : 1	U.V (1)	1 Biru	0,82	3 Biru Merah Biru	0,13 0,43 0,73
	KMnO ₄ 0,5 %	1 Biru	0,82	3 Kuning Kuning Kuning	0,13 0,43 0,73
	Amisadelhyd 10 % H ₂ SO ₄	-	-	3 Merah ke- unguan Merah ke- unguan Merah ke- unguan	0,13 0,43 0,73
	U.V. (2)	1 Biru	0,82	3 Biru Merah Biru	0,13 0,43 0,73

Tabel 8. Kromatografi lapisan tipis kristal hasil isolasi.

Eluer	Pewarna	Adsorben			
		Silica Gel HF 254		Silica Gel GF 254	
		Jumlah noda	Rf	Jumlah noda	Rf
$\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ 45 : 9 : 1	U.V. 0,5 % KMnO_4	+	-	+	-
		1	0,06	1	0,06
$\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ 160 : 70 : 20	U.V. 0,5 % KMnO_4	+	-	+	-
		2	0,09 0,20	3	0,08 0,14 0,26
$\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ 30 : 20 : 1	U.V. 0,5 % KMnO_4	+	-	+	-
		2	0,49 0,63	1	0,48
$\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ 45 : 15 : 2	U.V. 0,5 % KMnO_4	+	-	+	-
		-	-	3	0,10 0,18 0,29
$\text{CHCl}_3 - \text{MeOH}$ 17 : 3	U.V. 0,5 % KMnO_4	+	-	+	-
		1	0,06	1	0,05

Melengkapi identifikasi kualitatif kristal diperoleh dari uji tetes warna, kelarutan, warna dalam sinar U.V dan reaksi kristal (lampiran 4).

3. Hasil Penetapan rasa manis kristal menunjukkan (tabel 9).

Rasa manis kristal berkisar antara 200 - 350 kali gula biasa dimana :

10 % menyatakan 200 kali gula biasa

40 % menyatakan 250 kali gula biasa

40 % menyatakan 300 kali gula biasa

10 % menyatakan diantara 300 - 350 kali gula biasa.

Tabel 9. Penetapan rasa manis ekuivalen dengan larutan gula (Sakrosa). *)

Larutan Responden	Konsentrasi g/l air							
	25	50	100	150	200	250	300	350
1. **)						← +		
2.						← +		
3.						+ →		
4.						+ →		
5.					+ →			
6.						+ →		
7.						+ →		
8.						← +		
9.							+ →	
10.						← +		

*) . Larutan Stevia konsentrasi 1 gram/liter.

**) 1 s/d 5 laki - laki.

6 s/d 10 perempuan.

4. Hasil penetapan LD₅₀*

- 4.1. Dari percobaan, LD₅₀ yang diperoleh adalah sejumlah bahan ekuivalen dengan 79,81 mg (69,16 - 90,98 mg) serbuk tiap 10 gram mencit secara i.p. Setelah diekstrapolasi dengan cara Paget dan Barnes dan dikalikan dengan faktor risiko, maka LD₅₀ pada mencit ekuivalen dengan 558,570 mg serbuk/kg berat badan mencit secara oral.
- 4.2. Hasil percobaan pemberian bahan untuk daya racun subkronik pada tikus, sebagai berikut (tabel 10).

Tabel 10. Hasil pemeriksaan pada tikus percobaan.

	Makroskopik	Mikroskopik
Pemberian 1 bulan		
Dosis : 320 mg	-	-
32 mg	-	-
3,2 mg	-	2 ekor radang paru
0 mg	-	1 ekor radang paru
Pemberian 3 bulan		
Dosis : 320 mg		
32 mg	-	2 tikus radang paru
3,2 mg		1 tikus radang paru *)
0		-
Pemberian 6 bulan		
Dosis : 320 mg	-	-
32 mg	-	-
3,2 mg	-	-
0	-	-

*) Tanda radang paru adanya sel polimorf, limfosit dan makrofag.

