

**RESPON KALUS KEDELAI (*Glycine max* L. Merr) PADA MEDIA B5
DENGAN PENAMBAHAN PEG (*Polyehtylena Glycol*) 6000 SEBAGAI
SIMULASI CEKAMAN KEKERINGAN**

SKRIPSI

Oleh:
IKE SHOFIATUL AZIZAH
NIM. 06520050



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2010**

**RESPON KALUS KEDELAI (*Glycine max* L. Merr) PADA MEDIA B5
DENGAN PENAMBAHAN PEG (*Polyehtylena Glycol*) 6000 SEBAGAI
SIMULASI CEKAMAN KEKERINGAN**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

**Fakultas Sains Dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN)
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh :

**IKE SHOFIATUL AZIZAH
NIM. 06520050**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2010

**RESPON KALUS KEDELAI (*Glycine max* L. Merr) PADA MEDIA B5
DENGAN PENAMBAHAN PEG (*Polyehtylena Glycol*) 6000 SEBAGAI
SIMULASI CEKAMAN KEKERINGAN**

SKRIPSI

Oleh :
IKE SHOFIATUL AZIZAH
NIM. 06520050

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

Achmad Nasihuddin, M.Ag
NIP. 19730705 200003 1 002

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114 199903 100 1

**RESPON KALUS KEDELAI (*Glycine max* L. Merr) PADA MEDIA B5
DENGAN PENAMBAHAN PEG (*Polyehtylena Glycol*) 6000 SEBAGAI
SIMULASI CEKAMAN KEKERINGAN**

SKRIPSI

Oleh :
IKE SHOFIATUL AZIZAH
NIM. 06520050

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Telah Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Tanggal 13 Oktober 2010

Susunan Dewan Penguji	Tanda Tangan
1. Penguji Utama : Dwi Suheriyanto, S.Si, M.P NIP.19740325 200312 1 001	()
2. Ketua : Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd NIP.19630114 199903 1 001	()
3. Sekretaris : Evika Sandi Savitri M.P NIP. 19741018 200312 2 002	()
4. Anggota : Achmad Nasihuddin,M.Ag NIP. 19730705 200003 1 002	()

**Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi**

**Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP.196301141999031001**

Persembahan

Ku persembahkan karya ini sebagai rasa syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kesempatan kepadaku untuk melangkah di jalan Islam melalui perantara Nabi-Mu Muhammad SAW, Nabi akhir zaman yang dengan segala ajaran menuntunku hingga aku menghirup sejuaknya Islam.

Kepada kedua orang tuaku (Sofyan Sauri, S.Pd dan Aisyah Susanti) yang telah memberiku dukungan dan semangat serta do'a sehingga aku mampu menjalani segalanya sesuai harapan.... Trimakasih....

Keluarga besar, dan adek-adek ku "Mery dan Ical" yang telah memberikan kebahagiaan dan keceriaan dalam keluarga kecil kami.... Tante Devi yang selalu menjadi teman yang melengkapi keluarga kecil ku serta sepupu-sepupu ku yang menambah keceriaan keluarga.

*Keluarga Wisma Catalonia Yunis, Inonk, Inju, Vina, new members Bety, yang dengan keceriaan dan kesetiannya menjadi sahabat yang selalu memberikan motivasi dan inspirasi dalam hangatny persahabatan, dan itu membuat aku selalu ingin pulang kerumah kecilku "kamar pojok".
Semoga Persahabatan Kita Akan selalu terukir di setiap langkah perjalanan kita.*

*Sahabat-sahabat ku Gen_be Firda, Fida, Hefni, b Zizah,
Uyun, Arobi, Fitri, Ani, Ari, Fatoni, Teh Rimah, Rizal,
Hawin, Mega, arek2 kontraan Bio dan teman-teman Ikabio
'06 yang selalu memberiku inspirasi untuk maju dan
bersama-sama mencapai kesuksesan.... Trimakasih untuk
semuanya... kenangan, semangat, dan motivasi kalian akan
menjadi bagian yang terpenting dalam hidupku....*

*Sahabat-sahabat Excellent 3, Tami, U2s, Ye2n n Baby, Las3,
Imut, Maz Risq, Maya, Indah, teman-teman H1, Imey, Ulik,
Jenni, teman-teman 32 (Lia, b Arik, Ika, I2q, Fenty n 32's boy)
thanks kalian bisa membuat aku tertawa....*

N for My J_Q Gili2..... thanks for All....

*Sahabat-sahabat Rayon Pencerahan "Galileo", pengurus
Komisariat periode 2009/2010 (Refqi, Agus, Wildan, Luthing,
B' Lely, Wafa) dan semua warga PMII Komisariat Sunan
Ampel Malang.... Terimakasih atas kesempatannya....*

Semangat perjuangan.....

Motto

إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ ۗ

Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri

(Ar-Ra'd ayat 11)

Didalam mencoba kita menemukan dan belajar membangun kesempatan untuk berhasil (Mario Teguh)

KATA PENGANTAR



Segala puji syukur bagi Allah SWT karena atas rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul **“Respon Kalus Kedelai (*Glycine max* L. Merr) Pada Media B5 Dengan Penambahan PEG (*Polyethylene Glycol*) 6000 Sebagai Simulasi Cekaman Kekeringan”**. Shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW yang telah membawa pancaran cahaya pengetahuan dan kebenaran, sehingga sampai detik ini masih mengarungi hidup dengan landasan iman dan Islam.

Seiring dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah memberikan arahan, bimbingan dan motivasi kepada penulis. Untuk itu, iringan doa’ dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Drs. H. Sutiman Bamabang Sumitro, S.U.DSc, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Eko Budi Minarno M.Pd, selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

4. Suyono M.P selaku Koordinator Laboratorium Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Evika Sandi Savitri, M.P selaku dosen pembimbing utama yang dengan penuh kesabaran selalu membimbing, mengarahkan dan meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Ach. Nashichuddin, M.A, selaku dosen pembimbing agama yang telah sabar, memberikan bimbingan, arahan dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
7. Nur Wakidah, M.Si dan Amalia Fitri Andriani, M.Si selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan masukan dan arahan selama perkuliahan hingga skripsi ini terselesaikan.
8. Ir. Tintrim Rahayu, M.Si dan Ahmad Faridi W, S.Si selaku konsultan kultur jaringan tumbuhan yang selalu memberikan bimbingan dan pengarahan serta motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
9. Bapak Ibu Dosen Biologi yang telah mengajarkan banyak hal dan memberikan pengetahuan yang luas kepada penulis selama masa kuliah sampai pada penyelesaian skripsi ini.
10. Bapak dan Ibu tercinta, adek-adekku tersayang dan semua keluarga besarku, yang selalu menjadi kekuatan dalam diri dan yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan spiritual maupun materil serta do'anya yang selalu mengalun setiap saat sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan dengan baik.

11. Teman-teman seperjuangan KJT Team (Firda Amaliah Nur, Siti Noer Azizah dan Qurrotul Uyun) terimakasih atas motivasi, kerjasama, kekompakan dan kesabarannya sehingga penelitian ini bisa terselesaikan sesuai yang diharapkan.
12. Para Senior Biologi mbak Lil, mas Zulfan, mas Smile, mas Soleh dan mas Basyar yang telah memberikan dukungan, motivasi dan semangatnya selama pelaksanaan penelitian.
13. Teman-teman Biologi yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu khususnya teman-teman angkatan 2006 yang memberikan motivasi dan dukungan selama kuliah dan penulisan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
14. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang memberikan do'a, semangat, dukungan, saran dan pemikiran sehingga penulisan ini menjadi lebih baik dan terselesaikan.

Tiada kata yang pantas penulis ucapkan selain do'a Semoga Allah memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Akhirnya penulis berharap skripsi ini bermanfaat dan dapat menjadi inspirasi bagi pembaca pada umumnya.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Malang, 30 September 2010

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
ABSTRAK	ix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	6
1.4 Hipotesis	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
1.6 Batasan Masalah.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Umum Kedelai (<i>Glycine max</i>).....	8
2.1.1 Klasifikasi Kedelai (<i>Glycine max</i>).....	9
2.1.2 Morfologi Kedelai (<i>Glycine max</i>)	9
2.2 Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Tanaman Kedelai ..	12
2.3 Pertumbuhan Kedelai Secara <i>In Vitro</i>	16
2.4 Kultur Kalus	18
2.5 Faktor-Faktor yang Menentukan Keberhasilan Kultur <i>In Vitro</i>	19
2.5.1 Eksplan (Bahan Tanam)	19
2.5.1.1 Memilih Eksplan	20
2.5.1.2 Bagian Eksplan Yang Digunakan	21
2.5.2 Media Kultur <i>In Vitro</i>	21
2.5.3 Zat Pengatur Tumbuh	24
2.6 Penggunaan PEG (<i>Polyethylena glycol</i>) Sebagai Simulasi Cekaman Kekeringan	27
2.7 Perubahan dan Perbaikan Menurut Perspektif Islam	29

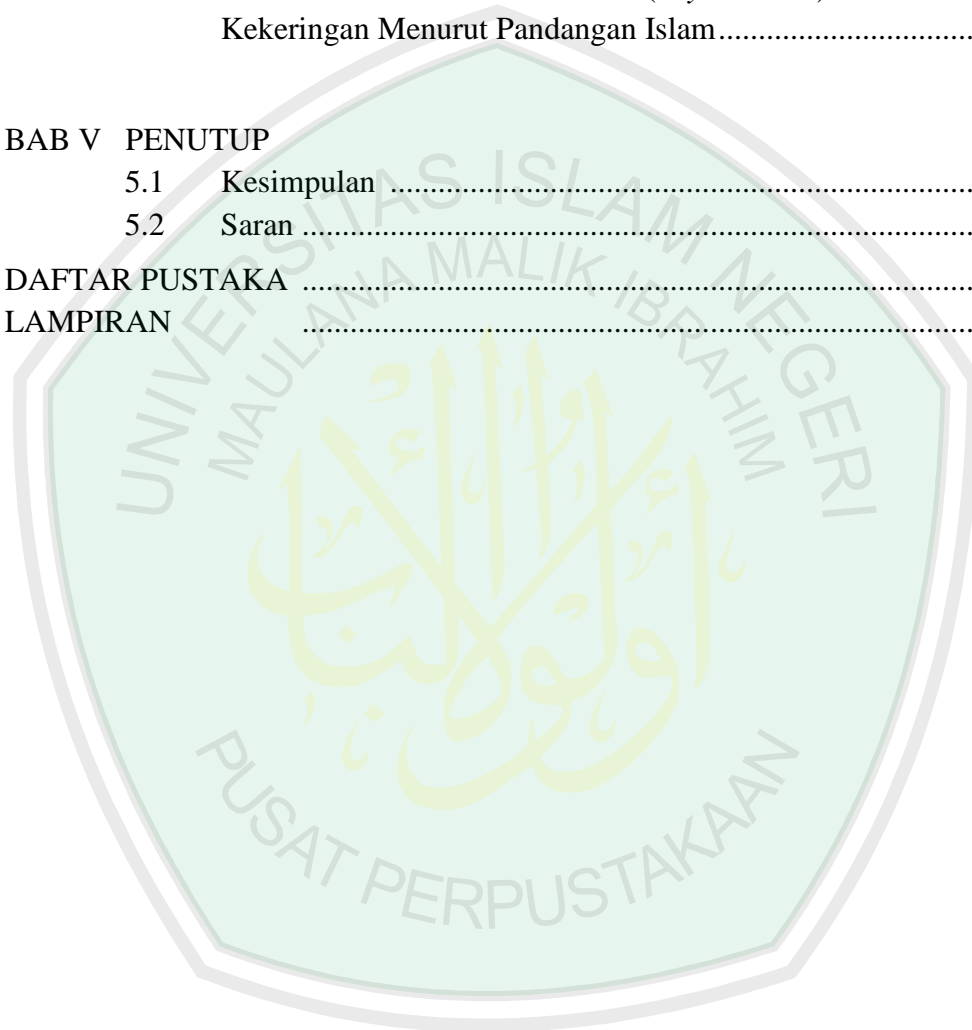
BAB III METODE PENELITIAN

3.1	Rancangan Percobaan	36
3.2	Variabel Penelitian	36
3.2.1	Variabel Bebas	36
3.2.2	Variabel Terikat	36
3.2.3	Variabel Terkendali	37
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian	37
3.4	Alat dan Bahan Penelitian	37
3.4.1	Alat	37
3.4.2	Bahan	37
3.5	Prosedur Kerja	38
3.5.1	Sterilisasi Alat	38
3.5.2	Pembuatan Media	38
3.5.3	Sterilisasi Media	38
3.5.4	Sterilisasi Ruang Tanam	40
3.5.5	Persiapan dan Sterilisasi Eksplan	40
3.5.6	Penanaman dan Pemeliharaan Eksplan	41
3.5.6.1	Penanaman Biji	41
3.5.6.2	Inisiasi Kalus Kotiledon	41
3.5.6.3	Subkultur Kalus Kotiledon	41
3.5.6.4	Seleksi Kalus Pada Media PEG 6000	42
3.6	Variabel Pengamatan	42
3.6.1	Variabel Kualitatif	42
3.6.2	Variabel Kuantitatif	43
3.7	Teknik Pengambilan Data	44
3.7.1	Morfologi Kalus	44
3.7.2	Berat Basah dan Volume Kalus	44
3.8	Analisa Data	44

BAB IV PEMBAHASAN

4.1	Respon Pembentukan Kalus Dari Biji Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Media Inisiasi Kalus	45
4.2	Respon Perkembangan Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Media Subkultur	48
4.2.1	Morfologi Kalus (Warna dan Tekstur Kalus)	48
4.2.2	Pertambahan Volume Kalus	50

