



## RESPON BIJI MUDA KEDELAI VAR SLAMET YANG DITUMBUHKAN DALAM MEDIA MS YANG MENGANDUNG 2,4-D

Iman Budisantoso dan Kamsinah  
Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman

[imanbudi\\_unsoed@yahoo.com](mailto:imanbudi_unsoed@yahoo.com)

### ABSTRAK

Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah mengetahui pengaruh 2,4-D terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan biji muda kedelai slamet kultur *in vitro*. Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Kelompok (RAK), perlakuan yang diberikan adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari 4 macam konsentrasi yaitu 0  $\mu\text{M/L}$ ; 5  $\mu\text{M/L}$ ; 10  $\mu\text{M/L}$  dan 15 $\mu\text{M/L}$ , masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Parameter yang diamati perkembangan eksplant meliputi : prosentase pertumbuhan melalui pembentukan kalus maupun proses embriogenesis, waktu tumbuh kalus, berat basah kalus dan jenis kalus yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplant tumbuh kalus. Perlakuan 2,4-D dengan konsentrasi 15  $\mu\text{M/L}$  menunjukkan waktu tumbuh kalus yang paling cepat. Perlakuan 2,4-D tidak mempengaruhi secara nyata terhadap berat basah dan prosentase kalus yang tumbuh. Sebagaimana besar kalus yang tumbuh bersifat kalus embrionik yang memungkinkan kalus dapat terferensiasi menjadi tanaman.

**Kata kunci :** kedelai varietas Slamet, 2,4-D, kultur *in vitro*, kalus

### ABSTRACT

*Objectives to be achieved in this study was to determine the effect of 2,4-D on growth and development of young soy beans slamet explant cultures in vitro. Research conducted experiments with experimental design randomized completely block design (RCBD), the treatment given is the concentration of 2,4-D which consists of 4 kinds of concentrations e.i: 0  $\mu\text{M/L}$ , 5  $\mu\text{M/L}$ , 10  $\mu\text{M/L}$  and 15  $\mu\text{M/L}$ , each treatment was repeated 3 times. Eksplant growth parameters observed include: the percentage of callus formation and growth through the process of embryogenesis, callus growing time, callus wet weight and the type of callus formed. The results showed that eksplant growing callus. Treatment with 2,4-D concentration of 15  $\mu\text{M/L}$  showed a callus growing the fastest. 2,4-D treatment did not significantly affect the wet weight and percentage of callus growth. In most callus yag embryonic callus growth is enabling callus can terferensiasi into plants.*

**Keywords:** soybean varieties Slamet, 2,4-D, *in vitro* culture, callus

### PENDAHULUAN

Kedelai varietas Slamet merupakan kedelai yang tahan terhadap penyakit karat, mempunyai produktifitas cukup tinggi 2,6 ton/Ha yang dilepas pada tahun 1995 (Sunarto, 1997). Hasil penelitian Budisantoso (1999), menunjukkan bahwa varietas Slamet tahan terhadap kekeringan, pertumbuhan dan hasil tanaman mulai menurun pada kadar air tanah 50% dari kapasitas lapang. Adanya kenyataan tersebut maka perlu mengetahui bagaimana respon biji muda terhadap pemberian 2,4-D dalam media MS dalam rangka memperoleh tanaman baru melalui kultur *in vitro*. Dengan pelakuan hormon tanaman (2,4-D) eksplant yang ditumbuhkan dapat diinduksi untuk membentuk tanaman melalui tahapan embrionik yaitu melalui tahapan globuler, jantung yang menghasilkan kotiledone dan bentuk terpedo (Widoretnoet *al.*, 2003a). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui bagaimana respon biji muda kedelai var Slamet yang



ditumbuhkan dalam media MS yang mengandung 2,4-D dalam kultur *in vitro*, sehinggakallus maupun planlet yang dihasilkandapat dimanfaatkan untuk penelitian selanjutnya diantaranya mendapatkan tanaman tahan kering dengan perlakuan PEG maupun tahan terhadap tanah masam.