Pengamatan secara makroskopik terhadap tikus yang diteliti tidak menunjukkan sesuatu.

Secara mikroskopik dapat dikonfirmasi terdapatnya tikus yang menderita radang paru, yaitu 2 tikus yang menerima 3,2 mg dan 1 tikus yang tidak menerima bahan dari kelompok pematian setelah 1 bulan.

Radang paru juga terlihat pada 2 tikus yang menerima bahan 32 mg dan 1 tikus yang menerima bahan 3,2 mg dari kelompok pada pematian setelah 3 bulan.

IV. DISEKSI

1. Dari segi budidaya yang dilakukan jenis dan pengaruh pupuk secara kuantitatif belum diketahui, disebabkan pupuk yang diberikan hanya berdasarkan penilaian keadaan tanaman pada saat diamati (lampiran 6). Demikian pula faktor jarak tanam dan waktu penanaman. Untuk meningkatkan produksi tanaman khususnya meningkatkan jumlah produksi daun, diperlukan penelitian terhadap faktor-faktor tersebut di atas. Masa panen ditetapkan pada saat tanaman mulai berbunga menghindari penurunan jumlah produksi (14).

Dalam sasaran pemanfaatan tanaman Stevia sebagai sumber zat pemanis, dengan melihat hasil yang diperoleh, bahan yang diperlukan secara pasti dapat diadakan. Namun demikian untuk menjaga kelestarian dan kesinambungan penyediaan bahan bila saatnya dibutuhkan, dihubungkan dengan keadaan hamparan alam yang sangat luas dengan berbagai ketinggian yang merupakan anugerah dari Tuhan Penciptanya kepada Bangsa Indonesia, disarankan agar dilakukan penelitian budidaya tanaman tersebut pada variasi ketinggian daerah yang memungkinkan.

2. Randemen zat manis hasil isolasi secara laboratorium $5,026 \pm 0,119 \%$ dari bahan dengan kekeringan $11,56 \pm 0,91 \%$ kadar air terkandung. Kekeringan bahan dan penjemuran merupakan faktor yang penting dalam proses pengolahan lepas panen disamping penyimpanan dan pengolahan lainnya untuk menjaga mutu bahan (29). Keringnya bahan sangat penting terutama pada penyediaan dalam jumlah banyak. Dalam penelitian ini dilakukan pengeringan dengan sinar matahari langsung. Prosedur isolasi zat pemanis yang digunakan merupakan hasil modifikasi dari beberapa prosedur, yang dititik beratkan pada perbedaan daya distribusi zat pemanis di dalam beberapa pelarut yang digunakan. Kemudian dicoba ulang dan diteliti sampai diperoleh satu metoda isolasi yang dapat memberi hasil kristal zat manis.

Dengan demikian prosedur isolasi yang digunakan (lampiran 2) merupakan satu metoda yang dihasilkan dalam penelitian ini.

3. H.B Wood dkk (9) dengan prosedur tertentu melakukan isolasi zat manis dari Stevia. Dihasilkan zat dengan randemen 7 % yang mereka namai Stevioside. Hasil yang diperoleh pada penelitian yang dilakukan sebesar 5.026 % belum ditetapkan namanya.

Disarankan agar penelitian identifikasi dan penetapan zat kimia komponen pembentuk zat pemanis dilakukan. Hal ini sangat penting untuk memantapkan langkah pengawasan, pengamanan dan mutu dalam penggunaannya.

Meningkatkan randemen zat manis terutama dalam maksud produksi, disarankan pula agar diteliti suatu prosedur isolasi yang efisien, efektif, mudah dan dengan biaya yang murah.

1. Berdasarkan Cleason dkk (1969) batas daya racun terendah adalah 15 g/kg.

Lebih dari batas tersebut dinyatakan sebagai bahan "Practically Non Toxic".

Dengan demikian daun Stevia termasuk golongan "Practically Non Toxic".

Namun tetap perlu diingat bahwa penentuan LD₅₀ dilakukan pada hewan, sehingga angka yang diperoleh merupakan pedoman.

Adanya radang paru pada tikus percobaan cenderung bukan diakibatkan oleh pemberian bahan, karena kelainan tersebut ditemui pada tikus yang hanya diberi Aquadest. Kelainan lainnya tidak ditemukan, sehingga secara subkronik pada tikus dapat disebutkan tidak ada indikasi yang membahayakan.

Dalam kaitan pemanfaatan zat pemanis disarankan agar dilakukan penelitian yang sama terhadap kristal hasil isolasi di samping penelitian keamanan lainnya.

5. Dari seluruh hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

Usaha dalam pemanfaatan Stevia rebaudiana bertonii M sebagai sumber bahan pemanis dapat dikembangkan di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas bantuan yang kami terima, sehingga penelitian ini dapat selesai kami mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Ny. Sri Sugati Syamsuhidayat, Kepala Pusat Penelitian Farmasi Litbang Kesehatan Dep. Kes. R.I atas petunjuk-petunjuk yang diberikan pada pelaksanaan penelitian.
2. Saudara-saudara staf Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan dan Pusat Penelitian Farmasi yang membantu dalam hal administratif.
3. Saudara-saudara staf Balai Penelitian Tanaman Obat yang selalu turut mencurahkan tenaga serta bertanggung jawab sehingga penelitian ini dapat berlangsung lancar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Andayaningsih, Hutapea J.R., dkk, Tanaman Obat (I), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Dep.Kes. R.I., 356, 1981.
2. Walter H. Lewis, Medical Botany, Ardley. Interscience publication, 1977, 214.
3. Kudi, Masaaki, dkk, Chem.abstr., 37932 f, 92 (1980).
4. The Merck Index, 9th edition, 1976, 8590.
5. Chen, Wen-Song, Chem.abstr., 211495 d, 89 (1978).
6. Fujita Hideo, Edahiro, Tomochika, Chem.abstr., 6373 r, 93 (1980).
7. Lee, Sang Jik, Lee Kap Rang, Chem.abstr., 127080 f, 92 (1980).
8. Fujita Hideo, Shokuhin Kogyo, 22 (22) 65, (1979).
9. Wood H.B. Alterton R., dkk J.Org.chem., 20, 875 (1955).
10. N. Kaneda, R. Kasai, K. Jamasaki, Chem.Pharm.Bull, 25 2466 (1977).
11. Sistem Kesehatan Nasional, Departemen Kesehatan R.I, Jakarta 1982.
12. Kebijakan Obat Nasional. Departemen Kesehatan R.I, Jakarta 1983.
13. Suprijo Haryono, Suwardji Hardjohutomo, RPP Industri, laporan 1981.
14. Hutapea Johnny Ria, Konggres ilmiah ke IV ISPI, Jakarta 1983.
15. Farnsworth N.R., J.Pharm.Sci. 55, 225-269, (1966).
16. Harbone I.B., Phytochemical Methods, Chapman and Hall, London 1973.
17. Arthur H.R., Cheung H.T. J.Pharm.Pharmacol., 12, 567 (1960).
18. Wall., M.E., Et all., Anal.chem., 24, 21337 (1952).
19. Kedde A.L., Pharm.Werkblad, 82, 74, (1947).
20. Stahl E., Thin layer chromatography, A laboratory Handbook, IInd Edition, Springer Verlag Berlin GERM, 1969.
21. Kreis L, Chem.sentr., 129, 1924 (1958).
22. Masuyama, Fumio, et all, Chem.abstr., 44387 f, 93 (1980).
23. Sato, Toore, et all, Chem.abstr., 44371 x, 93 (1980).
24. Kobayashi, Masaru et all, Chem.abstr., 53396 y, 90 (1979).
25. Ishizone, Hiroyuki et ll, Chem.abstr., 148704 m, 90 (1979).
26. Weil, Carrol S. (1952). Tables for convenient calculation of median effective dose (LD_{50} or ED_{50}) and instructions in their use. Biometrics 8 : 249 - 263.
27. Paget G.E. & Barnes J.M. Toxicity tests dalam Laurence D.R. & Bacharach A.L. Evaluation of drug activities. Pharmacometrics Vol.I. 1964. Academic Press, London, New York : 161 - 162.
28. Cleason cs. Clinical Toxicology of commercial Products. The William & Wilkins Co. Baltimore 1969. hal 3 - 4.
29. Djumidi, Johnny Ria H., Diskusi ilmiah dengan jurusan Farmasi, Balai Penelitian Tanaman Obat, Tawangmangu, 1982.

Lampiran 1.1. Spesifikasi lahan dan data cuaca di kebun
Tlogodlingo dengan ketinggian 1.700 m d.pl.

No.	Sifat	Lokasi 1.700	Keterangan
1.	Kadar lengas Q 2mm	10.64	Blok penelitian Stevia rebaudi- ana Bertoni M.
2.	" " Q 0,50 mm	12.47	
3.	Lempung	21.60	
4.	Debu	54.3	
5.	Pasir	24.1	
6.	Tekstur	Geluh dekuan	
7.	pH (H_2O)	5.9	
8.	pH KCL	5.4	
9.	KPK. me %	31.17	
10.	$CaCO_3$	0.50	
11.	C organik %	6.14	
12.	Bahan organik %	10.59	
13.	N tot %	0.44	
14.	N pot ppm	100.7	
15.	P 0.4 ppm	1.4	
16.	P_2O_5 %	0.01	
17.	K Tars me %	1.28	
18.	Ka tot %	1.16	

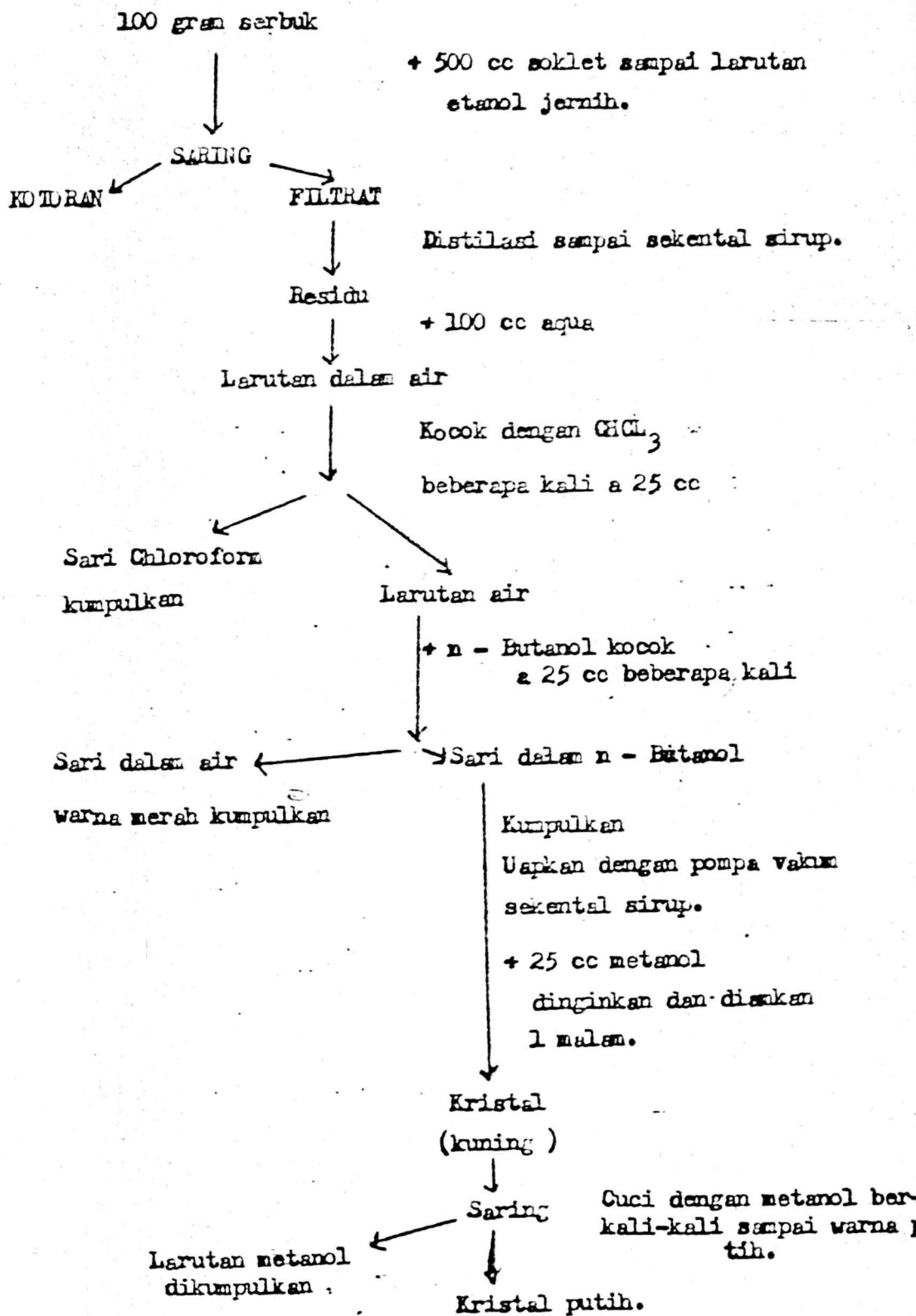
Lampiran 1.2.

Lampiran 1.2.

Tahun	Bulan	Hujan		Suhu ° C			Kelembapan (%)	Sinar Matahari pkl 08.00 s/d 16.00 WIB
		mm	hr	Rata	Mak	Min		
1982	01	518	20	13	15	12	70	30
	02	526	25	14	15	12	70	30
	03	218	17	14	15	12	70	30
	04	217	19	13	15	13	70	40
	05	-	-	17	19	14	65	50
	06	-	-	17	20	14	60	50
	07	-	-	17	20	14	60	50
	08	-	-	17	20	14	61	60
	09	185	1	14	16	14	53	40
	10	-	-	15	15	14	58	50
	11	42	4	16	20	15	48	50
	12	32	17	19	21	16	66	50
1983	01	348	19	21	20	14	58	40
	02	199	13	20	20	15	60	40
	03	351	16	21	20	16	60	40
	04	303	15	19	23	14	50	40
	05	171	9	20	24	14	51	50

Skema prosedur isolasi zat manis dari daun Stevia.

ISOLASI ZAT MANIS :



Lampiran 3.

Hasil panen herba (gram)

Gulud Masa panen	I	II	III	IV	V	Total	Per Ha
	VI	VII	VIII	IX	X		
	XI	XII	XIII	-	-		
I. (Hari ke 83) *)	993,30	1321,98	957,00	991,65	564,30	15514,62	387890,50
	1323,30	1521,30	795,30	994,95	991,65		
	1322,64	1489,95	2247,30	-	-		
II. (Hari ke 78)	1584,50	1518,40	1330,50	1726,25	960,75	26447,45	661186,25
	2046,40	3828,60	1858,80	1858,75	1320,00		
	3036,00	2540,00	2838,50	-	-		
III. (Hari ke 77)	4758,60	3055,80	3273,27	3084,18	4419,36	80834,01	2020850,20
	4738,14	8282,34	7024,38	6494,40	7484,40		
	8385,30	9828,90	10004,94	-	-		
IV. (Hari ke 75).	4125,00	2973,30	2576,64	2643,30	3700,62	76958,64	1923968,00
	4623,30	6930,00	6506,94	5445,00	6931,65		
	7132,95	12674,64	10695,80	-	-		

*) Dari hari mulai ditanam.

II s/d IV dari hari setelah panen.

Lampiran : 4.

Identifikasi kualitatif kristal zat manis

Pemerian : Warna : putih kotor
 Bentuk: serbuk/jarum
 Rasa : manis
 Bau : tidak berbau

Kelarutan :

- Dalam air dingin : agak sukar larut
- Dalam air panas : mudah larut
- Dalam alkohol dingin : agak sukar larut
- Dalam alkohol panas : mudah larut, warna kuning muda.
- Dalam aceton : agak sukar larut, warna keunguan.
- Dalam chloroform dingin : sukar larut
- Dalam chloroform panas : sukar larut
- Dalam eter : tidak larut
- Dalam butanol : mudah larut

Flouresensi di bawah sinar U.V.

	Panjang gelombang	
	366 nm	254 nm
1. Kristal	ungu	ungu
2. Dalam : Air	ungu	ungu lemah
NH ₄ OH encer	ungu kebiruan	ungu kebiruan lemah
NH ₄ OH pekat	ungu kebiruan	ungu kebiruan lemah
H ₂ SO ₄ encer	ungu	ungu lemah
H ₂ SO ₄ pekat	ungu kekuningan	ungu kekuningan lemah
HNO ₃ encer	ungu kekuningan	ungu kekuningan lemah
HNO ₃ pekat	ungu kekuningan	ungu kekuningan lemah
HCL encer	ungu	ungu lemah
HCL pekat	ungu kekuningan	ungu kekuningan lemah

Reaksi kimia (uji tetes warna)

Kristal + pereaksi :

HCL pekat	: -
HCL encer	: -
HNO ₃ pekat	: warna kuning
HNO ₃ encer	: -
H ₂ SO ₄ pekat	: larut dan berwarna kuning
H ₂ SO ₄ encer	: warna putih
CuSO ₄ 1 % + NaOH 0,1 N dipanaskan	: -
NaOH/KOH encer	: warna kuning
Fe Cl ₃	: kuning, setelah alkohol → kuning yang jelas
Sol.Jod.	: merah oranye
Dragendorff	: merah bata
Wagner	: merah coklat
Mayer	: -
Potasium permanganat	: warna coklat
Asam pikrat dipanaskan	: -
HNO ₃ pekat + NaNO ₂ padat dipanaskan, setelah dingin + alkohol 100 g	: kuning kecoklatan
Reagen pari + uap amoniak	: -
Aqua + Beta naftol + H ₂ SO ₄ melalui dinding	: -
Formalin 2 tetes + H ₂ SO ₄ 3 tetes	: -
DAB HCL	: -
Maquis	: -
KMn O ₄ encer	: kuning lama-lama coklat

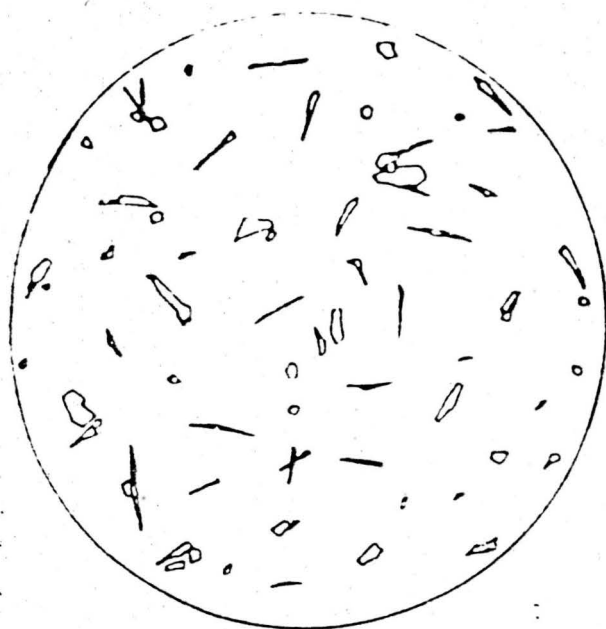
Pemijaran

Tidak meninggalkan sisa pemijaran.

Sublimasi

Sublimasi (-).

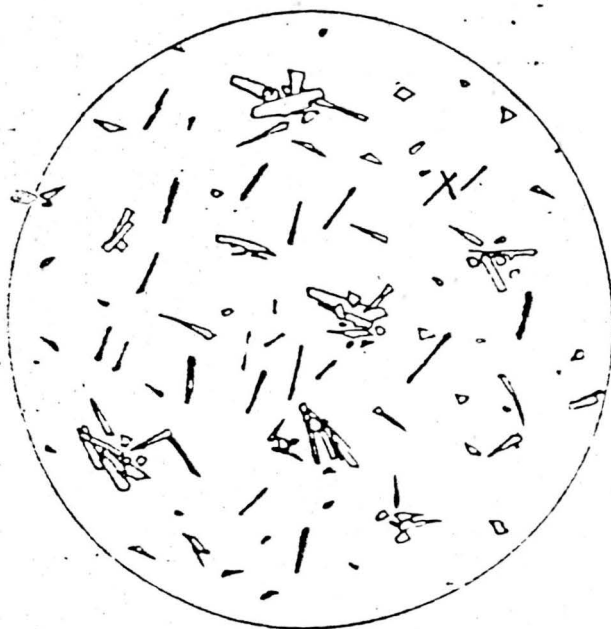
Reaksi kristal (lampiran 5).



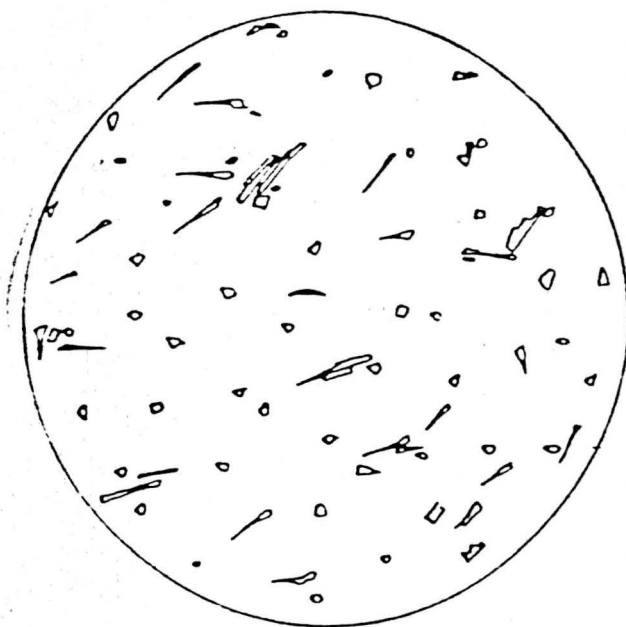
Dalam air



Dalam aseton + air



Dalam dragendorff



Dalam sublimat

Pupuk	Waktu pemberian	Jumlah
Kandang	7 hari sebelum tanam	1176 kg
UREA	hari ke 20 setelah tanam	26 kg
KCL	hari ke 30 setelah tanam	19,93 kg
TSP	hari ke 30 setelah tanam	26 kg
NPK	hari ke 2 setelah Panen I	26 kg
	hari ke 15 setelah Panen II	26 kg
	hari ke 7 setelah panen III	26 kg

Lampiran 7.

Rancangan percobaan daya racun subkronik pada tikus.

Waktu pemberian dalam bulan	Dosis dalam mg/100 g			
	320	32	3,2	0
1 bulan	I	II	III	IV
3 bulan	V	VI	VII	VIII
6 bulan	IX	X	XI	XII