4.3	Respon Pertumbuhan Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Media PEG 6000 Sebagai Simulasi Cekaman Kekeringan	53
4.3.1	Morfologi Kalus (Warna dan Tekstur Kalus) Pada Media PEG 6000.....	53
4.3.2	Berat Kalus Pada Media PEG 6000	57
4.4	Usaha Mencari Varietas Kedelai (<i>Glycine max</i>) Tahan Kekeringan Menurut Pandangan Islam.....	65
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	70
5.2	Saran	71
DAFTAR PUSTAKA		72
LAMPIRAN		78



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Data Inisiasi Kalus Beberapa Varietas Kedelai (<i>Glycine max</i>) Selama Dua Minggu	45
Tabel 4.2	Perubahan Morfologi Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Media Subkultur	49
Tabel 4.3	Ringkasan ANAVA Tunggal Tentang Pengaruh Varietas Terhadap Pertambahan Volume Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>)	51
Tabel 4.4	Rata-Rata Pertambahan Volume Kalus (cm) Pada Beberapa Varietas Kedelai Pada Hari Ke 14 Setelah Subkultur	51
Tabel 4.5	Perubahan Morfologi Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Media Subkultur	53
Tabel 4.6	Ringkasan ANKOVA Faktorial Tentang Pengaruh Pemberian Konsentrasi PEG 6000 yang Berbeda Terhadap Berat Total Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>)	58
Tabel 4.7	Rata-Rata Berat Kalus (Gram) Kedelai (<i>Glycine max</i>) Total Pada Pemberian PEG 6000 dengan Konsentrasi yang Berbeda.....	58
Tabel 4.8	Rata-rata Berat Kalus (Gram) Pada Perlakuan PEG 6000 dengan Berbagai Konsentrasi	61
Tabel 4.9	Rata-rata Berat Kalus Pada Berbagai Varietas Kedelai (<i>Glycine max</i>) Dalam Media dengan Penambahan PEG 6000.....	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tipe Perkecambahan Epigeal	11
Gambar 2.2	Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus	19
Gambar 2.3	Struktur Kimia 2,4-D.....	26
Gambar 2.4	Struktur Kimia PEG (<i>polyethylene glycol</i>)	27
Gambar 4.1	Inisiasi Kalus Pada Pengamatan Hari Ke 14 Setelah Tanam	46
Gambar 4.2	Diagram Persentase Eksplan Membentuk Kalus Pada Berbagai Macam Varietas Kedelai (<i>Glycine max</i>).....	48
Gambar 4.3	Perubahan Warna dan Tekstur Kalus Beberapa Varietas Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Pengamatan Hari Ke 1 Subkultur dan Hari Ke 14 Subkultur	49
Gambar 4.4	Peningkatan Volume Kalus Pada Pengamatan Hari Ke 14 Setelah Disubkultur	52
Gambar 4.5	Pengamatan Perubahan Warna dan Tekstur Kalus Beberapa Varietas Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Pengamatan Hari ke 15 Setelah Subkultur Pada Media PEG 6000	54
Gambar 4.6	Diagram Rata-Rata Berat Kalus (Gram) Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Pemberian PEG 6000 dengan Konsentrasi yang Berbeda.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Komposisi Media B5	78
Lampiran 2	Skema Kerja	79
Lampiran 3	Kerangka Konsep Penelitian	80
Lampiran 4	Perhitungan Konsentrasi PEG 6000	81
Lampiran 5	Perhitungan Persentase Eksplan Berkalus	82
Lampiran 6	Warna dan Tekstur Kalus	84
Lampiran 7	Data Pertambahan Volume Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Sebelum dan Sesudah Ditaman Pada Media Subkultur	86
Lampiran 8	Analisis Statistik Dalam Analisis Variasi (ANOVA) Tunggal, Rancangan Acak Lengkap (RAL) Terhadap Volume Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Pada Media Subkultur.....	88
Lampiran 9	Data Berat Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Sebelum dan Sesudah Perlakuan PEG 6000	90
Lampiran 10	Analisis Statistik Dalam Analisis Kovarian (ANKOVA), Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial Terhadap Berat Kalus Kedelai (<i>Glycine max</i>) Sebelum dan Sesudah Perlakuan PEG 6000	92
Lampiran 11	Perhitungan Indeks Sensivitas Kekeringan	110
Lampiran 12	Gambar Hasil dan Kegiatan Penelitian	112
Lampiran 13	Gambar Alat dan Bahan Penelitian	115
Lampiran 12	Deskripsi Varietas Kedelai (<i>Glycine max</i>)	117

ABSTRAK

Azizah, Ike Shofiatul. 2010. **Respon Kalus Kedelai (*Glycine max* L. Merr) Pada Media B5 Dengan Penambahan PEG (*Polyethylene Glycol*) 6000 Sebagai Simulasi Cekaman Kekeringan**. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
Pembimbing : Evika Sandi Savitri, M.P dan Ach. Nashichuddin, M.A

Kata Kunci : Respon, Kalus, Kedelai (*Glycine max* L. Merr), PEG 6000, Kekeringan

Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) adalah satu di antara tanaman pangan yang telah lama diusahakan di Indonesia dan memiliki manfaat ekonomis yang cukup tinggi sehingga kebutuhan kedelai di dalam negeri sangat besar, namun dalam pengembangannya terdapat banyak kendala. Salah satu kendala yang dihadapi adalah lahan untuk perbanyak tanaman kedelai mengalami kekeringan karena kurangnya ketersediaan air. Metode alternatif untuk memperoleh hasil yang relatif lebih baik dalam kondisi stres kekeringan adalah dengan penggunaan varietas-varietas yang toleran terhadap kekeringan. Seleksi *in vitro* dengan metode kultur jaringan merupakan metode yang sangat cocok digunakan untuk menyeleksi varietas-varietas kedelai yang toleran terhadap kekeringan dengan menggunakan senyawa PEG 6000 yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan yang mampu mengikat molekul air sehingga diharapkan dapat menciptakan kondisi cekaman karena ketersediaan air bagi tanaman dalam media menjadi berkurang.

Penelitian bertujuan mengetahui respon pembentukan kalus dan tingkat toleransi terhadap cekaman kekeringan beberapa varietas kedelai berdasarkan kemampuannya membentuk kalus pada media selektif PEG 6000 dalam berbagai konsentrasi. Penentuan tingkat toleransi terhadap cekaman kekeringan dilakukan dengan mengamati respon kalus varietas Wilis, Grobogan dan Tanggamus dalam media PEG 6000 dengan konsentrasi 0 gr/L (kontrol), 20 gr/L, 40 gr/L dan 60 gr/L dan dianalisis dengan menggunakan Anova Faktorial .

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa penambahan PEG 6000 dengan konsentrasi yang berbeda dalam media memberikan respon yang berbeda pula terhadap pertumbuhan kalus beberapa varietas kedelai yang diuji. Jika dilihat dari perubahan warna kalus setelah diinduksi PEG 6000, diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 dalam media warna kalus varietas Wilis berwarna kuning kecoklatan dengan tekstur remah, kalus varietas Grobogan berwarna coklat kehitaman dengan tekstur remah dan varietas Tanggamus kalus berwarna kuning. Sedangkan dilihat dari berat basah kalus, diketahui bahwa dengan penambahan PEG 6000 dalam media menghambat pertumbuhan (penambahan berat) kalus kedelai (*Glycine max*). Semakin tinggi konsentrasi PEG yang ditambahkan dalam media, berat kalus semakin rendah. Berdasarkan berat kalus, morfologi kalus dan nilai indek sensitivitas diketahui bahwa varietas Tanggamus dan varietas Wilis medium terhadap cekaman kekeringan dan varietas Grobogan merupakan varietas yang peka terhadap cekaman kekeringan.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) adalah satu di antara tanaman pangan yang telah lama diusahakan di Indonesia. Kedelai mempunyai peranan cukup besar dalam memenuhi kebutuhan gizi masyarakat. Komoditi tersebut merupakan sumber protein nabati (Sumarno dan Harnoto, 1983) dan juga sumber protein yang menduduki tempat pertama diantara tanaman kacang-kacangan (Somatmadja, 1985). Permintaan kedelai meningkat dengan pesat seiring dengan laju pertumbuhan penduduk. Namun laju permintaan kedelai tersebut, ternyata belum dapat diimbangi oleh peningkatan produksi, sehingga Indonesia masih harus mengimpor kedelai dari negara lain (Pitojo, 2003).

Kedelai sangat akrab dalam pola makan sehari-hari. Kedelai biasa dikonsumsi dalam bentuk terfermentasi dan olahan seperti tahu, tempe, kecap dan susu kedelai. Kedelai adalah bahan makanan yang murah tetapi bergizi, karena mampu menggantikan kandungan protein hewani. Kedelai selain sebagai salah satu kebutuhan pokok, juga bermanfaat sebagai bahan obat dan penangkal penyakit (Savitri, 2008). Dengan demikian tampak bahwa tanaman kedelai memiliki manfaat ekonomis yang cukup tinggi sehingga kebutuhan kedelai di dalam negeri sangat besar, namun dalam pengembangannya terdapat banyak kendala.

Salah satu kendala yang dihadapi dalam budidaya kedelai di Indonesia adalah lahan untuk perbanyak tanaman mengalami kekeringan karena kurangnya ketersediaan air. Kekeringan ini dapat menurunkan potensial air tanah dan menyebabkan kekurangan air dalam tanaman yang membatasi pertumbuhan tanaman dan produktivitas pertanian (Komori, (2000) *dalam* Diharjo (2008)). Budianto *dalam* Aulia (1984) menyatakan bahwa adanya kekeringan dalam setiap periode pertumbuhan dan perkembangan tanaman kedelai dapat menurunkan hasil, meskipun besarnya penurunan yang terjadi bergantung pada fase pertumbuhan saat cekaman kekeringan.

Pengembangan pertanian di lahan kering masih banyak dilakukan di Indonesia, karena hal ini merupakan pilihan strategis dalam menghadapi tantangan peningkatan produksi pertanian sehingga dapat memenuhi kebutuhan kedelai yang terus meningkat setiap tahunnya, meskipun selama ini hasil panen di lahan kering relatif rendah akibat stres kekeringan yang dapat terjadi pada setiap tahap perkembangan tanaman, khususnya tahap pembungaan sampai terbentuk biji (Mitra, 2001). Salah satu alternatif untuk memperoleh hasil yang relatif lebih baik dalam kondisi stres kekeringan adalah dengan penggunaan varietas-varietas yang toleran terhadap kekeringan karena menurut Adisarwanto (2005) *dalam* Rahmawati (2007) varietas memegang peranan penting dalam perkembangan penanaman kedelai, dan untuk mencapai produktivitas yang tinggi sangat ditentukan oleh potensi daya hasil dari varietas unggul yang ditanam. Akan tetapi sampai saat ini belum banyak diketahui varietas-varietas kedelai yang toleran

terhadap kekeringan, sehingga perlu adanya usaha untuk pengujian varietas-varietas kedelai yang toleran terhadap kekeringan.

Usaha manusia untuk mendapatkan varietas yang tahan kekeringan merupakan usaha positif yang ditujukan untuk perbaikan supaya manusia memperoleh hasil produksi kedelai yang tinggi meskipun lahan terjadi cekaman kekeringan. Dalam Al-Quran anjuran untuk melakukan perubahan telah banyak dijelaskan, satu diantaranya dalam surat Ar-Ra'd ayat 11:

لَهُر مُعَقَّبَتٌ مِّنْ بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّى يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ وَمَا لَهُمْ مِنْ دُونِهِ مِنْ وَالٍ ﴿١١﴾

Artinya: *“Bagi manusia ada malaikat-malaikat yang selalu mengikutinya bergiliran, di muka dan di belakangnya, mereka menjaganya atas perintah Allah. Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri, dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, Maka tak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia.*

Dari ayat diatas anjuran untuk merubah keadaan dengan usaha sendiri sangat jelas terlihat. Tafsir Al Qurthubi menafsirkan ayat tersebut bahwasanya Allah SWT tidak akan merubah nasib suatu kaum, sampai perubahan itu ada pada diri mereka sendiri, atau dari pembaharu dari salah seorang diantara mereka dengan sebab tertentu. Mencari varietas kedelai yang toleran kekeringan merupakan salah satu bentuk usaha yang dilakukan manusia untuk menghadapi lahan kering. Dengan adanya usaha ini, diharapkan mampu memanfaatkan lahan kering sehingga hasil produksi tidak mengalami penurunan.

Seleksi *in vitro* dengan metode kultur jaringan merupakan metode yang sangat cocok digunakan untuk menyeleksi varietas-varietas kedelai yang toleran terhadap kekeringan, karena menurut Sirait (2001) metode kultur jaringan mempunyai keunggulan, antara lain waktu seleksi lebih singkat, tidak membutuhkan ruang yang luas, mudah dikontrol dan tidak dibatasi oleh musim jika dibandingkan perlakuan kekeringan dilapangan. Dian (2005) menambahkan bahwa dengan seleksi *in vitro*, kondisi lingkungan (suhu, pH dan kelembapan) dapat terkontrol, keseragaman cekaman kekeringan dapat tetap terjaga dan dalam waktu yang relatif singkat sudah dapat diketahui varietas-varietas kedelai yang toleran terhadap cekaman kekeringan.

