

Pengaruh Pemberian N 2,4-D Terhadap Pertumbuhan dan Metabolisme Kalus Kedelai Pada Kondisi Hipoksida Secara *In vitro*

Study of Application Growth Regulator toward Growth and Metabolism of Soyben Callus at Hypoxyda Condition

Elita Kumianjani A B, Revandy Iskandar Damanik*, Luthfi A. M. Siregar

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, USU, Medan 20155

*Corresponding author: d_revandy@hotmail.com

ABSTRACT

Soybean demand continues to increase as the number of people , but the production has not be enable to meet the needs of national soybean. One effort to increase production is to indentificat soybean acreage of inundation. The aims of the research was to determine about Identification callus of soybean toward inundation by in vitro. This research was carried out in The Tissue Culture Laboratory, Agriculture's Faculty Of North Sumatera University from August to March 2015. Completely Randomized Design with two factors was used, first factor was auxin 2,4-D concentration consist of three leevels : 0 ppm; 2 ppm; 4 ppm. The second factor was Inundation and without Inundation. The parameters measured were are visualization of callus, percentage of growth callus, percentage of weight callus , the amount of chlorophyll a and b, and concentration of protein. The results showed that 2,4-D concentration and Inundation give significant effect on visualization of callus, percentage of growth callus, percentage of weight callus , the amount of chlorophyll a and b, and concentration of protein , but it have no significantly effect on the formation of chlorophyll a in the phase of inundation and interactions between as given significantly effect on all parameters.

Keywords : 2,4-D, Hipoksida, *In vitro*

ABSTRAK

Kebutuhan kedelai terus meningkat seiring pertumbuhan jumlah penduduk, namun produksi belum mampu memenuhi kebutuhan kedelai nasional. Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi adalah dengan mengidentifikasi kedelai yang toleran terhadap genangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui identifikasi kalus kedelai terhadap genangan secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dari Agustus sampai Maret 2015, Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi auksin 2,4-D yang terdiri dari 3 taraf yaitu 0 ppm, 2 ppm, 4 ppm. Faktor kedua adalah Penggenangan dan tanpa penggenangan. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan kalus, penambahan berat bobot kalus, jumlah Klorofil a dan b, konsentrasi protein dan keadaan visual kalus kedelai. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ZPT 2,4-D dan Penggenangan berpengaruh nyata terhadap respon pertumbuhan kalus, penambahan berat bobot kalus, kandungan klorofil dan konsentrasi protein, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukkan klorofil a pada fase penggenangan dan interaksi antara konsentrasi auksin dan penggenangan berpengaruh sangat nyata terhadap semua parameter yang diamati.

Kata kunci : 2.4-D, Hipoksida, *In vitro*

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan tanaman yang sangat penting, kedelai memiliki kandungan minyak yang tinggi, dan bijinya kaya akan protein. Kedelai juga mengandung mineral seperti kalsium, fosfor, besi, potasium, dan magnesium diantara tanaman sereal, kegunaan lainnya untuk pembuatan tempe, tahu, susu, tepung, minyak, kosmetik, sabun, produk makanan, farmasi, pupuk, industri cat, pernis, plastik, dan lain-lain (Pandey, 2007).

Kebutuhan kedelai meningkat setiap tahunnya sehingga menimbulkan tantangan yang berat bagi pembangunan pertanian kedelai, tantangan ini semakin berat karena di satu sisi laju permintaan terus meningkat, akan tetapi disisi lain muncul berberapa permasalahan diantaranya keterbatasan lahan yang sempit. Hal ini disebabkan produktivitas kedelai yang masih rendah sehingga harus dilakukan perbaikan baik secara kuantitas maupun kualitas (Ilyas, 2005).

Upaya peningkatan produksi kedelai harus dilakukan untuk dapat memenuhi kebutuhan yang semakin meningkat. Peningkatan produksi dilakukan antara lain dengan cara mengoptimalkan produktivitas lahan pertanian seperti lahan sawah yang luasnya sekitar 8,5 juta hektar yang merupakan lahan potensial untuk pengembangan kedelai (Sofia, 2007).

Dewasa ini lahan sawah tersebut baru sebagian kecil yang dimanfaatkan, karena terdapat beberapa kendala, seperti kejenuhan air atau genangan yang dapat menimbulkan rendahnya produktivitas. Kelebihan air tersebut dapat terjadi karena periode yang panjang dari musim hujan dan curah hujan yang tinggi keadaan tersebut, juga disebabkan karena adanya lapisan kedap air pada kedalaman 15-20 cm di bawah permukaan tanah. Genangan berpengaruh terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman karena tanaman memerlukan adanya pertukaran gas yang cepat dengan lingkungannya dan adanya ketersediaan air yang memenuhi kebutuhan pertumbuhan dan evapotranspirasi. (Komariah, 2008).

Untuk mengatasi pengaruh genangan, pemilihan varietas toleran terhadap keadaan tersebut perlu dilakukan, menurut teori Adie, *et al.*, (2010), 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.

Dengan cara *in vitro*, diharapkan dapat memberi solusi varietas yang tahan, toleransi ataupun peka terhadap genangan, misalnya dengan kultur meristem yang ditujukan untuk membantu perkecambahan dan diharapkan dapat mempertahankan integritasnya dan tumbuh menjadi tanaman lengkap. Menurut Yunita (2009), secara umum agar kegiatan kultur jaringan berjalan baik dan bahan tanaman dapat tumbuh berkembang seperti yang diharapkan maka pada tahap inkubasi di ruang kultur pengendalian temperatur, cahaya, kelembapan, wadah kultur, dan faktor lingkungan lain yang menunjang merupakan hal yang perlu mendapat perhatian pemuliaan tanaman melalui Kultur jaringan bermanfaat dalam merangsang keragaman genetik dan mempertahankan kestabilan genetik, teknik *in vitro* merupakan metoda yang efektif dan efisien untuk perbanyakan tanaman dalam kondisi lingkungan aseptik dan dapat dikendalikan. (Widoretno *et al*, 2003)

Kultur *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi potongan jaringan tanaman dari kondisi alami media pada kondisi aseptik, dimana potongan jaringan yang diambil mampu mengadakan persebaran, perpanjangan, pembelahan sel, perubahan klorofil dan kandungan protein serta membentuk suatu massa sel yang belum terdiferensiasi yang disebut kalus serta membentuk shootlet (tunas), rootlet (akar), atau planlet (tanaman lengkap), Auksin 2,4-D

berperan terhadap pelonggaran dinding sel dengan melepaskan ikatan hidrogen yang terdapat pada dinding sel. Mekanisme pelonggaran dinding sel dipengaruhi oleh proses pengaktifan gen yang terlibat dalam sintesis protein. Pengontrolan sintesis protein sendiri diatur oleh gen pengatur, gen operator dan gen struktural. (Yurmita., *et al*, 2012).

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian terhadap toleransi Pengaruh Pemberian ZPT 2,4-D Terhadap Pertumbuhan Dan Metabolisme Kalus Kedelai Pada Proses Hypoxyda.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan. Penelitian ini dimulai pada bulan Agustus 2014 sampai dengan selesai.

Bahan eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalus dari tanaman kedelai varietas kedelai Grobogan, ZPT 2,4-D, agar biotek, aquades steril, MS0 cair, aseton 80 %, dan bahan lainnya yang mendukung penelitian ini.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kultur, autoklaf, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), *steri box*, tabung uji, timbangan analitik, rak kultur, *hot plate* dengan magnetik stirer, erlenmeyer, gelas ukur, kaca tebal, pipet ukur, gunting, scalpel, pinset, kertas plano, aluminium foil, lampu bunsen, pH meter, oven, kompor gas, minisar, mikropipet, tip, pipet tetes, mortar, spektrofotometri, dan alat-alat lainnya yang mendukung penelitian ini. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor dan 4 ulangan, Faktor pertama adalah Konsentrasi ZPT 2,4 D: A₁ 0 mg/l, A₂: 2.0 mg/l , A₃ : 4.0 mg/l, dan Faktor kedua adalah Proses Hipoksida: P₁ : Kontrol, P₂ : proses penggenangan, Jika perlakuan (konsentrasi 2,4-D dan interaksi) berbeda nyata dalam sidik ragam maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT) pada $\alpha = 5\%$

(Steel and Torrie, 1995). Analisis dilakukan menggunakan software *Costat for Window*.

Pelaksanaan penelitian dimulai dengan Sterilisasi alat-alat, pembuatan media, persiapan ruangan kultur, persiapan ruang kultur, sterilisasi eksplan, penanaman eksplan, pemeliharaan kalus yang telah tumbuh, aplikasi penggenangan terhadap kalus yang tumbuh, pengukuran kadar klorofil digunakan rumus sebagai berikut

Klorofil a = $12,7 (OD\ 663) - 2,69 (OD\ 645)$

Klorofil b = $22,9 (OD\ 645) - 4,68 (OD\ 663)$

Pengukuran konsentrasi protein (metode kjeldahl). Analisa protein cara Kjeldahl pada dasarnya dapat dibagi menjadi tiga tahapan yaitu proses destruksi, proses destilasi dan tahap titrasi.

Adapun peubah amatan yang diamati adalah : Persentase eksplan membentuk kalus (%), kandungan klorofil (arnon, 1949), pengukuran konsentrasi protein (metode kjeldahl)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari Hasil analisis data statistik yang menunjukkan interaksi antara perlakuan ZPT 2,4-D dengan perlakuan penggenangan memberikan pengaruh yang nyata terhadap seluruh parameter yang diamati. Hal ini disebabkan karena kemampuan auksin 2.4-D yang mampu merangsang perbesaran dan sangat baik dalam pembelahan sel untuk untuk membentuk kalus serta kemampuan tanaman kalus kedelai yang memiliki susunan genotip yang mampu beradaptasi pada kondisi tergenang. Genotip yang toleran terhadap genangan adalah genotip yang mempunyai daya hasil tinggi pada kondisi tergenang. Daya hasil merupakan karakter kuantitatif dari tanaman yang dikendalikan banyak gen. Genangan harus dilakukan berdasarkan karakter penciri khusus yang memiliki hubungan yang erat dengan toleransi yang didasarkan atas stress tolerance index (STI),

Respon pertumbuhan kalus kotiledon kedelai, kandungan klorofil dan konsentrasi protein terhadap pemberian ZPT 2,4-D

Berdasarkan hasil analisis data statistik yang menunjukkan bahwa perlakuan penambahan konsentrasi auksin 2,4-D (2 ppm dan 4 ppm) memiliki respon pertumbuhan 100 % dalam pembentukan kalus, Pengaruh perlakuan auksin 2,4-D mampu merespon pertumbuhan dan pembentukan kalus pada kotiledon kedelai dibandingkan dengan tanpa adanya perlakuan penambahan auksin 2,4-D (Kontrol), hal ini disebabkan karena pembentukan kalus pada eksplan, secara fisiologi dipengaruhi oleh perubahan genetik pada sel tanaman oleh auksin. Sel yang merespon auksin akan menyebabkan dediferensiasi dan memacu pembelahan sel , senyawa auksin 2,4-D merupakan jenis auksin

yang berperan dalam merangsang perbesaran dan sangat baik dalam pembelahan sel untuk untuk membentuk kalus. Hal ini sesuai dengan literatur Rahardja (2012) yang menyatakan bahwa penambahan 2,4-D dalam media akan merangsang pembelahan dan perbesaran sel pada eksplan sehingga dapat memacu pembentukan dan pertumbuhan kalus, kemampuan kalus beregenerasi membentuk tunas selain dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh juga oleh ukuran kalus yang diregenerasikan, 2,4-D sendiri merupakan auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman, auksin merupakan salah satu hormon tanaman yang dapat mengandung proses fisiologi seperti pertumbuhan, pembelahan dan diferensiasi sel serta sintesis protein, namun semakin besar konsentrasi 2,4-D yang diberikan, semakin menurun persentase kalus yang terbentuk, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase Eksplan membentuk kalus (%)

Perlakuan	1 MST	2 MST	3 MST	Rataan
Kontrol	0.00	0.00	0.00	0.00
2 ppm	100.00	100.00	100.00	100.00
4 ppm	100.00	100.00	100.00	100,00
Rataan	66,67	66,67	66,67	66,67

Pada pengamatan dari hasil analisis data statistik pada perlakuan penambahan konsentrasi auksin 2,4-D menunjukkan pengaruh nyata terhadap pembentukan kadar klorofil a dan klorofil b, kadar klorofil a dan b tertinggi terdapat pada A₃P₂ hal ini disebabkan karena auksin menyebabkan DNA menjadi lebih termetilasi sehingga menyebabkan sel yang terdiferensiasi melakukan perombakan dan penyusunan ulang dari struktur sel tersebut, klorofil b berfungsi sebagai antena fotosintetik yang mengumpulkan cahaya. Peningkatan kadar klorofil b yang lebih tinggi dibandingkan klorofil a merupakan upaya tanaman untuk meningkatkan antena dalam penangkapan energi cahaya untuk fotosintesis. Hal ini sesuai dengan teori Lestari (2011) yang menyatakan zat pengatur tumbuh dibuat agar tanaman memacu pembentukan fitohormon (hormon tumbuhan) yang sudah ada di dalam tanaman atau menggantikan fungsi dan peran hormon bila tanaman kurang dapat memproduksi hormon dengan baik. produksi auksin endogen memerlukan energi yaitu ATP dan ATPase aktif, sehingga untuk perkembangan sel yang mendapatkan pasokan energi yang rendah membutuhkan penambahan auksin sintesis. Pemilihan jenis auksin sintetik dan konsentrasinya bergantung dari tipe pertumbuhan yang dikehendaki, level auksin endogen, kemampuan jaringan mensintesa auksin, pengaruh golongan zat tumbuh lain.

Kalus dipacu dengan penambahan auksin dengan konsentrasi yang relatif tinggi, Nitrogen erat kaitannya dengan sintesis klorofil dan sintesis protein maupun enzim. Enzim (rubisco) berperan sebagai katalisator dalam fiksasi CO₂ yang dibutuhkan tanaman untuk fotosintesis. Penurunan kadar nitrogen tanaman berpengaruh terhadap fotosintesis baik lewat kandungan klorofil maupun enzim fotosintetik.

Pada pengamatan dari hasil analisis data statistik pada perlakuan penambahan konsentrasi auksin 2,4-D menunjukkan pengaruh nyata terhadap pembentukan unsur protein, pada unsur protein tertinggi terdapat

pada A₃P₁ sebesar 3.260 hal ini disebabkan karena adanya induksi auksin ZPT 2,4-D yang mampu mendorong pembelahan sel dengan cara mempengaruhi dinding sel, dinding sel dapat mengaktifasi pompa proton yang terletak pada membran plasma aktifnya pompa proton tersebut dapat memutuskan ikatan hidrogen diantara serat selulosa dinding sel, putusnya ikatan hidrogen menyebabkan dinding mudah merenggang sehingga tekanan dinding sel akan menurun dan terjadilah pelenturan sel sehingga mengakibatkan tingginya metabolisme nitrogen dalam sel.

Nitrogen merupakan unsur penyusun asam amino yang merupakan prekursor metabolit sekunder. Nitrogen sangat berperan sebagai penyusun senyawa protein dalam sel. metabolisme nitrogen membutuhkan energi yang diperoleh dari metabolisme karbohidrat, hal ini berarti karbohidrat yang ada dapat dipakai sebagai sumber energi dan sumber karbon untuk membentuk metabolit sekunder. Hal ini sesuai dengan teori Taiz dan Zeiger (1998), yang menyatakan Auksin 2,4-D berperan terhadap pelonggaran dinding sel dengan melepaskan ikatan hidrogen yang terdapat pada dinding sel. Mekanisme pelonggaran dinding sel dipengaruhi oleh proses pengaktifan gen yang terlibat dalam sintesis protein. Pengontrolan sintesis protein sendiri diatur oleh gen pengatur, gen operator dan gen struktural. Kombinasi antara gen struktural dan gen operator disebut operon. Gen pengatur berperan dalam membentuk protein pengatur yang disebut reseptor. Reseptor ini berperan dalam menjaga operon dalam keadaan tertutup, dan keadaan ini menandakan operon tidak aktif. Ketika auksin 2,4-D bergabung dengan operon yang tidak aktif akan menonaktifkan reseptor sehingga akan mengaktifkan operon. Operon yang aktif menandakan dapat terjadinya transkripsi mRNA yang kemudian akan mengarahkan transisi protein enzim ATP-ase. Pemberian auksin dapat meningkatkan sintesis enzim ini sehingga H⁺ akan dipompakan keluar. Peristiwa ini akan menyebabkan lingkungan menjadi asam. Pada kondisi asam, enzim-

enzim yang dapat memotong ikatan dinding sel akan teraktifkan. Proses ini menyebabkan pelonggaran dinding sel, sehingga air dapat masuk dan tekanan turgor naik. Tekanan turgor yang naik akan menyebabkan sel mengembang.

Pertumbuhan dan perkembangan tidak hanya berkaitan dengan penambahan volume sel namun juga berkaitan dengan bertambahnya jumlah sel. Pertambahan jumlah sel tergantung pada kecepatan sel untuk membelah, yang dipengaruhi oleh adanya sitokinin. Hal ini diduga dengan penambahan ZPT tersebut dapat mempengaruhi metabolisme RNA yang berperan dalam sintesis protein melalui proses transkripsi molekul RNA. Kenaikan sintesis protein sebagai sumber tenaga dapat digunakan untuk pertumbuhan, dapat dilihat pada tabel 2 dan tabel 3.

Respon kadar klorofil dan unsur protein kalus kedelai akibat perlakuan penggenangan

Hasil analisis data statistik menunjukkan bahwa perlakuan penggenangan terhadap kalus kedelai berpengaruh nyata terhadap pembentukan klorofil b hal ini disebabkan karena kandungan klorofil b merupakan kandungan klorofil yang berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan. Hal ini sesuai dengan teori Bidwell (1979) bahwa klorofil b terjadi dari klorofil a yang mengalami oksidasi sehingga gugus CH_3 pada cincin II dalam klorofil a berubah menjadi gugus aldehida pada molekul klorofil b. Metabolisme pertumbuhan kalus juga berpengaruh terhadap pembentukan pigmen, pembelahan dan pembesaran sel, kemampuan diferensiasi sel tanaman dan reaksi kimia yang menyertainya (antara lain aktivitas enzim), akan menyebabkan perbedaan metabolit yang terbentuk, peningkatan kadar klorofil b yang lebih tinggi dibandingkan klorofil a, merupakan upaya tanaman untuk meningkatkan antena dalam penangkapan energi cahaya untuk fotosintesis. Klorofil b berfungsi sebagai antena yang mengumpulkan cahaya untuk

kemudian ditransfer ke pusat reaksi. Pusat reaksi tersusun dari klorofil a. Energi cahaya akan diubah menjadi energi kimia di pusat reaksi yang kemudian dapat digunakan untuk proses reduksi dalam fotosintesis menunjukkan bahwa peningkatan kadar klorofil b, klorofil terdapat pada membran thylakoid grana. Pada keadaan normal, proporsi klorofil-a jauh lebih banyak dari pada klorofil-b, kumpulan bermacam-macam pigmen fotosintesis disebut fotosistem, berperan menjerap energi cahaya (foton, kuantum) pada reaksi terang untuk menghasilkan energi kimia berupa ATP dan NADPH_2 . Gangguan terhadap metabolisme akibat anaerobik akan menghambat produksi ATP, Pengaruh CO_2 juga di dalam kultur jaringan berkaitan erat dengan kebutuhan bagi proses fotosintesis. Secara umum diduga bahwa CO_2 merupakan syarat mutlak untuk kultur jaringan tanaman tingkat tinggi dibawah kondisi cahaya.

Hasil analisis data statistik menunjukkan bahwa pada semua pengamatan perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter pembentukan %protein, pada perlakuan tanpa genangan terdapat rataan %protein tertinggi sebesar 3.260 % dan pada kondisi tergenang hanya 1.103% hal ini disebabkan karena terjadi proses denitrifikasi akibat perlakuan penggenangan sehingga %protein menjadi rendah, pada kondisi tergenang ketersediaan nitrogen dalam bentuk nitrat sangat rendah. Hal ini sesuai dengan teori Dennis., *et al.*, (2000) yang menyatakan unsur hara nitrogen berperan penting dalam pembentukan klorofil karena nitrogen merupakan unsur penyusun asam amino yang merupakan prekursor metabolit sekunder. Proses denitrifikasi adalah proses dimana nitrat diubah menjadi nitrogen (N_2), nitrogen oksida (NO), dinitrit oksida (N_2O), atau nitrogen dioksida (NO_2) yang menguap atau teroksidasi. Penyerapan nitrogen oleh tumbuhan bisa dalam bentuk NH_4^+ dan NO_3^- . Keberadaan karbohidrat yang tinggi akan meningkatkan penyerapan NH_4^+ . karbohidrat yang ada dapat dipakai sebagai sumber energi dan sumber karbon untuk membentuk

metabolit sekunder. Konsentrasi karbohidrat yang rendah menyebabkan penyerapan NH_4^+ menjadi terhambat sehingga sumber nitrogen yang banyak digunakan adalah NO_3 .

Tabel 2. Jumlah klorofil a dan b pada kalus kedelai

Penggenangan	Jumlah Klorofil a	Jumlah Klorofil b	Rataan
2,4-D			
A ₁ P ₁	0.000	0.000	0.000
A ₁ P ₂	0.000	0.000	0.000
A ₂ P ₁	0.095	0.271	0.183
A ₂ P ₂	0.007	0.397	0.202
A ₃ P ₁	0.056	0.324	0.19
A ₃ P ₂	0.247	0.714	0.480
Rataan	0.067	0.284	

Tabel 3. Uji Protein Kalus Kedelai (%)

Uji Protein	A			Rataan
	A ₁	A ₂	A ₃	
P	kontrol	2 ppm	4 ppm	
P ₁ (Tanpa Penggenangan)	0.000	2.346	3.260	1.869
P ₂ (Penggenangan)	0.000	1.807	1.501	1.103
Rataan	0.000 c	2.077 b	2.380 a	

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang tidak sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan pengaruh nyata pada uji DMRT pada taraf kepercayaan 5% pada kolom atau baris yang sama.

SIMPULAN

Konsentrasi ZPT 2,4 D menunjukkan pengaruh nyata untuk persentase pertumbuhan kalus kedelai, pembentukan klorofil a dan b, Serta % protein, pada penggenangan menunjukkan pengaruh yang nyata untuk pembentukan klorofil b dan % protein, namun tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan klorofil a

DAFTAR PUSTAKA

- Adie, M. M. dan R. T. Hapsari. 2010. Peluang Perakitan dan Pengembangan Kedelai Toleran Genangan. *Jurnal Litbang Pertanian*. 29(2) : 51-53.
- Bidwell, R. G. 1979. *Plant Physiology 2nd edition*. New York Macmillan Publishing
- Dennis, ES, R. Dolferus, M. Ellis, M. Rahman, Y. Wu, F.U. Hoeren, A. Grover, K.P. Ismond, A.G. Good, and W.J. Peacock. 2000. Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. *J. Exp. Bot.* 51(342):89-97
- Ilyas, S. 2005. Kultur Embrio Sebagai Embryo Rescue Pada Tanaman Kedelai (*Glycine max L. Merrill*). *Jurnal Komunikasi Penelitian*. 17(6) : 44-51.
- Komariah, A. 2008. Identifikasi Varietas Kedelai Toleran Terhadap Genangan. Fakultas Pertanian Universitas Winajaya Mukti, Sumedang.
- Lestari EG. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal Agro Biogen* 7(1), 63-68.
- Taiz, L., dan Zeiger, E., 1998. *Plant Physiology*, Massachusetts, Sinauer Associates

- Pandey, B. P. 2007. Botany: Angiospermae. S. Chand and Company, Ltd, New Delhi.
- Rahardja, B. S., A. T. Purwitasari., Moch., dan A. Alamsjah. 2012. Pengaruh ZPT Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*. Jurnal Of Marine and Coastal Science. 1(2) : 71-75.
- Sofia, D. 2007. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Benzyl Amino Purine dan CCC Terhadap Pertumbuhan Embrio Kedelai (*Glycine max L. Merrill.*) Secara In Vitro. USU, Medan.
- Widoretno W., D. Harran, Sudarsono. 2003. Keragaman Karakter Kualitatif dan Kuantitatif pada Populasi Tanaman Somaklonal Kedelai dari Embrio Somatik Hasil Seleksi *in Vitro*. *Hayati*.10 (4) : 110-117.
- Yunita, R. 2009. Pemanfaatan Variasi Smaklonal dan seleksi In Vitro Dalam Perakitan Tanaman Toleran Cekaman Abiotik. Jurnal Litbang Pertanian. 28(4) : 143-144.
- Yurmita, N., Asmeliza, dan E. Azriati. 2012. Respon Regenerasi Eksplan Kalus Kedelai (*Glycine max L. Merrill*) Terhadap Pemberian NAA Secara In Vitro. Universitas Negeri Padang, Padang