Kedelai varietas Slamet mempunyai produktivitas lebih tinggi dari tetuanya dan tahan terhadap kekeringan (Budisantoso dan Hartiko, 2001). Kedelai varietas Slamet merupakan kedelai yang dilepaskan pada masyarakat pada tahun 1995, merupakan kedelai yang tahan pada tanah masam, tahan pada kondisi kering, dengan rata-rata berat 100 biji adalah 12,5 g atau mempunyai produktivitas 2,26 ton/Ha dengan kandungan protein biji 34%, sementara tetuanya Varietas Wilis berat 100 biji adalah 10 g, produktivitas 1,6 ton/Ha dan kandungan protein biji 37% sedangkan varietas Dempo berat 100 biji adalah 12 g, produktivitas 1,5 ton/Ha. Kenyataan tersebut menunjukkan bahwa kedelai varietas Slamet mempunyai produktivitas yang cukup tinggi, namun akhir-akhir ini ukuran biji varietas Slamet telah menurun, karena diduga mengalami segregasi genetik, hal ini ditunjukkan dari hasil pengamatan awal berat 100 biji yang dipanen pada bulan Oktober 2008 adalah 7,58 g.

Upaya peningkatan produktivitas varietas slamet telah banyak dilakukan diantaranya dengan menggunakan teknologi sonik bloom yaitu menggunakan suara berfrekuensi tinggi yang dibarengi dengan pemberian hara tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknologi sonik bloom dapat meningkatkan berat kering tanaman dan berat biji/tanaman (Budisantoso dan Proklamasingsih, 2003). Upaya lain untuk meningkatkan produktivitas adalah dengan perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,25-0,75 %, yang direndaman selama 6-24 jam. Biji yang telah mendapat perlakuan kolkisin ditanam dalam media tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin mampu mengubah penampilan pertumbuhan awal (kecambah). Pada umur 20 hst (hari setelah tanam) tanaman mati karena bulu-bulu akar tidak tumbuh sehingga tanaman tidak mampu menyerap hara (Budisantoso dan Kamsinah, 2009).

Adanya kenyataan tersebut di atas maka perlu upaya penelitian lebih lanjut, guna menghasilkan tanaman kedelai yang lebih unggul. Dalam penelitian ini, embrio kedelai varietas slamet yang masih mudah dalam proses pengisian polong ditanam dalam media MS dengan penambahan hormon 2,4-D untuk menginduksi proses embriogenesis, maupun pembentukan kallus selanjutnya kallus diinduksi untuk membentuk planlet.

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan dengan dua metode yaitu melalui organogenesis dan embriogenesis (Litz dan Gray, 1995). Dibandingkan dengan organogenesis teknik embriogenesis lebih unggul karena mampu menghasilkan embrio bipolar dari sel atau jaringan vegetatif.

Keberhasilan kultur *in vitro* sangat bergantung pada media yang digunakan. Media kultur *in vitro* yang digunakan harus mengandung air, unsur-unsur hara makro dan mikro, vitamin serta sumber karbon. Perbanyakan tanaman secara *in vitro* pada umumnya menggunakan media MS (Murashige dan Skoog, 1962) karena kandungan unsur-unsur haranya baik makro maupun mikro lebih lengkap dibandingkan dengan media dasar lainnya dan sebagian besar jenis tanaman memberikan respon positif terhadap penggunaan media ini (Noerhadi, 1989). Hal ini ditunjukkan pula pada induksi kallus papaya (Sutanno *dkk*, 2008), kallus bawang merah (Mariani *dkk*, 2003), embriogenesis kedelai (Mariska *dkk*, 2004; Chao Yang *et al.*, 2009). Srilestari (2005) membandingkan media MS dengan B5 (Gamborg) untuk pembentukan kallusdari embrio kacang tanah, ternyata media MS memberikan pertumbuhan kallus yang lebih baik dari pada media B5. Narayanaswami (1994) menyatakan bahwa media MS mengandung nitrat, amonium dan kalium lebih tinggi dari kebanyakan media lainnya, sehingga akan mempengaruhi pembentukan tunas *in vitro*, dengan cara meningkatkan sintesis sitokinin. Franch *et al.* (1985) menambahkan bahwa nitrat dan kalium berperan dalam mendukung pertumbuhan eksplan.