Agen penyeleksi yang digunakan untuk mencari varietas yang toleran terhadap kekeringan dalam kultur *in vitro* adalah berupa senyawa osmotikum. Senyawa osmotikum yang banyak digunakan untuk menstimulasi cekaman kekeringan adalah senyawa *polyethylene glycol* (PEG) (Santos and Ochoa, 1994 dalam Sutjahjo, 2007). Menurut Lawyer (1970) penggunaan PEG lebih disarankan karena dengan berat molekul lebih dari 4000 tidak dapat diserap oleh sel tanaman dan tanpa menyebabkan keracunan. Verslues (1998) melaporkan bahwa PEG 6000 lebih unggul dibandingkan manitol, sorbitol, atau garam karena tidak bersifat toksik terhadap tanaman, tidak dapat diserap oleh sel akar (Chazen dan Neumann, 1994), dan secara homogen menurunkan potensial osmotik larutan.

Penambahan PEG 6000 dalam teknik kultur *in vitro* dapat digunakan untuk menskrining respon kedelai terhadap cekaman kekeringan. Senyawa PEG merupakan senyawa yang dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui

aktivitas matriks sub-unit etilena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen sehingga diharapkan dapat menciptakan kondisi cekaman karena ketersediaan air bagi tanaman menjadi berkurang (Suwarsi dan Guhardja, 2005). Berdasarkan penelitian Risyati (2005) dan Dian (2005) diketahui bahwa dengan penambahan PEG 6000 dalam media akan berkorelasi positif dengan toleransi tanaman terhadap stres kekeringan. Pada penelitian Kadir (2006) menunjukkan bahwa kalus embriogenik yang dapat tumbuh pada media dengan penambahan PEG 6000 merupakan kalus yang mampu beregenerasi menjadi tanaman lengkap yang toleran terhadap kekeringan. Konsentrasi PEG yang digunakan yaitu 0 g/L, 20 g/L, 40 g/L, dan 60 g/L, hal ini mengacu dalam jurnal Kulkrani (2007) yang menggunakan keempat konsentrasi PEG tersebut untuk menapis kekeringan pada tanaman tomat.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan pengujian *in vitro* terhadap beberapa varietas kedelai yang banyak dibudidayakan di Indonesia yaitu varietas Wilis, Tanggamus dan Grobogan sehingga dapat diketahui tingkat toleransi terhadap cekaman kekeringan berdasarkan kemampuannya membentuk kalus pada media selektif PEG (*polyethylene glycol*) 6000.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah respon kalus beberapa varietas kedelai pada media B5 yang ditambahkan PEG 6000 dalam berbagai konsentrasi?

2. Bagaimanakah tingkat toleransi beberapa varietas kedelai terhadap cekaman kekeringan berdasarkan kemampuannya membentuk kalus pada media yang mengandung PEG 6000?

1.3 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui respon kalus beberapa varietas kedelai pada media B5 yang ditambahkan PEG 6000 dalam berbagai konsentrasi.
2. Untuk mengetahui tingkat toleransi beberapa varietas kedelai terhadap cekaman kekeringan berdasarkan kemampuannya membentuk kalus pada media yang mengandung PEG 6000.

1.4 Hipotesis

1. Kalus beberapa varietas kedelai memberikan respon yang berbeda pada media B5 yang ditambahkan PEG 6000 dalam berbagai konsentrasi.
2. Terdapat beberapa varietas yang peka dan toleran terhadap cekaman kekeringan dalam pembentukan kalus pada media PEG 6000.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi beberapa manfaat yaitu:

1. Sebagai langkah alternatif untuk mengetahui varietas kedelai yang toleran terhadap kekeringan.

2. Memberikan informasi kepada para peneliti selanjutnya tentang tingkat toleransi 3 varietas kedelai dalam pembentukan kalus dalam media PEG sebagai simulasi cekaman.
3. Sebagai langkah alternatif untuk mendapatkan varietas kedelai yang toleran kekeringan.

1.6 Batasan Masalah

1. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah kotiledon kedelai (*Glycine max* L).
2. Varietas kedelai yang di gunakan adalah Wilis, Tanggamus dan Grobogan.
3. Media yang digunakan adalah media B5 dan zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 2,4-D.
4. Variabel yang diamati yaitu variabel kualitatif (warna kalus, tekstur kalus dan munculnya kalus pertama kali) dan variabel kuantitatif (Volume kalus, berat segar kalus dan persentase eksplan yang membentuk kalus).
5. Pengamatan tentang morfologi kalus dilakukan setiap hari pada dengan internal 24 jam sekali, pengamatan tentang berat segar, volume dan persentase eksplan yang berkalus dilakukan pada hari akhir pengamatan.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Kedelai (*Glycine max*)

Kedelai dikenal dengan nama lokal, diantaranya adalah kedelai, kacang jepung, kacang bulu, gadela, dan demokam. Kedelai (*Glycine max* (L), Merrill) adalah merupakan salah satu tanaman yang potensial yang mengandung protein, lemak, dan vitamin yang cukup tinggi dibanding dengan kacang-kacangan lainnya. Tanaman kedelai merupakan tanaman yang cukup penting untuk dikembangkan di Indonesia (Suprpto, 1993).

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L), Merrill) merupakan tanaman yang cukup penting untuk dikembangkan di Indonesia karena kedelai adalah salah satu tanaman yang potensial yang mengandung protein, lemak, dan vitamin yang cukup tinggi dibandingkan dengan kacang-kacangan lainnya. Berdasarkan luas panen, tanaman kedelai di Indonesia menempati urutan ketiga setelah jagung dan ubi kayu. Biji kedelai mengandung protein kira-kira 30% - 50% dan lemak sekitar 25% - 30%. Kedelai menjadi penting baik sebagai bahan makanan maupun bahan industri (Suprpto, 1993).

Kedelai sangat akrab dalam pola makan sehari-hari. Kedelai biasa dikonsumsi dalam bentuk terfermentasi dan olahan seperti tahu, tempe, kecap dan susu kedelai. Kedelai adalah makanan yang murah tetapi bergizi, karena mampu menggantikan kandungan protein hewani. Kedelai selain sebagai salah satu

kebutuhan pokok, juga bermanfaat sebagai bahan obat dan penyangkal penyakit (Savitri, 2008).

2.1.2 Klasifikasi Kedelai

Menurut Steenis (1988), klasifikasi tanaman kedelai adalah sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Polypetales
Famili : Leguminosae
Sub famili : Papilionoidae
Genus : Glycine
Species : *Glycine max* (L) Merrill

2.1.2 Morfologi Kedelai (*Glycine max*)

Kedelai adalah tanaman setahun yang tumbuh tegak (tinggi 70-150 cm), menyemak, berbulu halus (*pubescens*), dengan system perakaran luas. Tanaman ini umumnya dapat beradaptasi terhadap berbagai jenis tanah, dan menyukai tanah yang bertekstur ringan hingga sedang, dan berdrainase baik; tanaman ini peka terhadap kondisi salin (Rubatzky, 1998). Menurut Lamina (1993) akar tunggang yang dimiliki kedelai terbentuk dari bakal akar. Akar tunggang tersebut dapat mencapai 2 meter. Tetapi pada umumnya perakaran berbentuk serabut dan berada pada lapisan atas tanah atau top soil yaitu 15 cm dari permukaan tanah.

Tipe pertumbuhan tanaman kedelai dibedakan menjadi 2 macam yaitu determinate dan indeterminate. Adapun yang dimaksud dengan tipe determinate adalah tipe pertumbuhan tanaman yang ujung batangnya berakhir dengan rangkaian bunga dan batang atau cabang tumbuhnya tidak melilit. Sedangkan yang dimaksud dengan tipe indeterminate adalah tipe pertumbuhan tanaman yang batangnya tidak diakhiri dengan rangkaian bunga sedangkan ujung batangnya melilit. Bunga kedelai termasuk bunga sempurna, artinya dalam setiap bunga terdapat alat kelamin jantan dan alat kelamin betina. Daun kedelai adalah daun majemuk yang terdiri dari 3 helai anak daun. Daun berwarna hijau, hijau tua atau hijau kekuningan tergantung varietasnya. Terdapat dua bentuk daun pada kedelai yaitu oval, sedang dan sempit. Buah kedelai berbentuk polong, jumlah polong tiap tanaman tidak sama, tergantung varietas, kesuburan tanah dan jarak tanam. Tiap polong biasanya berisi rata-rata 2-4 biji. Biji kedelai berkeping dua dan umumnya berbentuk bulat lonjong, tetapi ada kultivar yang mempunyai biji bulat agak pipih atau bundar, besar biji tergantung dari kultivar, dan tidak mengandung jaringan endosperm. Embrio terletak diantara keping biji (Susila, 2003).

Kecambah kedelai termasuk epigeous yaitu suatu keadaan dimana munculnya radikel diikuti dengan memanjangnya hipokotil secara keseluruhan dan membawa serta kotiledon dan plumula keatas permukaan tanah. Yang dimaksud dengan hipokotil adalah bagian batang kecambah dibawah keping biji, warna hipokotil biasanya ungu atau hijau (Susila, 2003). Menurut Nunung (2000), terangkatnya kotiledon ini keatas permukaan tanah disebabkan karena

pertumbuhan dan perpanjangan hipokotil, hipokotil membengkok, kemudian menembus dan merekah, lalu muncul kepermukaan.



Gambar 2.1. Tipe perkecambahan epigeal

Urutan tahap pertumbuhan bibit tipe epigeal tanaman kedelai:

1. Biji kedelai, cadangan disimpan pada kotiledon
2. Radikal keluar, cadangan disimpan pada kotiledon
3. Hipokotil (bagian antara radikal dan kotiledon) memanjang agak membesar
4. Hipokotil membengkok karena aktivitas hormon kemudian mengangkat kotiledon keatas permukaan tanah.
5. Radikal tumbuh menjadi akar primer darimana akar lateral keluar, sehingga berbentuk sistem perakaran permanen yang menjadi pertumbuhan dan kehidupan bibit atau tanaman selanjutnya.

2.2 Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Tanaman Kedelai

Cekaman didefinisikan sebagai segala perubahan kondisi lingkungan yang mungkin akan menurunkan atau merugikan pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan atau segala perubahan kondisi lingkungan yang mengakibatkan tanggapan tumbuhan menjadi lebih rendah daripada tanggapan optimumnya (Salisbury, 1995). Kondisi lingkungan tersebut berhubungan dengan kisaran toleransi suatu organisme dalam menghadapi lingkungan sekitarnya. Menurut Ishartati (2003), suatu organisme tertentu yang memiliki kisaran toleransi yang lebar mampu beradaptasi pada lingkungan kurang menguntungkan. Kemampuan beradaptasi yang tinggi, disebabkan oleh faktor genetik yang pada akhirnya diekspresikan dalam bentuk fenotipnya.

Salah satu faktor cekaman lingkungan adalah kekeringan. Cekaman kekeringan merupakan istilah untuk menyatakan bahwa tanaman mengalami kekurangan air akibat keterbatasan air dari lingkungannya yaitu media tanam (Kuswarwiyah, 2006). Menurut Levitt (1980) *dalam* Kuswarwiyah (2006) bahwa cekaman kekeringan disebabkan dua hal yaitu: (1) kekurangan suplai air di daerah perakaran dan (2) permintaan air yang berlebihan oleh daun akibat laju evapotranspirasi melebihi laju absorpsi air oleh akar tanaman, walaupun keadaan air tanah tersedia cukup. Pada lahan kering, cekaman kekeringan pada tanaman terjadi karena suplai air yang tidak mencukupi. Komori (2000) *dalam* Diharjo (2008) menambahkan bahwa kekeringan akan menurunkan potensial air tanah dan menyebabkan kekurangan air dalam tanaman yang membatasi pertumbuhan tanaman dan produktivitas pertanian.

Air merupakan komponen yang penting untuk kelangsungan proses pertumbuhan dalam tubuh tanaman. Kebutuhan air dari masing-masing tanaman berbeda sesuai dengan sifat tanaman. Setiap tanaman mempunyai batas tertentu dalam penggunaan sejumlah air untuk proses pertumbuhan (Mahmud, (2002) dalam Auliah (2005)). Menurut Gardner (1991), air memiliki bermacam-macam fungsi bagi tanaman, yaitu 1) sebagai pelarut unsur hara dalam tanah, 2) medium untuk reaksi kimia, 3) sebagai medium transport, 4) sebagai penyusun sitoplasma sekaligus sebagai medium yang memberikan tekanan turgor pada sel tanaman, tekanan turgor dapat memacu pembesaran sel, 5) sebagai bahan baku untuk fotosintesis, proses hidrolisis dan reaksi kimia lainnya dalam tumbuhan dan 6) berperan dalam proses transpirasi.

Secara struktur kimia, air mempunyai formula H_2O yang berarti bahwa satu molekul air terdiri dari dua atom Hidrogen dan satu atom oksigen. Molekul air berbentuk huruf V, dengan atom oksigen berada di sudut. Antara molekul air terdapat gaya (kekuatan, energi) yang bekerja sehingga molekul air yang satu dengan yang lainnya bisa berikatan. Sifat air yang sangat penting adalah kemampuannya untuk melarutkan sebagian besar bahan-bahan yang ada di muka bumi. Bahan yang bisa larut dalam air disebut sebagai bahan *Hidrofilik* seperti asam amino, karbohidrat, makro dan mikromineral. Sedangkan bahan yang tidak dapat larut dalam air disebut *Hidrofobik* misalnya minyak dan lemak (Mahani, 2007).

Akibat dari kekurangan suplai air menyebabkan terganggunya metabolisme sel. Metabolisme merupakan reaksi kimia yang terjadi di dalam sel

yang melibatkan enzim. Metabolisme tersebut berupa reaksi penyusunan (anabolisme) dan reaksi penguraian (katabolisme). Metabolisme sel dilakukan untuk memperoleh energi, menyimpan energi, menyusun bahan makanan, merombak bahan makanan, membentuk struktur sel, merombak struktur sel, memasukkan atau mengeluarkan zat-zat, melakukan gerakan, menanggapi rangsangan dan bereproduksi (Lakitan, 2004). Islami dan Utomo (1995) dalam Auliah (2005) menambahkan bahwa cekaman kekeringan akan menyebabkan terjadinya perubahan anatomi dan morfologi tanaman. Cekaman kekeringan juga mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel melalui pengaruhnya pada pembelahan sel, pertumbuhan sel dan protoplasma.

Kedelai merupakan tanaman yang peka terhadap cekaman kekeringan. Tanaman kedelai memerlukan kelembapan yang tinggi terutama di daerah perakaran (Pasaribu dan Sunarlim, 1988). Air sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangan optimal kedelai pada masa pertumbuhan dan selama tahap reproduktif dari mekar sampai pengisian polong. Cekaman kekeringan selama pembungaan meningkatkan gugurnya bunga dan polong muda. Apabila kekeringan berlanjut ke periode pembentukan polong mengakibatkan menurunnya jumlah polong tiap tanaman. Cekaman kekeringan menyebabkan tidak sempurnanya pengisian polong sehingga biji kecil, kisut, dan berat biji menurun (Palmer, 1995).

Menurut Turner (1979), Levit (1972) dan Jones *et.al* (1981) dalam jurnal Hamim (1996), toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan dapat melalui beberapa mekanisme yaitu melepaskan diri dari cekaman kekeringan (*Drought*

escape), bertahan terhadap kekeringan dengan tetap mempertahankan potensi air yang tinggi dalam jaringan atau disebut dengan mekanisme menghindar dari kekeringan (*Drought avoidance*) dan bertahan terhadap kekeringan dengan potensial air jaringan yang rendah (Gupta, 1995). *Resistensi escape* yaitu kemampuan tanaman menyelesaikan siklus hidupnya sebelum mengalami kekurangan air yang serius, mekanisme ini meliputi perkembangan fenologi yang cepat misalnya pembungaan dan pematangan buah yang lebih awal, perkembangan plastisitas jaringan dan remobilisasi pembentukan asimilat ke biji. Resistensi penghindaran yaitu, kemampuan tanaman tetap menjaga potensial jaringan dengan cara meningkatkan penyerapan air atau menekan kehilangan air. Mekanisme ini meliputi pemeliharaan turgor melalui penambahan kedalaman akar, efisiensi sistem perakaran dan konduktivitas hidrolik dan mengurangi kehilangan air melalui reduksi epidermal (stomata), mengurangi absorpsi cahaya matahari dengan cara penggulangan atau pengguguran daun. Resistensi toleransi adalah kemampuan tanaman menjaga turgor melalui pengaturan osmotik (*“osmotic adjustment”*). Toleransi terhadap stres kekeringan dapat terjadi jika tanaman dapat *survive* terhadap stres yang terjadi dan adanya toleransi atau mekanisme yang memungkinkan untuk menghindar dari situasi stres tersebut (Perez-Molphe- Balch *et al.* (1996) dalam Kadir (2006)).

Tanaman mempunyai toleransi yang berbeda terhadap stres kekeringan karena perbedaan dalam mekanisme morfologi, fisiologi, biokimia dan molekuler (Perez-Molphe- Balch *et al.* (1996) dalam Kadir (2006)). Tanaman dapat menahan cekaman air karena protoplasma mempunyai toleransi dehidrasi, sehingga

terjadinya dehidrasi tidak menyebabkan kerusakan yang permanen. Saat dehidrasi viskositas protoplasma meningkat, maka jika dehidrasi terus berlanjut akan terjadi pengerasan, kaku dan rapuh pada protoplasma (Gupta, 1995).

2.3 Pertumbuhan Kedelai Secara *In Vitro*

Pertumbuhan merupakan peristiwa pembelahan dan pembesaran sel. Pertumbuhan menunjukkan suatu proses perubahan secara kuantitatif berupa penambahan jumlah sel, ukuran panjang, lebar serta berat dari organisme yang sedang mengalami pertumbuhan. Tumbuhan mengalami pertumbuhan karena sel-selnya bertambah banyak atau mengalami penambahan panjang karena ada perubahan volume serta berat basah atau berat kering yang merupakan perubahan secara kuantitatif. Parameter pertumbuhan sangat bervariasi dan bersifat kuantitatif (Sumardi, 1996). Salisbury (1995) menyatakan bahwa pertumbuhan berarti penambahan ukuran. Pertambahan bukan hanya dalam volume, tetapi juga dalam bobot, jumlah sel, banyak protoplasma, dan tingkat kerumitan. Ada dua pengukuran yang lazim digunakan untuk mengukur pertambahan volume atau massa. Pertambahan volume (ukuran) ditentukan dengan mengukur perbesaran ke satu atau dua arah, seperti panjang dan diameter. Pertambahan massa biasanya ditentukan dengan memanen seluruh tumbuhan atau bagian yang diinginkan.

Pengembangan varietas kedelai toleran cekaman kekeringan melalui seleksi *in vitro* merupakan salah satu alternatif prospektif yang dapat digunakan untuk menanggulangi cekaman kekeringan di lapangan. Dengan seleksi *in vitro*, kondisi lingkungan (suhu, pH dan kelembapan) dapat dikontrol, keseragaman

tekanan kekeringan dapat tetap terjaga dan dalam waktu yang relatif singkat sudah dapat diketahui varietas-varietas yang toleran terhadap cekaman kekeringan (Widoretno, 2002).

Kultur jaringan adalah istilah umum yang ditujukan pada budidaya secara *in vitro* terhadap berbagai bagian tanaman yang meliputi batang, daun, akar, bunga, kalus, sel, protoplas dan embrio. Bagian-bagian tersebut yang diistilahkan sebagai eksplan, diisolasi dari kondisi *in vivo* dan dikultur pada medium buatan yang steril sehingga dapat beregenerasi dan berdeferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2009). Hartmann (1990) menggunakan istilah yang lebih spesifik, yaitu mikropropagasi terhadap pemanfaatan teknik kultur jaringan dalam upaya perbanyakan tanaman, dimulai dari pengkulturan bagian tanaman yang sangat kecil (eksplan) secara aseptik di dalam tabung kultur atau wadah lain yang serupa.

Penerapan kultur jaringan tumbuhan mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan kegunaan konvensional. Keuntungan-keuntungan tersebut, antara lain (a) dapat dibentuk senyawa bioaktif, (b) bebas dari kontaminasi mikroba, (c) setiap sel dapat diperbanyak untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder tertentu, (d) pertumbuhan sel terawasi dan proses metabolismenya dapat diatur secara rasional, (e) tidak bergantung kepada kondisi lingkungan seperti keadaan geografi, iklim dan musim (Fitriani, 2003).

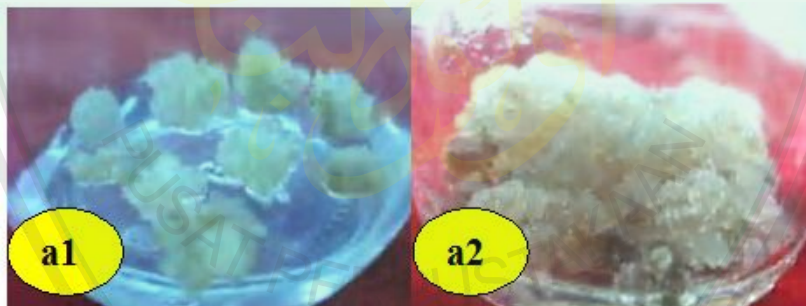
2.4 Kultur Kalus

Metode seleksi *in vitro* sangat cocok digunakan untuk mendapatkan tanaman kedelai yang toleran terhadap kekeringan, karena dapat dilakukan skrining pada sekelompok populasi (kelompok sel) untuk mendapatkan sel mutan pada kondisi yang seragam pada lingkungan yang terbatas (Widoretno, 2003). Satu di antara teknik kultur jaringan yang banyak digunakan untuk memperoleh varietas yang toleran terhadap cekaman kekeringan adalah melalui teknik kultur kalus. Kalus adalah suatu kumpulan sel amorf yang terjadi dari sel-sel yang membelah diri secara terus menerus secara *in vitro* yang tersusun atas sel-sel parenkim berdinding sel tipis yang berkembang dari hasil proliferasi sel-sel jaringan induk. Kalus dapat diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, batang, dan daun yang dilukai (Winata, 1992).

Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali. Kalus diharapkan memperbanyak dirinya (massa selnya) secara terus-menerus. Sel-sel penyusun kalus adalah sel-sel parenkim yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Biasanya media yang digunakan mengandung auksin dan kadang-kadang sitokinin. Namun, bila eksplan yang digunakan mengandung kambium, maka kalus dapat terbentuk tanpa perlakuan zat pengatur tumbuh. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula (Gunawan, 1988).

Tomes dalam Sutjahjo (1994), menjelaskan bahwa terdapat dua macam kalus yang terbentuk dalam kultur *in vitro* suatu tanaman, yaitu (1) kalus

embriogenik dan (2) kalus non embriogenik. Kalus embriogenik adalah kalus yang mempunyai potensi untuk beregenerasi menjadi tanaman melalui organogenesis atau embryogenesis. Sedangkan kalus non embriogenik adalah kalus yang mempunyai kemampuan sedikit atau tidak mempunyai kemampuan untuk beregenerasi menjadi tanaman. Kalus embriogenik yang mempunyai struktur kompak, tidak tembus cahaya dan pertumbuhan relatif lambat merupakan tipe yang dikehendaki dalam seleksi *in vitro* tanaman. Menurut Green *et al.* (1984) dalam Sutjahjo (1994), kalus seperti ini disebut kalus tipe-I, sebaliknya kalus yang kurang kompak, remah dan pertumbuhan cepat disebut kalus tipe-II. Kemampuan regenerasi kalus umumnya menurun sesuai lamanya jaringan dikulturkan, namun beberapa kultur kalus kemampuan regenerasinya dapat bertahan dalam jangka waktu relatif panjang.



Gambar 2.2: Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus (A) Pertumbuhan Kalus Embriogenik: (a1) Pertumbuhan Kalus Embriogenik Subkultur-1 (a2) Pertumbuhan Kalus Embriogenik Subkultur-2 (Kadir, 2006).

2.5 Faktor-Faktor Yang Menentukan Keberhasilan Kultur *In Vitro*

2.5.1 Eksplan (Bahan Tanam)

Dalam perbanyakan tanaman secara kultur tanaman, eksplan merupakan hal penting penentu keberhasilan. Umur fisiologis, umur ontogenetik, ukuran eksplan, serta bagian tanaman yang diambil merupakan hal-hal yang harus

dipertimbangkan dalam memilih eksplan yang akan digunakan sebagai bahan awal kultur (Yusnita, 2003).

2.5.1.1 Memilih Eksplan

Umumnya bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif. Jaringan tanaman yang masih muda mempunyai daya regenerasi lebih tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri dan lebih bersih (mengandung lebih sedikit kontaminan) (Yusnita, 2003). Kultur jaringan akan lebih besar prosentase keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem. Jaringan meristem adalah jaringan muda yaitu jaringan yang terdiri dari sel-sel yang selalu membelah, dindingnya tipis, belum mempunyai penebalan dari zat pectin, plasmanya penuh dan vakuolanya kecil-kecil. Kebanyak orang menggunakan jaringan ini untuk kultur jaringan. Sebab, jaringan meristem keadaannya selalu membelah, sehingga diperkirakan mempunyai zat hormon yang mengatur pembelahan (Hendaryono dan Wijayani, 1998).

Bahan tanam yang bersifat totipotensi multak diperlukan dalam pelaksanaan kegiatan kultur jaringan karena hanya dengan sifat ini, sel, jaringan, organ yang digunakan akan mampu tumbuh dan berkembang sesuai arahan dan tujuan budidaya *in vitro* yang dilakukan. Umumnya sifat totipotensi lebih banyak dimiliki oleh bagian tanaman yang masih juvenil, dan banyak dijumpai pada daerah-daerah meristem tanaman. Tetapi tidak menutup kemungkinan bagian tanaman yang sudah dewasa bila mendapat lingkungan yang cocok akan bertotipotensi hingga mampu tumbuh dan berkembang (Santoso dan Nursandi, 2001).

2.5.1.2 Bagian Eksplan yang Digunakan

Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah biji atau bagian-bagian biji seperti kotiledon, tunas pucuk, potongan batang satu buku (*nodal eksplant*), potongan akar, potongan daun, potongan umbi batang, empulur batang, umbi lapis dengan sebagian batang, dan bagian bunga (Yusnita, 2003).

Pada umumnya, semua bagian tanaman dapat digunakan sebagai sumber bahan untuk kultur jaringan. Namun, tidak semua jaringan tanaman tersebut mudah untuk ditumbuhkan. Potongan jaringan (eksplan) yang digunakan biasanya berasal dari bagian-bagian tanaman yang masih muda (Widiastoety, 2001). Hal ini diperkuat oleh Wetter dan Constable (1991) yang menyatakan bahwa sel yang berasal dari spesies tanaman apa pun dapat dibiakkan atau dikulturkan secara aseptik pada atau dalam medium hara. Kultur biasanya dimulai dengan menanamkan satu iris jaringan steril pada medium hara yang dipadatkan dengan agar.

Bagian tanaman yang masih muda cenderung lebih mudah beregenerasi dibandingkan dengan bagian tanaman yang lebih dewasa. Beberapa laporan yang menggambarkan fenomena ini adalah: penggunaan bagian ujung, tengah, dan pangkal tangkai bunga (Reisinger *et al*, 1976): bagian *adaksial*, *abaksial*, *distal*, dan ujung daun, daun pertama, kedua, daun dewasa, muda (Tanaka *et al.*, 1975) dalam Nursandi dan Roeswitawati (1999).

2.5.2 Media Kultur *In Vitro*

Dalam teknik kultur jaringan media sangat mempengaruhi pertumbuhan dari suatu eksplan. Untuk itu dalam membuat media perlu diperhatikan, masing-

masing media mempunyai spesifikasi kecocokan bagi jenis tanaman tertentu (Hendaryono, 2002). Media tumbuh untuk kultur *in vitro* diusahakan mempunyai kondisi lingkungan yang terkontrol. Sebagian besar kultur *aseptic* tidak mampu melakukan fotosintesis, sehingga diperlukan sumber karbon dalam bentuk sukrosa atau glukosa, serta hara-hara mineral, air, bahan organik, vitamin, gula, alcohol, dan hormon (Wareing dan Philips, 1987) dalam Widiastoety dan Santi (1994).

Media kultur jaringan yang memenuhi syarat adalah yang mengandung unsur hara makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu, sumber energi seperti sukrosa, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Kadang-kadang diperlukan pula penambahan bahan-bahan organik seperti air kelapa, ragi atau ekstrak malt. Keseimbangan yang tepat dari komponen-komponen tersebut akan tampak pada tipe pertumbuhan yang terjadi (Widiastoety dan Syafril, 1993).

Media kultur jaringan mengandung bahan-bahan esensial dan komponen pengoptimal. Bahan esensial terdiri atas garam-garam organik, sumber karbon dan energi, vitamin, serta zat pengatur tumbuh tanaman. Sedang komponen lain yang berperan untuk optimalisasi pertumbuhan diantaranya adalah: N-organik, asam organik, substrat kompleks, arang aktif dan lain-lain (Santoso dan Nursandi, 2001).

Gula dalam bentuk sukrosa atau glukosa sering ditambahkan dalam medium kultur sebagai sumber energi dalam proses metabolisme, yaitu respirasi dan pembentukan sel-sel baru. Pada umumnya konsentrasi sukrosa atau glukosa yang digunakan 2-3% (Widiastoety, Syafril dan Haryanto, 1991). Beberapa vitamin perlu ditambahkan pada media kultur untuk keperluan pertumbuhan dan

perkembangan jaringan tanaman. Vitamin yang sering digunakan dalam media kultur antara lain thiamin (vitamin B₁), asam nikotianan, piridoksin (vitamin B₆), biotin, inositol, dan asam folat (Gamborg dan Shyluk, 1981) dalam Widiastoety dan Syafril (1993).

Untuk induksi kalus sekarang sudah banyak digunakan berbagai macam media dasar, antara lain: medium Murashige dan Skoog (MS), Nitsch dan Nitsch, White, Heller, Vacin and Went (VW), Knudson C, N₆, B₅ atau Gamborg, Schenk dan Hildebrandt (SH). Setiap eksplan dari setiap komoditas tanaman mempunyai kecocokan terhadap suatu medium untuk mampu tumbuh menjadi kalus (Hendaryono dan Wijayani, 1998).

Sampai saat ini dikenal beberapa jenis medium dengan komposisi kimia yang berbeda dan dapat digunakan untuk kultur *in vitro* dari tanaman tertentu. Media B5 merupakan media yang banyak digunakan dalam kultur *in vitro*. Media B5 dikembangkan oleh Gamborg dan grupnya pada tahun 1968 untuk kultur suspensi kedelai. Pada masa ini media B5 digunakan untuk kultur-kultur lain. Media ini menggunakan konsentrasi NH₄⁺ yang rendah. Fosfat yang diberikan adalah 1 mM, Ca²⁺ antara 1-4 mM, sedangkan Mg²⁺ antara 0.5-3 mM (Gunawan, 1992). Gamborg (1991) menyatakan bahwa kadar hara anorganik B5 lebih rendah daripada dalam medium MS, suatu kondisi yang seringkali lebih baik bagi sel spesies tertentu. Witjaksono dan Litz dalam Litz *et al.* (2005), melaporkan penggunaan media induksi dengan komposisi B5 sebagai hara makro dan MS sebagai hara mikro mampu menghasilkan embrio somatik pada alpukat.

Hendaryono dan Wijayani (1994) menyebutkan bahwa media padat digunakan untuk tujuan mendapatkan kalus (induksi kalus), dan kemudian dengan medium deferensiasi yang berguna untuk menumbuhkan akar serta tunas, sehingga kalus dapat menjadi planlet. Media padat adalah media yang mengandung semua komponen kimia yang dibutuhkan oleh tanaman dan dipadatkan dengan menambahkan zat pematat, yang dapat berupa agar-agar batang, agar-agar bubuk, atau agar-agar dalam kemasan kaleng yang memang khusus digunakan untuk keperluan laboratorium.

2.5.3 Zat Pengatur Tumbuh

Keberadaan hormon dan zat pengatur tumbuh dalam kegiatan kultur *in vitro* adalah mutlak. Karena kegiatan kultur jaringan umumnya menggunakan bahan tanam yang tidak lazim (sel, jaringan, atau organ), dan budidayanya adalah budidaya terkendali (Santoso dan Nursandi, 2001). Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen medium bagi pertumbuhan dan deferensiasi. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam medium, pertumbuhan sangat terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh tersebut (Hendaryono dan Wijayani, 1998). Selain itu dijelaskan pula oleh Gunawan (1987), bahwa arah perkembangan kultur ditentukan oleh interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diproduksi oleh sel tanaman secara endogen. Walaupun pada eksplan terdapat zat pengatur tumbuh endogen tetapi sering kali pada medium ditambahkan zat pengatur tumbuh eksogen untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan yang ditanam secara *in vitro*.

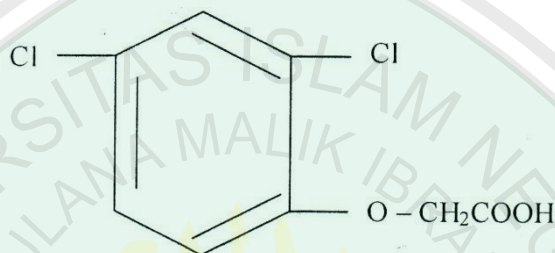
Menurut Abidin (1985) zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik yang bukan termasuk unsur hara (nutrisi), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (promote), menghambat (inhibit) dan dapat merubah proses fisiologis tumbuhan. Zat pengatur tumbuh pada tanaman terdiri dari lima kelompok yaitu auxin, gibberellin, cytokinin, ethylene dan inhibitor dengan ciri khas dan pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologi. Pada kultur kalus zat pengatur tumbuh yang biasanya dipakai adalah dari golongan auksin dan sitokinin.

Auksin sangat dikenal sebagai senyawa yang mampu berperan menginduksi terjadinya kalus, mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar atau tunas, mendorong proses embryogenesis, dan dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Santoso dan Nursandi, 2003).

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) pengaruh rangsangan auksin terhadap jaringan berbeda-beda. Rangsangan yang paling kuat terutama adalah terhadap sel-sel meristem apical batang dan kaleoptil. Santoso dan Nursandi (2001) menambahkan bahwa auksin mempunyai efek membesarkan sel, hal tersebut dari meningkatnya isi sel tetapi tidak diimbangi dengan peningkatan dinding sel sehingga terjadi tekanan turgor dan hal ini akan mendorong kerja enzim selulosa memotong-motong ikatan selulosa pada dinding sel, sehingga dinding elastis dan sel semakin membesar.

Menurut Wattimena (1998), auksin alamiah yang sering terdapat pada tumbuhan adalah IAA (Asam 3-indol Asetat). IAA disintesis dari triptopan pada bagian tanaman tertentu yaitu primordial daun, daun muda dan biji yang sedang

berkembang. Sedangkan auksin sintetik yang sering digunakan adalah asam 2,4-D, NAA (Asam α – Naftalen Asetat), dan IBA (Asam 3 – Indol Butirat). Bojwani dan Razdan (1996) menyatakan bahwa auksin pada umumnya merangsangkan pertumbuhan kalus, dan zat pengatur tumbuh 2,4-D merupakan hormone tumbuh paling potensial untuk menginduksi kalus.



Gambar 2.3. Struktur Kimia 2,4-D

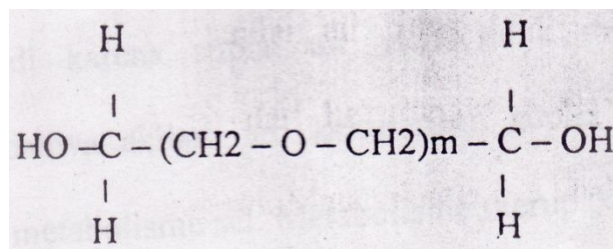
Salah satu golongan auksin sintetis yang mempunyai sifat lebih stabil dan tidak mudah terurai oleh enzim-enzim yang dikeluarkan oleh sel atau pemanasan pada proses sterilisasi adalah 2,4-D (Hendaryono dan Wijayani, 2002). Pemakaian zat pengatur tumbuh asam 2,4-D biasanya digunakan dalam jumlah kecil dan dalam waktu yang singkat, antara 2–4 minggu karena merupakan auksin kuat, artinya auksin ini tidak dapat diuraikan di dalam tubuh tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994). Sebab pada suatu dosis tertentu asam 2,4-D sanggup membuat mutasi-mutasi (Suryowinoto, 1996). Hasil penelitian tentang pertumbuhan kalus pada *Daucus carota* menunjukkan bahwa untuk pembentukan kalus diperlukan auksin asam 2,4-D 1 mg/l (Ammirata, 1983). Litz (1986), menggunakan asam 2,4-D antara 1 – 2 mg/l sebagai zat pengatur tumbuh pada *Mangifera indica*.

2.6 Penggunaan PEG (*polyethylene glycol*) Sebagai Simulasi Cekaman

Kekeringan

Agen penyeleksi yang biasanya digunakan untuk mencari varietas yang toleran terhadap kekeringan melalui seleksi *in vitro* adalah berupa senyawa osmotikum. Senyawa osmotikum yang banyak digunakan untuk mensimulasi cekaman kekeringan akhir-akhir ini adalah senyawa polyethylene glycol (PEG) (Santos and Ochoa, 1994 dalam Sutjahjo, 2007). Senyawa PEG merupakan polimer dengan kisaran berat molekul yang luas. Selain itu PEG dapat memodifikasi potensial osmotik suatu larutan nutrisi kultur dan menyebabkan kekurangan air pada tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa PEG dengan berat molekul yang besar tidak dapat masuk ke dalam jaringan tanaman dan merupakan larutan osmotik yang ideal untuk penggunaan dalam penelitian fisiologis untuk menirukan stress kekeringan dalam bentuk larutan (Blum dan Sullivan, 1997).

Menurut Harris (1997) adapun ciri-ciri PEG yaitu akan menjadi kental jika dilarutkan, tidak berwarna, dan berbentuk kristal putih. PEG juga memiliki sifat-sifat diantaranya: 1) Larut dalam air, 2) Tidak larut dalam ethyleter hexane dan ethylene glikol, 3) Tidak larut dalam air yang memiliki suhu tinggi, 4) Tidak beracun, dan 5) Digunakan sebagai agen seleksi sifat ketahanan gen terutama gen toleran terhadap kekeringan.



Gambar 2.4. Struktur Kimia PEG (*polyethylene glycol*)

Senyawa PEG yang bersifat larut dalam air akan menyebabkan penurunan potensial air. Besarnya penurunan air sangat bergantung pada konsentrasi dan berat molekul PEG. Keadaan seperti ini dimanfaatkan untuk simulasi penurunan potensial air. Potensial air dalam media yang mengandung PEG dapat digunakan untuk meniru besarnya potensial air tanah (Michel dan Kaufmann, 1973). Mexal (1975) menambahkan bahwa senyawa PEG mampu mengikat air dan besarnya kemampuan larutan PEG dalam mengikat air sehingga tidak terserap oleh tanaman bergantung pada berat molekul dan konsentrasinya. Menurut Lawyer (1970) penggunaan PEG lebih disarankan karena dengan berat molekul lebih dari 4000 tidak dapat diserap oleh sel tanaman. PEG dengan berat molekul lebih dari 4000 dapat menginduksi cekaman air pada tanaman dengan mengurangi potensial air pada larutan nutrisi tanpa menyebabkan keracunan. Mexal (1975) menambahkan bahwa PEG dengan berat molekul 6000 dipilih karena mampu bekerja lebih baik pada tanaman daripada PEG dengan berat molekul yang lebih rendah.

Senyawa osmotikum PEG telah digunakan pada berbagai penelitian tentang cekaman kekeringan pada berbagai tanaman seperti *Oryza sativa*, *Pisum sativum* dan *Triticum aestivum* (Risiyati, 2005). Dengan larutan PEG, cekaman kekeringan dapat diterapkan secara homogen terhadap populasi tanaman yang diseleksi sehingga mengurangi terjadinya kesalahan mengidentifikasi individu yang diseleksi (Widoretno, 2002).

Berdasarkan penelitian Kadir (2006), media selektif PEG 25% dapat menyebabkan presentase kematian kalus nilam 100%, sedangkan media selektif

PEG 20% persentase kematian kalus 75.76% dan persentase kalus bertunas 25%. Berdasarkan persentase kematian kalus tersebut, konsentrasi PEG 20% dapat dijadikan sebagai konsentrasi sub letal. Konsentrasi sub letal merupakan konsentrasi PEG yang dapat menghambat pertumbuhan normal kalus $\geq 95\%$. PEG juga digunakan untuk menyeleksi tanaman tomat yang tahan kekeringan dengan konsentrasi 0 gr/L, 20 gr/L, 40 gr/L dan 60 gr/L (Kulkarni dan Deshpande, 2006). Pada kedelai, metode seleksi *in vitro* terhadap cekaman kekeringan pada kedelai telah dikembangkan oleh Widoretno (2003). Pada penelitian tersebut, seleksi terhadap cekaman kekeringan dilakukan berdasarkan respon pembentukan embrio somatik (ES) beberapa varietas kedelai pada media selektif dengan tambahan beberapa konsentrasi PEG. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya korelasi positif antara toleransi sel atau jaringan tanaman yang dikulturkan *in vitro* terhadap PEG dengan toleransi tanaman terhadap cekaman kekeringan di lapangan.

2.7 Perubahan dan Usaha Menurut Perspektif Islam

Alquran merupakan kitab suci masa lalu, masa kini dan masa yang akan datang. Alquran merupakan sumber kebenaran yang mutlak yang tidak ada keraguan di dalamnya dan menjadi pedoman hidup untuk seluruh umat manusia di alam semesta. Ajaran-ajaran Alquran tidak hanya terbatas pada bidang-bidang agama semata, tetapi juga mencakup masalah-masalah lainnya salah satunya adalah ilmu pengetahuan modern dan teknologi (Ichwan, 2004). Dalam Alquran juga terdapat pengetahuan tentang berbagai macam ciptaan Allah SWT yang

merupakan tanda-tanda kekuasaan-Nya. Satu diantara bukti ciptaan Allah adalah diciptakannya tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dan dijaga kelertariannya. Allah berfirman dalam QS. At-Thaha : 53

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”.

Dalam ayat tersebut, Allah menjelaskan diantara bukti keagungan dan kekuasaannya adalah menurunkan air dari langit dan menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam. Dalam tafsir Al-Mishbah Firman Allah diatas merupakan bagian dari hidayah-Nya kepada manusia dan binatang guna memanfaatkan buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan itu untuk kelangsungan hidupnya, sebagaimana terdapat pula isyarat bahwa Dia member hidayah kepada langit guna menurunkan hujan, dan hidayah buat hujan agar turun tercurah, dan untuk tumguh-tumbuhan agar terus berkembang. Oleh karena itu tumbuhan yang sudah ditumbuhkan oleh Allah seharusnya kita jaga agar dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya. Tumbuhan merupakan salah satu bahan pokok yang digunakan manusia untuk berbagai macam kepentingan, misalnya untuk bahan pangan. Kesemuanya itu dimanfaatkan untuk kelangsungan hidup manusia agar manusia tetap hidup di bumi Allah.

Manusia merupakan makhluk ciptaan Allah yang diberi akal dan di tugasi sebagai kholifah untuk memakmurkan bumi sesuai dengan firman Allah dalam QS. Huud ayat 61:

﴿ وَإِلَىٰ ثَمُودَ أَخَاهِمُ صَالِحًا ۚ قَالَ يَا قَوْمِ أَعْبُدُوا اللَّهَ مَا لَكُمْ مِنِّ إِلَهِ غَيْرُهُ ۗ هُوَ أَنشَأَكُم مِّنَ الْأَرْضِ وَأَسْتَعْمَرَكُمْ فِيهَا فَاسْتَغْفِرُوهُ ثُمَّ تَوْبُوا إِلَيْهِ ۚ إِنَّ رَبِّي قَرِيبٌ مُّجِيبٌ ۝۶۱﴾

Artinya: “Dan kepada Tsamud (kami utus) saudara mereka shaleh. Shaleh berkata: "Hai kaumku, sembahlah Allah, sekali-kali tidak ada bagimu Tuhan selain Dia. Dia telah menciptakan kamu dari bumi (tanah) dan menjadikan kamu pemakmurnya[726], karena itu mohonlah ampunannya, kemudian bertobatlah kepada-Nya, Sesungguhnya Tuhanku Amat dekat (rahmat-Nya) lagi memperkenankan (doa hamba-Nya).”

Dalam tafsir Al-Mishbah ayat tersebut mengandung perintah kepada manusia (langsung atau tidak langsung) untuk membangun bumi dalam kedudukannya sebagai khalifah salah satunya dengan menjaga kelestarian tumbuh-tumbuhan, sekaligus menjadi alasan mengapa manusia harus menyembah Allah SWT semata-mata. Penggalan ayat tersebut bermakna bahwa Allah SWT telah mewujudkan melalui bahan bumi ini, manusia yang Dia sempurnakan dengan mendidiknya tahap demi tahap dan menganugerahkannya fitrah berupa potensi yang menjadikan ia mampu mengolah bumi dengan mengalihkannya ke suatu kondisi di mana ia dapat memanfaatkannya untuk kepentingan hidupnya. Sehingga ia dapat terlepas dari segala macam kebutuhan dan kekurangan dan kelanggengan hidup tidak diperuntukkan untuk hal lain kecuali kepada Allah SWT. Seperti halnya mencari varietas yang tahan kekeringan, dimana manusia

berusaha untuk mengetahui tanaman yang tahan kekeringan yang nantinya bisa ditanam dilahan kering sehingga hasil produksi tidak menurun dan kebutuhan manusia di bumi tetap terpenuhi. Dalam Al quran telah disebutkan pula ayat yang menerangkan tentang anjuran untuk melakukan perubahan yaitu dalam surat Ar-Ra'd ayat 11:

لَهُمْ مُعَقَّبَاتٌ مِّنْ بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّى يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ وَمَا لَهُمْ مِنْ دُونِهِ مِنْ وَالٍ ﴿١١﴾

Artinya: *“Bagi manusia ada malaikat-malaikat yang selalu mengikutinya bergiliran, di muka dan di belakangnya, mereka menjaganya atas perintah Allah. Sesungguhnya Allah tidak merubah Keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri. dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, Maka tak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia.*

Menurut tafsir Al-Azhar yang ditulis oleh Hamkan (2004), penggalan ayat *“Sesungguhnya Allah tidak merubah Keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri”* merupakan ayat yang terkenal tentang kekuatan dan akal budi yang dianugerahkan Allah kepada manusia sehingga manusia tidak dapat bertindak sendiri dan mengendalikan dirinya sendiri di bawah naungan Allah. Dia berkuasa atas dirinya dalam batas-batas yang ditentukan oleh Allah. Sebab itu maka manusia itu pun wajiblah berusaha sendiri pula menentukan garis hidupnya, jangan hanya menyerah saja dengan tidak berikhtiar. Manusia diberi akal oleh Allah dan dia pandai sendiri mempertimbangkan dengan akalnya itu di antara yang buruk dan yang baik.

Manusia bukanlah semacam kapas yang diterbangkan angin kemana-mana, atau laksana batu yang terlempar di tepi jalan. Dia mempunyai akal, dan dia pun mempunyai tenaga untuk mencapai yang lebih baik, dalam batas-batas yang ditentukan oleh Allah. Kalau tidak demikian, niscaya tidaklah akan sampai manusia itu mendapat kehormatan menjadi khalifah Allah di muka bumi ini.

Dalam tafsir Al-Aisar ayat diatas bermakna Allah Ta'ala mengabarkan tentang salah satu diantara sunah-sunah-Nya yang terjadi pada makhluk, yaitu sesungguhnya Allah ta'ala tidak akan menghilangkan nikmat yang telah Ia berikan kepada suatu kaum berupa keselamatan, keamanan, dan kesejahteraan sebab keimanan dan amal baik mereka sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri berupa kemurnian, dan kesucian akibat melakukan dosa-dosa dan bergelimag dengan kemaksiatan sebagai hasil dari berpalingnya mereka dari kitab Allah, melalaikan syariat-Nya, membatalkan hukum-hukum, tenggelam dalam nafsu syahwat, dan juga menempuh jalan kesesatan. Tafsir al Qurthubi menambahkan bahwa ayat ini tidak mengandung makna bahwa, adzab tidak akan menimpa seseorang sehingga dia berbuat dosa. Akan tetapi, suatu musibah dapat diturunkan kepada seseorang atau suatu kaum lantaran perbuatan dosa orang lain. Dalam hal ini Rasulullah SAW bersabda ketika ditanya, "Apakah kita juga akan dibinasakan, dan ada orang-orang shalih di antara kita?" Rasulullah SAW menjawab. *"Ya, jika kejahatan merajalela"*

Pembacaan surat Ar Ra'ad ayat 11 ini hendaklah lengkap, jangan ditengahnya saja karena menurut Hamka (2004) jika hanya membaca bagian *"Sesungguhnya Allah tidak merubah Keadaan sesuatu kaum sehingga mereka*

merobah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri” kita akan ditipu oleh kekuatan diri kita sendiri dan mungkin akan banyak terbentur. Tetapi teruskan: “Dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, Maka tak ada yang dapat menolaknya” sebab kecelakaan itu kerap kali datang dari tempat yang tidak kita sangka-sangka. “Dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia”. Menurut tafsir Al Mishbah kalimat pada akhir ayat ini adalah penegasan tentang kandungan penggalan sebelumnya tentang sunnahtullah bagi terjadinya perubahan, khususnya dari positif menjadi negatif. Yakni tidak ada satu kekuatan pun yang dapat menghalangi berlakunya ketentuan sunnahtullah itu. Penggalan ini menguakan sekali hakikat yang berulang-ualng ditegaskaan oleh Al quran bahwa segala sesuatu kembali kepada pengaturan Allah dan kehendak-Nya.

Menurut Shihab (2006), dalam Al quran paling tidak ada dua ayat yang sering diungkapkan dalam perubahan sosial yaitu surat Ar Ra’ad ayat 11 dan surat Al-Anfal ayat 53.

ذَٰلِكَ بِأَنَّ اللَّهَ لَمْ يَكُ مُغَيِّرًا نِّعْمَةً أَنْعَمَهَا عَلَىٰ قَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنفُسِهِمْ
وَأَنَّ اللَّهَ سَمِيعٌ عَلِيمٌ ﴿٥٣﴾

Artinya: “(siksaan) yang demikian itu adalah karena Sesungguhnya Allah sekali-kali tidak akan meubah sesuatu nikmat yang telah dianugerahkan-Nya kepada suatu kaum, hingga kaum itu meubah apa-apa yang ada pada diri mereka sendiri[621], dan Sesungguhnya Allah Maha mendengar lagi Maha mengetahui.”

Kedua ayat di atas berbicara tentang perubahan, tetapi ayat pertama (surat Ar Ra’ad) berbicara tentang perubahan nikmat, sedangkan ayat kedua menggunakan kata *mâ / apa* berbicara tentang perubahan apa pun, yakni baik dari

ni'mat atau sesuatu yang positif menuju ke *niqmat*/ murka Ilahi atau sesuatu yang negative, maupun sebaliknya dari negatif ke positif.

Tafsir diatas jelas menerangkan bahwa manusia boleh melakukan usaha untuk perbaikan baik untuk diri sendiri maupun sosial dengan akal yang diberikan Allah dalam batas yang telah ditentukan Allah.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor yang pertama yaitu 4 macam konsentrasi PEG 6000 yaitu 0 gr/L, 20 gr/L, 40 gr/L dan 60 gr/L dan faktor kedua yaitu varietas kedelai yang terdiri dari varietas Willis, Tanggamus, dan Grobogan. Perlakuan dalam penelitian ini menggunakan 12 kombinasi dan diulang 3 kali sehingga terdapat 36 kombinasi dan setiap tabung diisi 1 eksplan.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi : 1) variabel bebas, 2) variabel terikat dan 3) variabel terkontrol.

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah pemberian PEG 6000 dengan berbagai konsentrasi yaitu 0 gr/L, 20 gr/L, 40 gr/L dan 60 gr/L.

3.2.2 Variabel Terikat

Variable terikat yang dalam penelitian merupakan variabel yang dapat diukur yaitu tekstur kalus, warna kalus, bobot basah kalus, diameter kalus, persentase eksplan berkalus dan indek sensitivitas terhadap kekeringan.

3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali meliputi varietas kedelai (Wilis, Tanggamus, Grobogan), media B5, 2,4-D serta suhu, cahaya, pH dan kelembaban.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni 2010 hingga Agustus 2010 di laboratorium *Genetics and Plant Culture* Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat-alat gelas: gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, batang pengaduk, botol kultur, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, gunting, “*Laminair Air Flow Cabinet*”, timbangan analitik, pipet), alat sterilisasi (autoklaf, lampu spiritus, dan penyemprot alkohol (*hand sprayer*)) pH meter, lemari pendingin, rak kultur, alat pemotret, thermometer, lampu fluorescence, lux meter, kertas label, kertas payung, kertas lakmus, hot plate, kertas tissue, korek, aluminium foil dan bekerglass.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan kimia: larutan stok makronutrien medium B5; larutan stok mikronutrien medium B5; larutan stok sumber besi; PEG 6000; larutan stok zat pengatur tumbuh 2,4-D; aquades

steril; agar; larutan stok mikronutrien yaitu sukrosa, vitamin, asam amino, bahan sterilisasi yaitu alkohol 70%, spiritus, tepol, detergen sunlight, dan sunclin 10%. Bahan buffer pH: NaOH 0,1 N dan HCl 0,1 N. Bahan eksplan: biji kedelai yang diperoleh dari koleksi Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang, kotiledon kedelai (*Glycine max*) yang diambil dari kecambah kedelai yang telah ditumbuhkan dengan teknik kultur jaringan.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat *dissecting set* (scalpel, pinset, gunting), alat-alat dari gelas dan logam dicuci dengan detergen, direndam dengan tepol selama 24 jam dan dibilas dengan air bersih beberapa kali kemudian dikeringkan dalam oven. Kemudian alat-alat *dissecting set* (pinset, gunting, scalpel) disterilisasi dengan alkohol 96% dan dibakar dengan nyala api spiritus setiap kali akan digunakan di LAF. Alat-alat gelas ditutup plastik, sedangkan alat-alat logam dan cawan petri dibungkus dengan kertas payung, kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121⁰ C selama 15 menit.

3.5.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari empat macam, yaitu media perkecambahan, media induksi kalus, media subkultur dan media PEG. Media yang digunakan untuk perkecambahan biji kedelai adalah media agar kosong yang terdiri dari agar bubuk dan aquades. Pembuatan media dilakukan dengan melarutkan agar bubuk 6,7 gram dengan aquades hingga mencapai volume

1 liter ke dalam beerglass. Larutan agar dipanaskan di atas hot plate hingga mendidih dan diaduk dengan *sterrer*. Larutan mendidih dituang ke dalam botol kultur.

Pembuatan media induksi kalus dilakukan dengan membuat 1 liter media B5 yaitu dengan mengisikan larutan stok makronutrien dan mikronutrien (lampiran 1) ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan zat pengatur tumbuh 2,4-D 4 ppm untuk 1 liter media. Selanjutnya ditambahkan sukrosa dan aquades sampai mencapai volume 1 liter. Setelah semua bahan terlarut, dilakukan pengukuran pH media dengan pH meter sampai pH mencapai 5,8. Apabila pH terlalu rendah, maka dinaikkan dengan menambahkan beberapa tetes larutan NaOH 0,1 N dan jika pH lebih dari 5,8 maka media ditambahkan larutan HCl 0,1 N. Selanjutnya medium tersebut ditambahkan agar 8 g (tidak dibuat stok). Selanjutnya medium dipanaskan sampai mendidih dan diaduk, kemudian diangkat. Kemudian medium diisikan ke dalam botol kultur sebanyak 12 ml. Setiap botol ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet plastik. Untuk pembuatan media subkultur sama seperti pembuatan media induksi kalus, hanya saja zat pengatur yang digunakan adalah 2 ppm untuk 1 liter media.

Langkah-langkah pembuatan media selektif PEG hampir sama seperti pembuatan media induksi kalus dan media subkultur tetapi pada media ini ditambahkan PEG 6000 dan 2,4-D 2 ppm sebelum dilakukan pengukuran pH sesuai perlakuan yaitu 0 gr/L, 20 gr/L, 40 gr/L dan 60 gr/L (lampiran 4).

3.5.3 Sterilisasi Media

Media dalam setiap botol kultur disterilisasi dengan cara di autoklaf pada suhu 121⁰ C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

3.5.4 Sterilisasi Ruang Tanam

1. *Laminair Air Flow* disemprot dengan alkohol 70% terlebih dahulu.
2. Alat-alat yang dimasukkan ke dalam LAF juga harus disemprot dengan alkohol 70% terlebih dahulu.
3. Selanjutnya ruang tanam disterilisasi dengan sinar UV selama 1 jam sebelum LAF digunakan, ketika LAF digunakan maka sinar UV harus dimatikan. Saat LAF digunakan, maka blower dihidupkan.

3.5.5 Persiapan dan Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi permukaan biji kedelai ini ada 2 tahap sterilisasi yaitu sterilisasi tahap I yang dilakukan di ruang persiapan dan sterilisasi tahap II yang dilakukan di LAF. Sterilisasi tahap I meliputi : biji diambil, kemudian dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air mengalir. Kemudian biji direndam dalam Clorox 20% selama 20 menit kemudian dibilas 3 kali dengan aquades. Selanjutnya biji direndam lagi dengan Clorox 15% selama 15 menit dan dibilas 3 kali dengan aquades.

Sterilisasi tahap II dilakukan setelah sterilisasi tahap I, meliputi : biji tersebut direndam dengan Clorox 20% selama 1 menit. Kemudian dilakukan pencucian 3 kali dengan aquades steril.

3.5.6 Penanaman dan Pemeliharaan Eksplan

3.5.6.1 Penanaman Biji

Eksplan biji yang telah steril sebelum ditanam diletakkan dalam petridish steril yang telah dilapisi kertas tissue/kertas serap steril untuk menyerap aquades. Kemudian eksplan ditanam dalam media agar kosong dan eksplan yang telah ditanam dalam botol kultur diatur pada rak-rak kultur. Pada ruangan penyimpanan eksplan diberi penyinaran dengan lampu flourescen 40 Watt dengan intensitas 1.000 Lux. Eksplan diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 28⁰ C dan kelembaban ruang 70% sampai muncul terjadi perkecambahan dan kotiledon muncul (Gunawan, 1995).

3.5.6.2 Inisiasi Kalus Kotiledon

Kotiledon diambil dari benih yang telah dikecambahkan pada media kosong. Kotiledon dipotong bagian pinggir terlebih dahulu menggunakan scalpel di atas cawan petri. Kemudian kotiledon ditanam pada media dengan bagian adaksial berada pada bagian bawah atau menempel pada media, masing-masing botol diisi 1 kotiledon. Selanjutnya kotiledon di inkubasi dalam ruang kultur pada suhu 25⁰ C dengan pencahayaan 36 watt dan kelembaban ruang 70% selama 2 minggu.

3.5.6.3 Subkultur Kalus Kotiledon

Kalus yang telah terbentuk dalam media induksi kemudian dipindahkan dalam media subkultur untuk mendapatkan kalus yang akan diuji dalam media selektif PEG 6000 selama 1 minggu. Pada subkultur ini, kotiledon yang telah berkembang menjadi kalus dipotong terlebih dahulu untuk diambil kalusnya saja

dan bagian yang tidak terdapat kalus terpisah dari kalus sehingga kalus lebih dapat berkembang pada bagian yang dipotong.

3.5.6.4 Seleksi Kalus Pada Media PEG 6000

Kalus yang telah terbentuk dalam media subkultur kemudian ditanam dalam media selektif PEG dengan berbagai konsentrasi sesuai dengan perlakuan untuk mengevaluasi pengaruh PEG terhadap perkembangan kalus. Setiap botol media selektif berisi 1 eksplan kalus dan diulang 3 kali. Kalus di inkubasi dalam ruang kultur pada suhu 25^o C dengan pencahayaan 36 watt dan kelembaban ruang 70%. Pengamatan dilakukan setelah 2 minggu eksplan dikultur dalam media PEG 6000.

3.6 Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan atau parameter penelitian ini meliputi:

3.6.1 Variabel kualitatif

Pada tahap inisiasi kalus, diamati waktu pemunculan kalus pertama kali setelah tanam kemudian diamati selama tujuh hari. Untuk morfologi kalus, diamati warna dan tekstur kalus pada awal dan akhir pengamatan. Untuk mengetahui tekstur kalus digunakan kaca pembesar, didasarkan pada pori-pori kalus. Pengamatan warna kalus meliputi warna : (p/ph= putih (skor:5), pk= putih kekuningan (skor:4), kc= kuning kecoklatan (skor:3), ch= coklat kehitaman (skor:2), h/m= hitam/mati (skor:1 dan 0) (Kadir, 2006).

3.6.2 Variabel Kuantitatif

Berat kalus yaitu dengan menimbang berat basah kalus yang dilakukan sebelum ditanam dan setelah di tanaman dalam media PEG dengan menggunakan timbangan analitik. Diukur panjang, lebar dan tinggi kalus dengan menggunakan penggaris, kemudian dihitung volume kalusnya pada saat subkultur dengan rumus volume ($p \times l \times t$). Pertambahan volume kalus diperoleh dari hasil pengurangan antara volume kalus akhir dengan volume awal. Perhitungan persentase eksplan yang membentuk kalus, jumlah kalus yang terbentuk per eksplan dan indek sensitivitas kekeringan (S) (Fischer dan Maurer (1978) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

a. Jumlah kalus yang terbentuk per eksplan = $\frac{\sum \text{kalus yang terbentuk}}{\sum \text{eksplan yang tana}}$

b. % eksplan membentuk kalus = $\frac{\sum \text{kalus yang terbentuk}}{\sum \text{eksplan tana}} \times 100\%$

c. $S = \frac{1 /}{1 /}$

Keterangan :

Y = Nilai rata-rata pengamatan untuk satu varietas tertentu pada kondisi stress PEG

Yp= Nilai rata-rata pengamatan untuk satu varietas tertentu pada kondisi non stress PEG (kontrol)

X = Nilai rata-rata pengamatan untuk seluruh varietas tertentu pada kondisi stress PEG

Xp = Nilai rata-rata pengamatan untuk seluruh varietas tertentu pada kondisi non stress PEG (kontrol)

Rumus di atas memiliki kriteria terhadap kekeringan seperti berikut dari satu varietas kecil sebagai toleran terhadap stress kekeringan apabila mempunyai nilai $S < 0,5$ dan medium jika $0,5 < S < 1$ dan peka jika $S > 1$

3.7 Teknik Pengambilan Data

3.7.1 Morfologi Kalus

Pengambilan data untuk mengetahui perubahan morfologi kalus dilakukan awal dan akhir pengamatan. Pengamatan morfologi kalus meliputi warna kalus dan tekstur kalus.

3.7.2 Berat Basah dan Volume Kalus

Teknik pengambilan data untuk berat basah kalus dilakukan sebelum dan setelah kalus ditanam dalam media PEG sedangkan diameter kalus diukur pada saat sebelum dan setelah subkultur.

3.8 Analisis Data

Data kualitatif (morfologi dan warna kalus) disajikan secara deskriptif. Data parameter kuantitatif persentase eksplan yang membentuk kalus, jumlah eksplan yang membentuk kalus disajikan dalam bentuk persentase. Untuk data kuantitatif penambahan volume yang diperoleh diolah dengan menggunakan uji One Way ANOVA dan untuk berat kalus yang diperoleh diolah dan diuji dengan menggunakan uji ANKOVA menggunakan program statistic *SPSS Release For Windows*. Jika ada pengaruh yang signifikan dari perlakuan, analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf signifikansi 5%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Respon Pembentukan Kalus Dari Biji Kedelai (*Glycine max*) Pada Media Inisiasi kalus

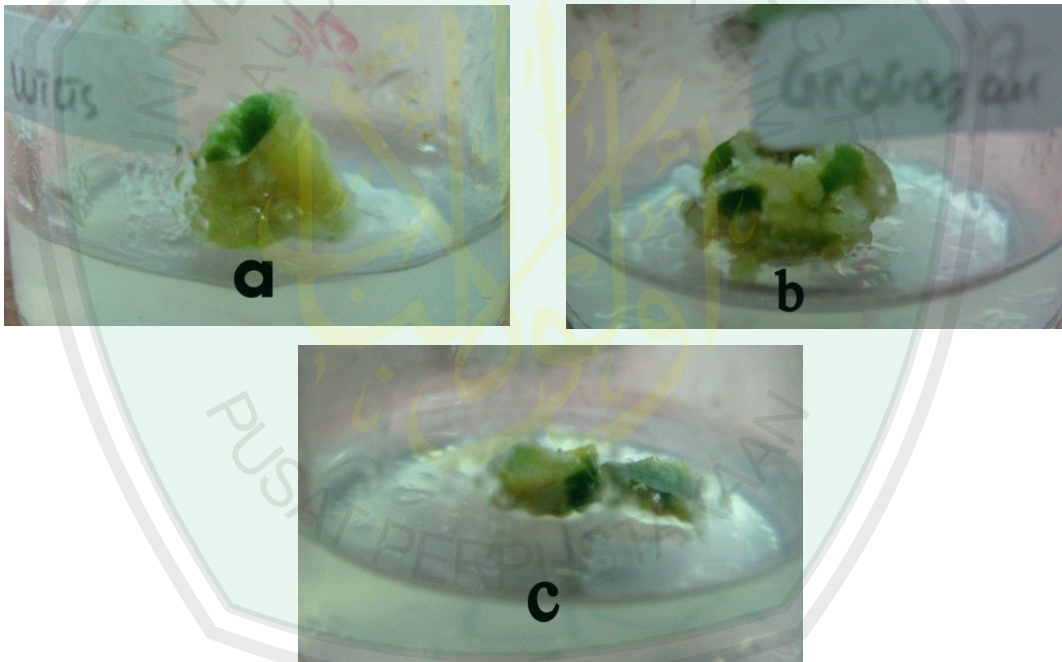
Pada tahap inisiasi kalus, sumber eksplan yang digunakan adalah kotiledon yang diperoleh dari perkecambahan biji kedelai secara aseptik. Kotiledon merupakan daun yang merupakan bagian dari embrio biji sebagai tempat cadangan makanan yang melekat pada sumbu embrio dengan hipokotil. Eksplan kotiledon kemudian ditanam pada media B5 dengan penambahan 2,4-D 4 ppm yang terlebih dahulu dilukai bagian pinggir. Ukuran kotiledon yang digunakan sebagai eksplan berbeda-beda sesuai dengan besar kotiledon masing-masing varietas. Penggunaan media B5 dan 2,4-D 4 ppm didasarkan pada penelitian Dian (2004) yang menyatakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan kalus kedelai paling baik pada medium B5 dengan penambahan 2,4-D 4 ppm. Inisiasi kalus mulai terlihat pada hari ketiga dan pada hari ke empat. Data inisiasi kalus kedelai dari beberapa varietas kedelai selama dua minggu dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data inisiasi kalus kedelai (*Glycine max*) dari beberapa varietas selama dua minggu

Varietas	Hari ke...													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Wilis	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Grobogan	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanggungus	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: - belum muncul kalus
+ muncul kalus

Dari Tabel 4.1 diketahui bahwa pada hari pertama setelah tanam, eksplan dari semua varietas belum menunjukkan adanya perubahan. Namun pada hari kedua eksplan mulai menunjukkan perubahan. Perubahan tersebut terlihat dengan semakin membengkaknya eksplan tersebut. Pada hari ketiga mulai muncul kalus berwarna putih pada kedua ujung eksplan yang dilukai pada varietas Grobogan dan Wilis. Sedangkan untuk varietas Tanggamus baru terlihat pada hari ke empat. Hal ini menunjukkan bahwa varietas Tanggamus merupakan varietas yang sulit untuk membentuk kalus jika dibandingkan dengan varietas Wilis dan Grobogan.



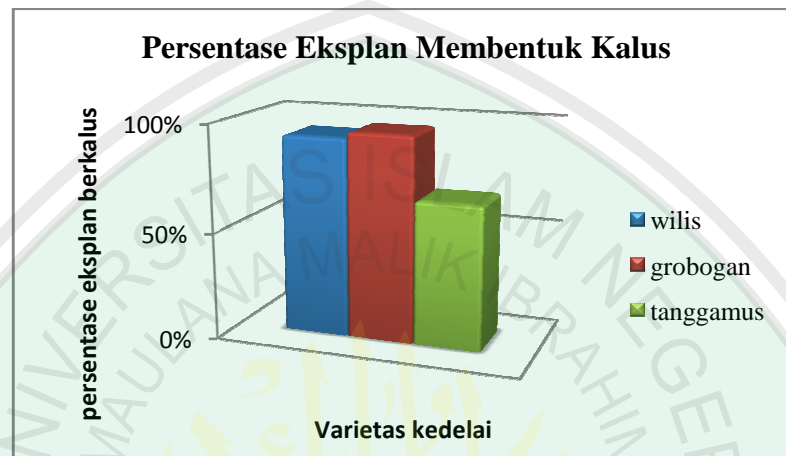
Gambar 4.1: Inisiasi kalus (a) varietas Wilis (b) varietas Grobogan (c) varietas Tanggamus Pada Pengamatan Hari Ke 14 Setelah Tanam

Pembentukan kalus pada ujung eksplan menurut Krisnamoorthy (1981) dalam Astutik (2007) diawali dengan membesarnya sel-sel epidermis bagian atas kemudian sel-sel tersebut membelah menjadi dua. Menurut Evans *dkk* (2003), ketika tanaman dilukai maka kalus akan terbentuk akibat selnya mengalami

kerusakan dan terjadi outolisis (pemecahan), dan dari sel yang rusak tersebut dihasilkan senyawa-senyawa yang merangsang pembelahan sel di lapisan berikutnya sehingga terbentuk gumpalan sel-sel yang terdeferensiasi. Gunawan (1987) dalam Astutik (2007) menambahkan bahwa di dalam jaringan yang membentuk kalus pembelahan sel tidak terjadi pada semua sel dalam jaringan asal, tetapi hanya sel di dalam lapisan *peripheral* yang membelah terus-menerus, sedangkan sel yang ditengah tetap *quiescent*. Hal inilah yang menyebabkan inisiasi kalus hanya terjadi pada kedua ujung eksplan yang sebelumnya telah terjadi pembengkakan pada bagian tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa varietas kedelai yang berbeda memberikan respon yang berbeda terhadap pembentukan kalus. Respon pembentukan kalus bervariasi antara varietas yang diuji (Gambar 4.1). Hal ini dapat dilihat dari persentase eksplan yang membentuk kalus dari ketiga varietas yang diuji. Varietas Grobogan merupakan varietas yang mudah diinisiasi untuk membentuk kalus dengan persentase 96% (Gambar 4.2). Untuk varietas Wilis persentase eksplan membentuk kalus adalah 93%. Sedangkan untuk varietas Tanggamus mampu membentuk kalus 67%. Perbedaan ini mengindikasikan adanya pengaruh genotip kedelai dalam pembentukan kalus. Seperti halnya pada penelitian Dian (2005), pada pembentukan Embrio Somatik (ES) menunjukkan bahwa setiap varietas yang berbeda memiliki perbedaan juga dalam pembentukan ES. Menurut Komatsuda (1991) dalam Dian (2005) hal ini dikarenakan perbedaan kondisi fisiologis jaringan eksplan yang digunakan dan perbedaan kompetensi

regenerasi. Kompetensi regenerasi dibutuhkan untuk merespon signal embriogenik dan memulai embriogenesis.



Gambar 4.2. Diagram persentase eksplan membentuk kalus pada berbagai macam varietas kedelai (*Glycine max*)

Pada hari berikutnya kalus semakin membesar sampai pada hari ke 14. Setelah berumur 2 minggu, kalus disubkultur dengan media B5 dan penambahan 2,4-D 2 ppm agar kalus bisa terus membelah dan berkembang karena masa kultur yang panjang dalam media yang tetap akan menyebabkan terjadinya kehabisan unsur hara dan air sehingga perlu dipindah ke media baru.

4.2 Respon Perkembangan Kalus Kedelai (*Glycine max*) Pada Media subkultur

4.2.1 Morfologi Kalus (Warna dan Tesktur Kalus)

Kalus yang telah dipindahkan dari media inisiasi ke media subkultur kalus mengalami perubahan dari segi warna dan tekstur. Adapun perubahan morfologi kalus dapat dilihat pada tabel 4.2.

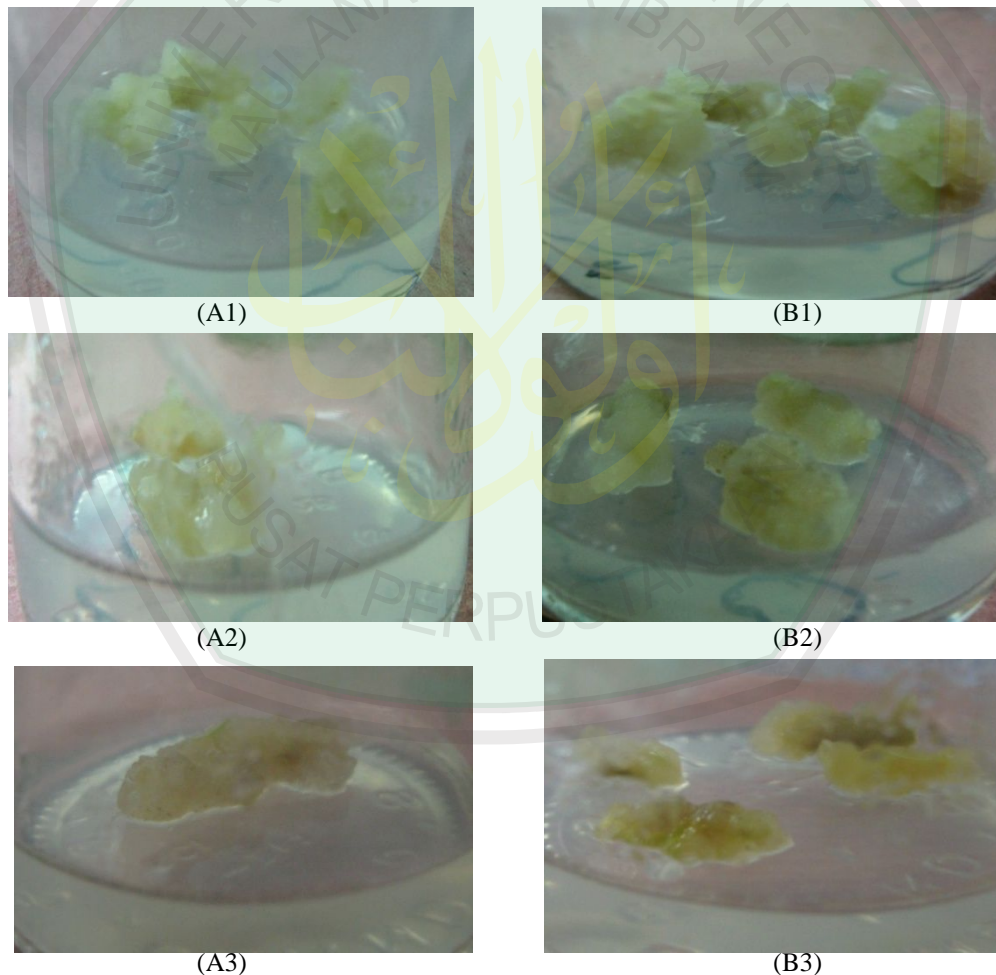
Tabel 4.2. Perubahan Morfologi Kalus Kedelai (*Glycine max*) Pada Media Subkultur

Varietas	Warna Kalus		Tekstur Kalus	
	Awal	Akhir	Awal	Akhir
Wilis	Pk	K	AR	R
Grobogan	Pk	K	AR	R
Tanggamus	Pk	K	AR	R

Keterangan: Pk = putih kuning
k = kuning

AR = agak remah
R = remah

Untuk mengetahui perubahan morfologi kalus kedelai pada awal dan akhir pengamatan, morfologi kalus ditunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.3. Perubahan warna dan tektur kalus beberapa varietas kedelai (*Glycine max*) pada pengamatan hari ke 1 subkultur (A) dan hari ke 14 subkultur (B). 1: varietas Wilis, 2: varietas Grobogan, 3: varietas Tanggamus

Pada tabel 4.2 dan gambar 4.3 menunjukkan terjadinya perubahan warna dan tekstur kalus kedelai pada awal dan akhir pengamatan. Pada awalnya kalus berwarna putih kekuningan dengan tekstur agak remah. Menurut Dian (2004), warna kalus dapat memperlihatkan baik tidaknya pertumbuhan kalus. Pigmen putih dan kuning pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut baik, karena kalus kotiledon kedelai tidak mempunyai klorofil, sehingga tidak mempunyai pigmen hijau. Warna dan tekstur kalus dari semua varietas rata-rata menunjukkan perubahan pada akhir pengamatan yaitu kuning dengan tekstur remah. Tektur kalus yang semakin remah (*friable*) mengalami pembelahan sel yang cepat dari pada tekstur kalus yang kompak. Sel-sel kalus yang terbentuk bersifat remah (*friable*) memiliki ciri-ciri antara satu sel dengan sel lainnya mudah dipisahkan. Bila kalus diambil dengan pinset, maka sel-sel kalus akan mudah menempel pada pinset (Kusumandari, 2005 *dalam* Rahmawati, 2007). Perubahan tekstur kalus yang semakin remah menunjukkan terjadinya proliferasi massa sel dalam kalus. Menurut Khrisnamoorthy (1981) *dalam* Rahmawati (2007) 2,4-D dapat memicu terjadinya proliferasi massa sel dalam kalus.

4.2.2 Pertambahan Volume Kalus

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANOVA tunggal tentang pengaruh beberapa varietas terhadap pertambahan volume kalus kedelai (*Glycine max*) diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ yaitu $5.78 > 3.28$ dengan taraf signifikan 95%, dengan demikian hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh varietas yang berbeda

terhadap penambahan volume kalus sebagaimana tercantum dalam tabel 4.3 dibawah ini.

Tabel 4.3. Ringkasan ANOVA Tunggal Tentang Pengaruh Varietas Terhadap Pertambahan Volume Kalus Kedelai (*Glycine max*)

SK	Db	JK	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	2	0.677224	0.338612	5.87*	3.28
Galat	33	1.903739	0.057689		
Total	35	2.580964			

Untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan, maka perlu di uji lanjut dengan menggunakan BNJ 5%. Ringkasan hasil uji BNJ 5% ditunjukkan pada tabel 4.4.

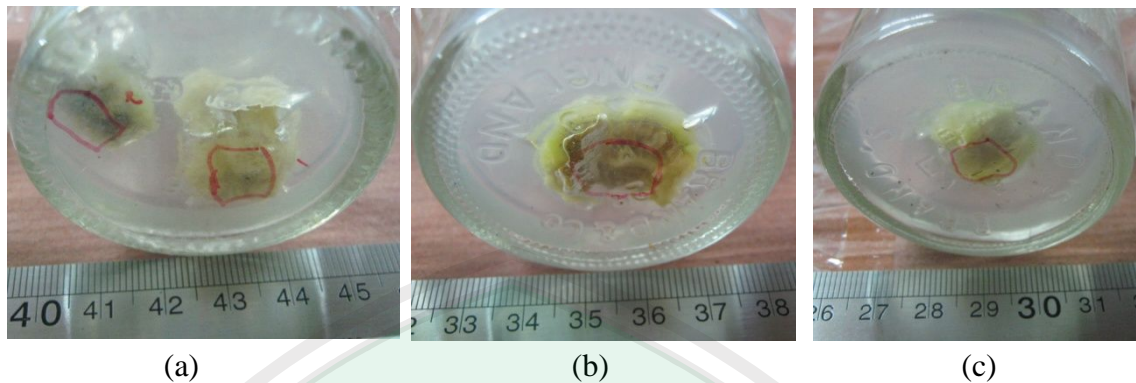
Tabel 4.4 Rata-Rata Pertambahan Volume Kalus (cm) Pada Beberapa Varietas Kedelai Pada Hari Ke 14 Setelah Disubkultur

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
Tanggamus	0.133	a
Wilis	0.277	ab
Grobogan	0.468	b

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf signifikan 0.05

Berdasarkan tabel 4.4 menunjukkan bahwa pada varietas Grobogan menunjukkan pertambahan volume kalus yang berbeda dengan varietas Tanggamus dan tidak berbeda nyata dengan varietas Wilis. