

## **Induksi Kalus Embriogenik Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine Max (L.) Merrill*) Pada Berbagai Konsentrasi 2,4-D Toleran Terhadap Kondisi Hipoksia Secara In Vitro**

*Induction of embryogenic callus of several soybean varieties (*Glycine max (L.) Merrill*) with different concentrations of 2,4-D tolerated against hypoxia condition in vitro*

**Retta Marina Siahaan, Revandy I. M. Damanik\*, Mbue Kata Bangun**  
Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan 20155  
\*Corresponding author : d\_revandy@hotmail.com

### **ABSTRACT**

The aim of the research was to evaluate the response of the growth of embryogenic callus of several soybean varieties of soybean application of 2,4-D and flooding in vitro. The research was conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Sumatera Utara, Medan from March 2016 to October 2016, The completely randomized design was used with 3 factors and 3 replications. The first factor was soybean varieties (Baluran, Gepak Kuning, Wilis); the second factor was 2,4-D (5 ppm and 10 ppm) and the third factor was hypoxia conditions (unflooding and flooding with MS liquid). The results showed that the varieties significantly affected the callus weight and protein content. The 2,4-D applications significantly affected the callus weight, whereas the flooding significantly affected the chlorophyll content.

*Keywords: 2,4-D, embryogenic callus, flooding, hypoxia condition, in vitro, soybean*

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon pertumbuhan kalus embriogenik pada berbagai varietas kedelai terhadap pengaruh 2,4-D dan penggenangan secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dari bulan Maret sampai Oktober 2016, Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah varietas kedelai terdiri dari Baluran, Gepak kuning, serta Wilis, faktor kedua adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D yang terdiri dari 5 ppm, dan 10 ppm; faktor ketiga adalah kondisi hipoksia yang terdiri dari tanpa penggenangan dan penggenangan dengan MS cair. Penelitian ini menggunakan 3 ulangan. Parameter yang diamati adalah persentase pertumbuhan kalus, keadaan visual kalus, bobot kalus, uji aktivitas SOD, uji aktivitas POD, uji protein dan uji klorofil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan varietas berbeda nyata pada parameter bobot kalus dan uji protein. Pemberian auksin 2,4-D berbeda nyata pada parameter bobot kalus, sedangkan perlakuan penggenangan berbeda nyata pada parameter uji klorofil. Terdapat interaksi antara perlakuan varietas dan penggenangan.

Kata kunci : 2,4-D, in vitro, kalus embriogenik, kedelai, kondisi hipoksia, penggenangan

## PENDAHULUAN

Kedelai merupakan bahan pangan yang sangat diminati oleh masyarakat Indonesia. Banyaknya manfaat yang diperoleh dari tanaman kedelai dan seiring dengan meningkatnya pertumbuhan penduduk menyebabkan kebutuhan kedelai dari tahun ke tahun semakin meningkat, begitu juga permintaan terhadap impor kedelai yang juga meningkat. Sementara produksi yang dicapai belum mampu mengimbangi kebutuhan tersebut (Syafaat *et al.*, 2014).

Kedelai pada kondisi kekurangan air maupun kelebihan air berkisar antara 25-40% menyebabkan penurunan hasil tergantung varietas, lokasi, dan musimtanam. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman merupakan periode kritis. tanaman kedelai terhadap kondisi kekurangan maupun kelebihan air. Kedua fase tersebut juga menyebabkan pengisian polong kurang sempurna, sehingga biji yang dihasilkan lebih kecil dan bobot biji kering menurun (Serres dan Voesenek, 2008).

Menurut Akbar (2007) hipoksia merupakan penurunan konsentrasi dalam jaringan. Ketidakmampuan tanaman untuk bertahan dalam kondisi oksigen yang rendah di daerah perakaran telah menyebabkan banyak kerugian akibat ketidakberhasilan tanaman untuk berproduksi. Pada lahan rawa, curah hujan yang tinggi menyebabkan periode genangan menjadi lebih lama dan hal ini menyebabkan tidak hanya waktu awal musim tanam menjadi terganggu, tetapi juga dapat menyebabkan tanaman di lapang menjadi terendam (Suwignyo, 2007).

Metode seleksi untuk memilih varietas toleran terhadap genangan dapat dilakukan di lapang atau di laboratorium. Untuk mengetahui pertumbuhan benih pada kondisi yang sebenarnya dapat dilakukan pada fase perkecambahan, dengan menganalisis viabilitas benih. Viabilitas benih pada kondisi suboptimum dapat

dideteksi dan dilakukan di rumah kaca atau di laboratorium dengan mengecambahkan benih pada media yang dapat dikontrol dan praktis seperti kertas, pasir atau media tanam lain (Adie *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian di atas penulis tertarik untuk melakukan penelitian guna mengetahui respon pertumbuhan kalus embriogenik terhadap berbagai varietas kedelai (*Glycine max (L.) Merr.* dan pengaruh 2,4 D serta penggenangan secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan pada bulan Maret 2016 sampai dengan Oktober 2016.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi Bahan eksplan: biji kedelai yang diperoleh dari koleksi Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang meliputi benih kedelai varietas baluran, wilis dan gepak kuning, Kalus embriogenik kedelai yang diambil dari kecambah kedelai yang telah ditumbuhkan dengan teknik kultur jaringan, media MS, zat pengatur tumbuh 2,4 D, aquades, aluminium foil, larutan stok (makro, mikro, iron, vitamin), sukrosa, myoinositol, kertas pH, tubes, tips biru dan kuning, bahan sterilisasi yaitu alkohol 70%, spiritus, dithane, benlate, khlorox 5% dan 10%, iodine, detergen, sunlight.

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas: beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, magnetic stirrer, botol kultur, scalpel, pinset, gunting, Laminar Air Flow Cabinet, timbangan analitik, pipet tetes, alat sterilisasi berupa autoklaf, lampu spiritus, dan penyemprot alkohol (hand sprayer) pH meter, lemari pendingin, rak kultur, kamera, thermometer, lampu fluorescence, lux meter,

kertas label, kertas payung, kertas lakmus, hot plate, kertas tissue, korek, mikropipet, spektrofotometer, centrifuge, tabung reaksi,

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari tiga faktor yaitu sebagai berikut :Faktor I : Varietas yang Diuji, V<sub>1</sub> : Baluran, V<sub>2</sub> : Gepak Kuning, V<sub>3</sub> : Wilis, Faktor II : Konsentrasi 2,4 D, A<sub>2</sub> : MS + 5 ppm 2,4 D, A<sub>3</sub> : MS + 10 ppm 2,4 D, Faktor III : Proses Hipoksia, P<sub>1</sub> : Tanpa Penggenangan, P<sub>2</sub> : Perlakuan penggenangan Ms0 pada tiap botol Kultur dengan taraf dan konsentrasi yang sama.

Untuk menghindari kontaminasi dalam kultur jaringan alat-alat yang digunakan dilakukan sterilisasi. Semua alat seperti botol kultur, petridis, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, pipet ukur, pinset, *scalpel*, dan alat-alat gelas lainnya terlebih dahulu direndam dalam deterjen dicuci bersih dan dibilas dengan air mengalir, selanjutnya dikeringkan. Kemudian alat-alat seperti *scalpel*, pipet ukur, pinset dan cawan petri dibungkus dengan kertas sampul coklat, sedangkan untuk erlenmeyer dan gelas ukur untuk permukaannya ditutup dengan *aluminium foil*. Setelah itu, semua botol kultur dan alat-alat dimasukkan kedalam *autoclave* pada tekanan 17.5 psi, dengan suhu 121 °C selama 60 menit. Kemudian alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam oven kecuali botol kultur.

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS dengan menggunakan zat pengatur tumbuh yaitu 2,4-D, dengan konsentrasi 5 mg/L dan 10 mg/L. Perhitungan dilakukan seberapa banyak media yang akan dibuat sehingga *stock* yang akan diambil untuk dicampurkan dapat diketahui dan dituliskan volume masing-masing *stock* yang akan dipipet. Media dibuat dalam 2 L, semua *stock* media disiapkan diatas meja kerja. Demikian juga wadah untuk campuran (digunakan erlenmeyer 1000 mL) karena

akan dilakukan pemanasan. Diisikan aquadest di wadah tersebut sekitar 100 mL untuk volume akhir 1liter, lalu media di *Hot plate* dengan *magnetic stirrer*. Sambil mengaduk *aquadest* perlahan, dimasukkan sukrosa sebanyak 60 gr. Setelah itu dimasukkan mioinositol sebanyak 0,2 gr. Setelah terlarut dimasukkan larutan makro sebanyak 100 ml, mikro 10 ml, iron 20 ml dan vitamin 10 ml. setelah terlarut ditambahkan aquadest steril ke dalam Erlenmeyer hingga 200 ml, setelah dihomogenkan, larutan dibagi ke dalam 2 erlenmeyer secara merata, setelah itu *stock* ZPT 2,4-D dicampurkan kedalam tiap perlakuan dengan konsentrasi yang ditentukan dengan pipet ukur hingga benar-benar larut, lalu diatur pH media menggunakan NaOH.

Selanjutnya media dipanaskan dalam *Hot plate* yang dilengkapi dengan *magnetic stirrer* kemudian agar ditimbang 8 g. Agar dimasukkan kedalam larutan sambil dipanaskan di atas *Hot plate*. Sambil menunggu larutan media mendidih botol kultur yang sudah disterilkan disiapkan dan *aluminium foil* dipotong sesuai dengan ukuran mulut botol. Lalu larutan media yang sudah masak dimasukkan kedalam botol kultur dan ditutup dengan *aluminium foil*. Media disterilisasi dengan *autoclave* pada 17,5 psi, 121 °C selama 20 menit. Setelah itu media didinginkan didalam laminar dan dimasukkan ke dalam ruangan kultur.

Seluruh permukaan *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) sebelumnya dibersihkan terlebih dahulu dan disemprot menggunakan alkohol 70% kemudian dilap. Ruangan disterilkan dengan sinar ultra violet selama 12 jam sebelum proses penanaman dilakukan. Semua alat yang akan dipakai harus disemprot dengan alkohol 70% sebelum dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) yang berguna untuk menghindari alat-alat tersebut terkontaminasi.

Bahan tanam yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kedelai varietas Wilis, Baluran dan Gepak kuning. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan perendaman benih kedelai tersebut selama 30 menit. Biji-biji kedelai kemudian direndam 30 menit dengan deterjen sambil digojok, setelah itu dibilas dengan air mengalir sebanyak 3 kali. Pekerjaan selanjutnya dilakukan di *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) yang sudah disterilkan dengan alkohol 70%. Eksplan yang sudah bersih direndam dalam larutan fungisida Dithane 2 g/L, kemudian digojok selama 30 menit, selanjutnya dibilas dengan *aquadest* steril minimal sebanyak 3 kali. Eksplan direndam dalam larutan fungisida Benlate 2 g/L, kemudian digojok selama 30 menit, selanjutnya dibilas dengan *aquadest* steril minimal sebanyak 3 kali. Eksplan direndam dalam larutan *Chlorox* 10% selama 5 menit sambil digojok, kemudian dibilas dengan *aquadest* steril minimal 3 kali. Eksplan kembali direndam dalam larutan *Chlorox* 5% selama 5 menit sambil digojok, kemudian dibilas dengan *aquadest* steril minimal 3 kali. Eksplan direndam dengan larutan *iodine* selama 5 menit sambil digojok kemudian dibilas dengan *aquadest* sebanyak 3 kali.

Penanaman eksplan dilakukan di LAFC yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Eksplan yang akan ditanam adalah kotiledon biji kedelai, eksplan yang akan dikulturkan kedalam media tanam diletakkan ke *petridish*, dimana embrio dipisahkan dari bagian embrio secara hati-hati dengan menggunakan pinset. Kemudian eksplan ditanam kedalam botol kultur dengan media yang telah disiapkan sesuai perlakuan. Setiap botol kultur dengan media yang telah disiapkan terdiri dari 1 eksplan. Botol kultur diletakkan di rak kultur dibawah sinar lampu cahaya.

Botol-botol kultur yang telah ditanami eksplan pada rak-rak kultur didalam ruangan kultur setiap hari disemprot

dengan alkohol 70% agar bebas dari mikroorganisme yang menyebabkan terjadinya kontaminasi. Suhu ruang kultur yang digunakan adalah 18-22 °C, intensitas cahaya sebesar 2000 lux.

Pengamatan dilakukan pada akhir penelitian pembentukan kalus embriogenik dengan menghitung jumlah eksplan membentuk kalus.

Persentase eksplan membentuk kalus = 
$$\frac{\text{Jumlah eksplan membentuk kalus}}{\text{Jumlah eksplan per perlakuan}} \times 100 \%$$

Dilakukan pengamatan pada warna, tekstur serta tipe perkembangan kalus untuk melihat keadaan visualisasi kalus.

Bobot kalus ditimbang sebelum dilakukan penggenangan dan sesudah dilakukan penggenangan kalus pada tiap perlakuan dalam satu botol kultur.

Kandungan klorofil diukur pada akhir identifikasi kalus embriogenik toleran genangan. Pengukuran kadar klorofil secara spektrofotometrik didasarkan pada hukum Lambert – Beer. Metode yang dilakukan untuk menghitung kadar klorofil pada penelitian ini adalah Metode Arnon (1949), dalam Kumianjani (2015) yaitu dengan menggunakan pelarut acetone 85 % dan mengukur nilai absorbansi larutan klorofil pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) = 663 dan 645 nm. Dengan rumus:

Klorofil Total = 8,02 (OD 663) + 20,2 (OD 645) mg/L.

Analisis Total Protein menggunakan metode Bradford (1976) yaitu bahan yang digunakan adalah serum lateks sebanyak 0,1 ml yang dimasukkan kedalam 1 ml buffer ekstrak

yang kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Reagen Bradford dibuat dengan cara menimbang 0,01 g *coomasie brilliant blue* (CBB) G-250.

Campuran dilarutkan kedalam 5 ml etanol 98% , lalu ditambahkan 10 ml asam fosfor 85%

Campuran dihomogenkan (dikocok kuat) lalu disaring dengan kertas saring dan disimpan dalam botol gelap dan suhu rendah. Stok pereaksi Bradford harus diencerkan 5 kali sebelum digunakan.

Larutan standar protein dibuat dengan menimbang 0,01 g BSA (*bovine serum albumin*) yang kemudian ditambahkan 10 ml buffer ekstraks sehingga diperoleh larutan stok BSA dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian

larutan stok konsentrasi 1000 ppm diencerkan dengan melarutkan 0,5 ml larutan stok dilarutkan dengan ditambahkan 4,5 ml buffer

ekstraks sehingga diperoleh larutan stok BSA 100 ppm.

Larutan stok tersebut digunakan membuat kurva standar dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 ppm. Pengukuran

standar protein dengan menambahkan 0.05 ml seri larutan standar dengan 2.5 ml reagen Bradford. Kemudian larutan divortex

dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10-60 menit. Larutan ini memberikan warna biru dan dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Dengan menggunakan regresi linier, akan didapatkan persamaan matematika untuk larutan standar protein.

Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menambahkan 0.05 ml ekstrak ke zim kasar dengan 2.5 ml reagen Bradford di vortex dan diinkubasi pada

suhu ruang selama 10-60 menit. Absorbansi Larutan sampel protein dibaca pada panjang gelombang 595 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase muncul kalus (%)

Hasil pengamatan terhadap parameter persentase muncul kalus (%) pada

varietas Baluran, Gepak Kuning, dan Wilis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase Muncul Kalus (%)

No	Varietas	% muncul kalus	Jumlah
1	V <sub>1</sub>	0/18 x 100%	0%
2	V <sub>2</sub>	18/18 x 100 %	100%
3	V <sub>3</sub>	18/18 x 100 %	100%






Keterangan : V<sub>1</sub> = Baluran, V<sub>2</sub> = Gepak Kuning, V<sub>3</sub> = Wilis

Persentase pertumbuhan kalus untuk varietas Baluran adalah 0%, sedangkan untuk varietas Gepak Kuning dan Wilis sebesar 100 %. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh jenis varietas, konsentrasi auksin serta lingkungan tumbuh. Pertumbuhan Baluran yang 0% diduga akibat kondisi benih yang sudah tidak layak untuk ditanam dikarenakan sudah kadaluarsa. Adhi dan Muda(2014) mengatakan bahwa mutu benih dipengaruhi oleh proses penanganannya dari produksi sampai akhir periode simpan. Salah satu masalah yang dihadapi dalam penyediaan benih bermutu adalah penyimpanan. Penyimpanan benih kacang-kacangan di daerah tropis lembab seperti di Indonesia dihadapkan kepada masalah daya simpan yang rendah.

### Keadaan Visual Kalus

Hasil pengamatan terhadap parameter keadaan visual kalus berupa warna kalus, tekstur kalus serta tipe perkembangan kalus dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Keadaan Visual Kalus

Perlakuan/ Ulangan	Penampilan Visual Kalus			Gambar
	Warna	Tekstur	Tipe Perkembangan	
V <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>1</sub>	Putih Kecokelatan	Kompak	Globular	
V <sub>2</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	Kuning kecokelatan	Kompak	Globular	
V <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>1</sub>	Putih kekuningan	Kompak	Globular	
V <sub>2</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	Kuning Kecokelatan	Kompak	Globular	
V <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>1</sub>	Kuning Kecokelatan	Kompak	Globular	

V <sub>3</sub> A <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	Kuning Kecokelatan	Kompak	Globular	
V <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>1</sub>	Putih Kekuningan	Kompak	Globular	
V <sub>3</sub> A <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	Putih Kekuningan	Kompak	Globular	

Warna kalus varietas Gepak Kuning adalah kuning kecokelatan sedangkan pada varietas Willis didominasi warna putih kekuningan yang mengindikasikan kalus masih aktif berdiferensiasi. Menurut Purnamaningsih dan Misky (2011) warna kalus yang masih menunjukkan warna kekuningan menunjukkan bahwa kalus tersebut masih aktif berdiferensiasi. Kalus yang berwarna kecokelatan menandakan bahwa kalus mulai mengalami oksidasi dan gejala browning (pencoklatan) menyebabkan perkembangan kalus menjadi lambat, sehingga proses diferensiasi sel juga berjalan lambat.

### Bobot Kalus

Untuk Parameter bobot kalus, hasil pengamatan serta sidik ragam (lampiran 7-8) diperoleh bahwa perlakuan varietas dan auksin menunjukkan perbedaan yang nyata. Interaksi antara varietas dan penggenangan terdapat perbedaan yang nyata.

Hasil pengamatan terhadap parameter rata-rata bobot kalus memiliki

perbedaan yang nyata terhadap varietas dan auksin. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan bobot kalus (mg/l)

Perlakuan	Rataan
Varietas	
V <sub>2</sub> = Gepak Kuning	3.09 b
V <sub>3</sub> = Willis	4.31 a
Auksin	
A <sub>2</sub> = 5 ppm 2,4 D	3.19 b
A <sub>3</sub> = 10 ppm 2,4 D	4.21 a
Penggenangan	
P <sub>1</sub> = tanpa penggenangan	3.88 a
P <sub>2</sub> = penggenangan dengan MS 0 cair	3.52 a

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Beda Duncan (UJBD) pada taraf 5%

Pada parameter bobot kalus, rata-rata tertinggi pada perlakuan varietas yaitu Varietas Wilis (4.31 g) berbeda nyata dengan Varietas Gepak kuning (3.09 g) (Tabel 3). Varietas Wilis memiliki bobot kalus yang lebih besar dibandingkan varietas Wilis. Sedangkan pada perlakuan auksin, rata-rata tertinggi pada perlakuan auksin yaitu 10 ppm 2,4 D (4.21 g) berbeda nyata dengan 5 ppm 2,4 D (3.19 g) (Tabel 3). Konsentrasi auksin 10 ppm 2,4 D memiliki bobot kalus yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 5 ppm 2,4 D. Hal ini diduga dikarenakan taraf konsentrasi auksin yang digunakan tepat sehingga menghasilkan kalus dengan bobot yang besar. Menurut Marlin *et al* (2012) inisiasi pembentukan kalus tanaman dapat dilakukan dari semua bagian tanaman. Tetapi setiap bagian tersebut memiliki kecepatan pertumbuhan dan respon yang berbeda. Selain itu, penggunaan ZPT dalam konsentrasi yang tepat juga sangat menentukan proses pembentukan dan perkembangan kalus *in vitro*.

Tabel 4. Interaksi rata-rata bobot kalus antara varietas dan penggenangan

Perlakuan	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	Rataan
V <sub>2</sub>	3.56 ab	2.63 b	3.09
V <sub>3</sub>	4.20 a	4.42 a	4.31
Rataan	3.88	3.52	3.70

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Beda Duncan (UJBD) pada taraf 5%

### Analisis Protein

Untuk parameter analisis protein hasil pengamatan serta sidik ragam (Lampiran 15-16) diperoleh bahwa perlakuan varietas menunjukkan perbedaan yang nyata. Hasil pengamatan terhadap rata-rata uji protein setelah penggenangan dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Tabel Uji Protein

Perlakuan	Rataan
Varietas	
V <sub>2</sub> = Gepak Kuning	160.06 a
V <sub>3</sub> = Wilis	142.80 b
Auksin	
A <sub>2</sub> = ppm 2,4 D	147.77 a
A <sub>3</sub> = 10 ppm 2,4 D	155.09 a
Penggenangan	
P <sub>1</sub> = tanpa penggenangan	153.81 a
P <sub>2</sub> = penggenangan dengan MS 0 cair	149.06 a

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Beda Duncan (UJBD) pada taraf 5%

Nilai protein pada varietas Gepak Kuning mempunyai rata-rata protein 160.06 mg/l dan berbeda nyata dengan varietas Wilis dengan penggenangan MS 0 Cair mempunyai rata-rata protein 142.80 mg/l. Diduga varietas gepak kuning lebih mampu untuk mempertahankan kadar protein. Rahardja *et al.*, (2012) menyatakan Kedelai pada kondisi kekurangan air maupun kelebihan air berkisar antara 25-40% menyebabkan penurunan hasil tergantung varietas, lokasi, dan musim tanam. Pertumbuhan dan perkembangan tanaman merupakan periode kritis. tanaman kedelai terhadap kondisi kekurangan maupun kelebihan air.

### Analisis Klorofil

Berdasarkan hasil pengamatan serta sidik ragam terhadap parameter analisis klorofil (Lampiran 17-19) diperoleh bahwa perlakuan penggenangan terdapat perbedaan yang nyata. Hasil pengamatan terhadap rata-rata uji klorofil dapat dilihat pada Tabel 8.



Tabel 8. Rataan uji klorofil

Perlakuan	Rataan
Varietas	
V <sub>2</sub> = Gepak Kuning	1.81 a
V <sub>3</sub> = Wilis	2.32 a
Auksin	
A <sub>2</sub> = 5 ppm 2,4 D	2.32 a
A <sub>3</sub> = 10 ppm 2,4 D	1.81 a
Penggenangan	
P <sub>1</sub> = tanpa penggenangan	2.71 a
P <sub>2</sub> = penggenangan dengan MS 0 cair	1.42 b

Keterangan : angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Beda Duncan (UJBD) pada taraf 5%

Nilai klorofil untuk perlakuan tanpa penggenangan (P1) memiliki nilai tertinggi (2.71 mg/l) berbeda nyata dengan penggenangan dengan MS 0 cair (P2) memiliki nilai terendah (1.42 mg/l) untuk faktor perlakuan penggenangan. Hal ini kembali menunjukkan bahwa penggenangan ikut mempengaruhi nilai dari klorofil. Genangan diduga mengakibatkan pH media menurun sehingga mengakibatkan serapan unsur N juga ikut menurun. Fatimah dan Saputro (2016) mengatakan bahwa penurunan kandungan klorofil berkaitan dengan aktivitas perangkat fotosintesis. pembentukan klorofil dihambat dan terjadi penurunan pada saat tanaman tergenang. Genangan pada tanah menyebabkan akar tanaman mengalami gangguan dalam respirasi, penyerapan unsur hara dan metabolisme tanaman secara keseluruhan. Unsur hara yang kurang pada tanaman menyebabkan pembentukan klorofil terganggu dan kadar klorofil pada daun menjadi turun. Selain itu, telah disebutkan sebelumnya bahwa sintesis

klorofil dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya adalah unsur N dan Mg.

## SIMPULAN

Varietas Wilis berbeda nyata terhadap varietas Gepak Kuning pada parameter bobot kalus dan protein, pemberian auksin 2,4 D pada taraf 5 ppm berbeda nyata dengan pemberian 10 ppm pada parameter bobot kalus, perlakuan penggenangan eksplan dengan MS 0 cair berbeda nyata terhadap perlakuan tanpa penggenangan pada parameter uji korofil, dan terdapat interaksi antara perlakuan varietas dan penggenangan dimana kombinasi perlakuan wilis dan penggenangan MS 0 cair berbeda nyata terhadap gepak kuning dan penggenangan dengan MS 0 cair

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhie, R. K. dan W. Muda. 2014. Memperpanjang umur simpan kedelai. Balai Besar Pelatihan Pertanian Binuang. Tapin.
- Adie, M. M. dan R. T. Hapsari. 2010. Peluang Perakitan dan Pengembangan Kedelai Toleran Genangan. Jurnal Litbang Pertanian. 29(2) : 51-53.
- Fatimah, V. S. dan T. B. Saputro. 2016. Respon Karakter Fisiologis Kedelai (*Glycine max L.*) varietas grobogan terhadap cekaman genangan. j. sains dan seni its vol.5(2): 2337-3520
- Marlin, Yulian, dan Hermansyah. 2012. Inisiasi Kalus Embriogenik Pada Kultur Jantung Pisang 'Curup' Dengan Pemberian Sukrosa, Bap Dan 2,4-D. *J. Agrivigor 11(2): 275-283*
- Rahardja, B. S., A. T. Purwitasari, Moch., dan A. Alamsjah. 2012. Pengaruh Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh (Asam-2,4-Diklorofenoksiasetat)

- Terhadap Pertumbuhan  
Nannochloropsis oculata. *Jurnal Of  
Marine and Coastal Science*. 1(2) :  
71-75.
- Serres, J. B. and L. A. C. J. Voesenek. 2008.  
*Flooding Stress: Acclimations and  
Genetic Diversity*.
- Syafaat, Fatimah, dan Y. Arifin. 2014.  
Respon Varietas Tanaman Kedelai  
(*Glycine max.L*) Terhadap Beberapa  
Jenis Pupuk Kompos.
- Suwignyo, R. A. 2007. Ketahanan Tananam  
Padi Terhadap Kondisi Terendam:  
Pemahaman Terhadap Karakter  
Fisiologis Untuk Mendapatkan  
Kultivar Padi Yang Toleran Di  
Lahan Rawa Lebak.