Komponen yang penting dalam keberhasilan kultur *in vitro* adalah penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT). 2,4-D (dichlorophenoxyacetic) merupakan salah ZPT golongan auxin yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* (Fernando *et al.*, 2002), karena lebih stabil bila dibandingkan dengan auxin lainnya. Mariani *dkk* (2003) menunjukkan bahwa penggunaan 2,4-D dalam media MS dengan konsentrasi 0,5 – 1  $\mu\text{M}$  akan menstimulir pembentuk kallus bawang



merah, namun apabila konsentrasi 2,4-D 0,1  $\mu\text{M}$  akan membentuk kallus yang diikuti terbentuknya embriogenesis. Hasil penelitian Aisyah *dkk.* (2007) menggunakan 2,4-D dalam media MS dengan konsentrasi 8 ppm baik untuk menstimulir pembentukan kallus pepaya. Mariani *dkk.* (2003), bila dibandingkan dengan auxin lainnya 2,4-D sangat baik untuk menstimulis pembentuk kallus.

Menurut Bhojwani dan Razdan (1983), zat pengatur tumbuh dalam kultur *in vitro* dapat merangsang pertumbuhan dan morfogenesis eksplan. Kinetin dan auxin sering ditambahkan dalam media untuk memacu pembentukan kalus dan diferensiasi jaringan (Akiyoshi *et al.*, 1983). Kinetin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang sering digunakan dalam media teknik kultur jaringan karena aktif pada konsentrasi rendah (5 – 50  $\mu\text{M}$ ), relatif stabil, mudah diserap dan mudah dimetabolismekan. Kinetin merupakan zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang berpengaruh pada pembelahan sel (Wareing dan Phillips, 1982) dan pemanjangan sel (Ross dan Rayle, 1982). Hasil penelitian Kamsinah (2005) menunjukkan bahwa jenis sitokinin memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan palea dan lemma padi secara *in vitro*, zat pengatur tumbuh kinetin (pada konsntrasi 10  $\mu\text{M}$ ) memberikan pertumbuhan yang lebih baik apabila dibandingkan dengan BAP. Pemberian kinetin dalam media MS memberikan pertumbuhan kalus hypokotil kedelai yang lebih baik dari NAA. Auxin akan berpengaruh pada pertumbuhan dan morfogenesis, pada sel akan berpengaruh pada pembelahan, dan pembesaran (Dietz *et al.*, 1990). Hasil penelitian Sudrajat *et al.* (2002), kombinasi kinetin dan auxin dapat meningkatkan pembentukan kalus batang enceng gondok.

Di dalam kultur *in vitro*, eksplan yang dipergunakan merupakan bagian kecil dari tanaman dan bukan satu individu tanaman. Untuk itu banyak bahan-bahan organik yang harus ditambahkan ke dalam media untuk mendukung pertumbuhan yang optimal. Karbohidrat terutama gula, merupakan komponen yang selalu ada dalam media tumbuh, kecuali dalam media untuk tujuan yang spesifik. Dalam media MS kandungan sukrosa berkisar 3% atau 30 g/L media, jumlah tersebut cukup baik untuk pembentukan kallus (Fernando *et al.*, 2002).

Pada tanaman kedelai, eksplan yang digunakan dalam kultur *in vitro* sangat beragam, dapat menggunakan apikal akar, batang maupun jaringan meristimatis daun, namun kendala yang dihadapinya adalah trikhoma yang menutupi seluruh permukaan daun, sehingga menyulitkan dalam strilisasi. Namun kendala ini dapat diatasi dengan penambahan tween, namun demikian tetap dapat meningkatkan resiko kontaminasi. Rodrigues *et al.* (2006) mendapatkan kesulitan pada waktu mengkultur mikropora dan pollen tanaman kedelai, diantara : 1) trikhoma banyak menutupi kuncup bunga, sehingga akan berpengaruh pada sterilisasi, 2) kuncup bunga tidak menunjukkan respon pada kultur *in vitro*, 3) sedikitnya jumlah mikropora bunga, 4). Pollen bunga kedelai sangat kecil (dengan ukuran 3-3,5 mm), sehingga sangat menyulitkan untuk di kultur. Adanya kenyataan tersebut maka perlu dicoba dengan menggunakan eksplan embrio muda kedelai, selain itu dengan menggunakan embrio akan memudahkan strilisasi biji, sehingga tingkat keberhasilan sangat besar.

## METODE ANALISIS

### 1. Materi dan Metode Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kedelai Varietas Slamet yang diperoleh dari breeder yaitu Prof. Dr Sunarto. Bahan yang digunakan terdiri dari alkohol, aquadestilata, HCL 1N, NaOH 1N, media dasar Murashige & Skoog (MS) dan hormon tumbuh 2,4-D.

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Kelompok (RAK), perlakuan yang diberikan adalah 2,4-D dengan konsentrasi 0; 5; 10 dan 15  $\mu\text{M}$ . Eksplan biji muda ditanam dalam media MS sesuai dengan perlakuan yang ditempatkan pada petridisk. Tiap petridisk ditanam 5 buah eksplan, ulanga sebanyak 3 kali. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah waktu tumbuh kallus, prosentase kallus yang tumbuh, berat basah kallus, tipe kallus yang tumbuh dan prosentase pertumbuhan melalui embriogenesis.



## 2. Cara Kerja Penelitian

Media kultur yang digunakan yaitu media Murashige & Skoog (MS) yang digunakan untuk setiap perlakuan sebanyak 200 ml. Kedalam 50 ml aquades, ditambahkan 100 ml larutan stok hara makro, 0,8 ml larutan stok hara mikro, 1 ml larutan stok iodine, 1 ml larutan stok vitamin, 0,25 ml larutan stok EDTA, 1 ml larutan stok besi, 80 mg mioinositol, 6 g sukrosa. Atur pH hingga mencapai 5,85 dengan penambahan NaOH 1 N atau HCL 1 N. Tambahkan 7 g/l agar dan aquades hingga mencapai volume 200 ml.

Penanaman dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet*. Bahan tanam berupa buah kedelai yang masih terjadi pengisian polong (15 hari setelah anthesis), dilakukan sterilisasi dengan alkohol 70% selama 3 menit, cuci dengan menggunakan aquadet steril sebanyak 3 kali. Sterilisasi dilakukan kembali dengan menggunakan HgCl 2% selama 5 menit dan dicuci kembali dengan aquadet steril sebanyak 3 kali. Embrio dikeluarkan dari dalam polong, dibuang kulit ari dan dibelah selanjutnya ditanam dalam media yang telah dipersiapkan. Masing-masing embrio yang telah ditanam diberi label sesuai dengan perlakuan media. Setiap hari eksplant yang telah ditanam diamati untuk mengetahui waktu tumbuh

Embrio yang telah ditanam disimpan ditempatkan dalam ruangan inkubasi dalam kondisi gelap guna menginduksi embriogenesis. Apabila telah terbentuk tanaman botol tanam dikeluarkan dan diberi penyinaran dengan intensitas cahaya yang didapat dari lampu neon sebesar 600 - 1000 lux yang dinyalakan secara kontinyu. Apabila terjadi kontaminasi maka segera ditanam kembali sesuai dengan perlakuannya.

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan cara menghitung jumlah prosentase embriogenesis yang terjadi. Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan uji F dengan taraf kepercayaan 95% dan 99%, yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang dicobakan. Apabila menunjukkan bedanya nyata, dilanjutkan uji lanjut BNT untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pengamatan ekplan yang telah ditanam dalam media MS menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D memberikan pengaruh terhadap perkembangan eksplan biji muda kedelai (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan penelitian Widoretno *et al.* (2003b); Fernando *et al.* (2002), penggunaan 2,4-D akan memberikan pengaruh positif terhadap perkembangan eksplan kedelai.

Tabel 1. Data hasil pengamatan eksplan biji kedelai yang ditumbuhkan dalam media MS dengan perlakuan 2,4-D

Perlakuan	Waktu tumbuh kalus (hari)				Prosetase terbenuk kalus (%)				Berat basah kalus (mg)				Type kalus		
	Ulangan			rerata	Ulangan			rerata	Ulangan			rerata	I	II	III
	1	2	3		1	2	3		1	2	3				
0 $\mu$ M	10	8	11	9,67	87,5	75	75	79,17	11,5	12,5	7,5	10,50	58,33	0	16,67
5 $\mu$ M	15	13	14	14	62,5	75	62,5	66,67	10,5	6,5	14,5	10,50	54,17	0	12,5
10 $\mu$ M	12	13	14	13	87,5	75	75	79,17	6,5	11,5	1,5	6,50	58,33	0	16,67
15 $\mu$ M	20	18	19	19	100	75	75	83,33	6,5	2,5	7,5	5,50	54,17	0	16,67

**Keterangan :** Kalus Type I : Embrionik; type II : Proliferatif; type III : Senesen

Setelah dilakukan analisis data ternyata 2,4-D memberikan pengaruh sangat nyata terhadap waktu tumbuh kalus (Tabel 2). Semakin tinggi konsentrasi 2,4-D yang diberikan pertumbuhan kalus semakin cepat. Perlakuan 2,4-D 15  $\mu$ M memberikan pertumbuhan kalus yang paling cepat yaitu 9,67 hari (Gambar 1). Hal ini berbeda dengan penelitian Budisantoso *et al.* (2011), bahwa perlakuan 2,4-D pada eksplan kotiledon akan menghambat pertumbuhan kalus. Perbedaan ini dikarenakan adanya perbedaan kondisi internal eksplan, pada penelitian

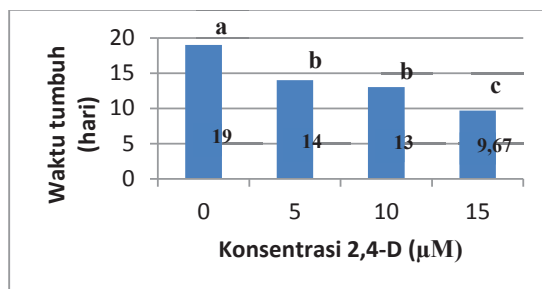


Budisantoso *et al.* (2011), eksplan yang digunakan adalah biji kedelai yang telah dipanen sehingga merupakan biji yang matang dan dikecambahkan terlebih dahulu untuk memudahkan pemisahan antara embrio dan kotiledon, sedangkan pada penelitian ini eksplan yang digunakan adalah biji yang mulai melakukan pengisian dalam polong, sehingga merupakan biji muda yang tidak dapat dipisahkan antara embrio dan kotiledon.

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam Pengaruh 2,4-D terhadap Waktu Tumbuh Kalus Biji Kedelai Varietasn Slamet dalam media MS

No	Sumber keragaman	Df	SK	MS	F hitung	F tabel	
						F 5%	F 1%
1	Ulangan	2	5,167	2,583	2,82 <sup>ns</sup>	5,14	10,92
2.	Perlakuan	3	134,250	44,750	48,82**	4,76	9,78
3	Galat	6	5,500	0,917	-	-	-
4	Total	11	144,917	-	-	-	-

**Keterangan :** \*\* berbeda sangat nyata  
<sup>ns</sup> tidak berbeda nyata



**Keterangan :** huruf yang sama terletak diatas data waktu tumbuh kalus menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%.

**Gambar1.** Histogram pengaruh 2,4-D terhadap Waktu Tumbuh Kalus biji Keledai Varietas Slamet

Hasil analisis data terhadap berat basah kalus dan prosentase kalus yang tumbuh menunjukkan bahwa perlakuan 2,4-D yang diberikan tidak memberikan pengaruh nyata (Tabel 3). Hal ini disebabkan 2,4-D akan mengisiasi hingga terbentuk kalus, namun dalam perkembangan selanjutnya perlu dilakukan regeresi kalus dengan cara memindahkan ke dalam media baru, apabila hal ini tidak dilakukan maka kalus akan mengalami senesen. Hasil ini ditunjukkan pula adanya korelasi antara berat basah kalus dengan waktu tumbuh ( $r = -0,448$ ), dengan bertambahnya waktu tumbuh kalus maka berat basah kalus akan berkurang yang disebabkan terjadinya senesen yang akhirnya akan megalami kematian.

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam Pengaruh 2,4-D terhadap prosetastase kalus yang tumbuh dan berat basah kalus

Berat basah kalus	No	Sumber keragaman	Df	SK	MS	F hitung	F table	
							F 5%	F 1%
Berat basah kalus	1	Ulangan	2	2,00	1,00	0,06 <sup>ns</sup>	5,14	10,92
	2.	Perlakuan	3	62,25	20,75	1,15 <sup>ns</sup>	4,76	9,78
	3	Galat	6	108,00	18,00	-	-	-
	4	Total	11	172,25	-	-	-	-
Prosentase kalus yang tumbuh	1	Ulangan	2	338,54	169,27	2,60 <sup>ns</sup>	5,14	10,92
	2.	Perlakuan	3	468,75	156,25	2,40 <sup>ns</sup>	4,76	9,78
	3	Galat	6	390,63	65,10	-	-	-
	4	Total	11	1197,92	-	-	-	-

**Keterangan :** <sup>ns</sup> tidak berbeda nyata





Type kalus yang terbentuk sebagian besar berupa kalus embrionik (Tabel 1) yang bersifat remah dan berwarna hijau karena mengandung klorofil hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan kalus dapat terdiferensiasi membentuk organ tanaman.

### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan 2,4-D 15  $\mu\text{M}$  dapat digunakan untuk menumbuhkan kalus embrio muda kedelai Slamet.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah S.I., Sutjahjo S.H., Rustikawati dan Herison C. 2007. Induksi Kallus Embriogenik pada Kultur *In vitro* Jagung (*Zea mays* L.) dalam rangka Peningkatan Keragaman Genetik Melalui Variasi Somaklonal. Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia. Edisi Khusus. No. 3 : 344 – 350.
- Akiyoshi D.E., R.O Morris, R. Hinz, B.S. Mischke, T. Kosuge, D.J. Garfinkel, M.P. Gordon, and E.W. Nester. 1982. Cytokinin/auxin balance in crown gall tumor is regulated by spesific loci in the T-DNA. *Poc. Natl.Acad.Sci USA* 80: 407-411.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1983. *Plant Tissue Culture Theory and Practice* Elsevier. Amsterdam. Oxford. New York. Tokyo.
- Budisantoso I. 1999. Pengaruh Lengas tanah dan pemupukan N terhadap aktivitas nitrat reduktase, retensi polong dan hasil kedelai (*Glycine max* (L) Merr). Tesis. Pascasarjana. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Budisantoso I dan Hari Hartiko. 2001. Pertumbuhan, Hasil Tanaman dan ANR daun Kedelai pada beberapa lengas tanah dan Pemupukan Nitrogen. *Biosfera* 18(1): 30-35
- Budisantoso I dan Kamsinah. 2009. Pengaruh Kolkisin terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai. Laporan hasil penelitian. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Budisantoso I dan Proklamasingih E. 2003. Studi berbagai lengas tanah dan teknologi sonic bloom dalam upaya meningkatkan pertumbuhan serta hasil tanaman kedelai. *J. Pembangunan Pedesaan*: 3(2):91-99.
- Chao Yang, Tuanjie Zhao, Deyne Yu and Junyi Gai. 2009. Somatic Embryogenesis and plant regeneration in Chinese soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) – impacts of mannitol, abscisic acid and explant age. *In vitro Cell. Dev. Biol-Plant* 45 : 180 – 188.
- Dietz., A.U. Kutsc and P.M. Ray. 1990. Auxin enhancement of mRNAs in epidermis and intenal tissue of the pea stem and its significance for control of elongation. *Plant Physiol* 93: 432-438.
- Fernando J.A., Carneiro M.L., Geraldi I.O., and Appezzato-da-Gloria B. 2002. Anatomical Study of Somatic Embryogenesis in *Glycine max* (L.) Merill. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 45 (3) : 277 – 286.
- Franch J.P., L. Oglesby and A.C. Zielinski. 1985. Plant Regeneration from embryo Derived Tissue Cultures of Soy Beans. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 21 (11) : 653 – 658.
- Kamsinah. 2005. Studi Tentang Pengaruh Pemberian Sitokinin pada Pertumbuhan Palea dan Lemma Padi dalam Kultur *In Vitro*. Tesis (tidak dipublikasikan) Program Pascasarjana. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Mariani T.S., Hiroshi Miyake, Esyanti R. R., Nurwendah I. 2003. Effect of 2,4 D Inderect Somatic Embryogenesis and Surface Structural Change in Garlic (*Allium sativum* L.) cv. Lumbu Hijau. *Jurnal Matematika dan Sains* 8 (4) : 133 – 139.
- Mariska I., E. Sjamsudin., D. Sopandie., S. Hutami., A. Husni., M. Kosmiatin dan A. Vivi N. 2004. Peningkatan Ketahanan Tanaman Kedelai terhadap Almunium melalui Kultur *in vitro*. *J. Litbang Pertanian* 23 (2) : 46 – 52.
- Rodrigues L.R., Marcelo J. S.O., Mariath J.E.A., and Bodanese-Zanettini M.H. 2005. Histology od Embryogenic Responses in Soybean Ather Culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 80 : 129 – 137.



- Ross C.W., and D.L. Rayle. 1982. Evaluation of H secretion Relative to zeatin-induced growth of detached cucumber cotyledons. *Plant Physiol* 70: 1470-1474.
- Srilestari R. 2005. Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah pada Berbagai Macam Vitamin dan Sukrosa. *Ilmu Pertanian* 12 (1) : 43 – 50.
- Sudrajat H., Kusumodewi Y., dan Sugiarto. 2002. Efektivitas hormon kinetin dan IAA terhadap pertumbuhan eksplan batang encok (*Plumbago zeylanica* Linn). Agris record number ID2006000119. <http://www.fao.org/agris>. Di download pada tanggal 21 Maret 2009.
- Sunarto. 1997. Kedelai Varietas Slamet dan Sindoro. Fakultas Pertanian. Unsoed. Purwokerto.
- Widoretno Wahyu, Rita Megia, dan Sudarsono. 2003a. Reaksi Embrio Somatik Kedelai terhadap Polietilena Glikol dan Penggunaannya untuk Seleksi *In Vitro* terhadap Cekaman Kekeringan. *Hayati*.10 (4) : 134-139.
- Widoretno Wahyu, Daid Harran, dan Sudarsono. 2003b. Keragaman Karakter Kualitatif dan Kuantitatif pada Populasi Tanaman Somaklonal Kedelai dari Embrio Somatik Hasil Seleksi *in Vitro*. *Hayati*.10 (4) : 110-117.
- Wareing. P.F., and Phillips, I.D.J. 1981. *Growth and Differentiation an Plant* (3rd edition). Pergamon Press. Oxford.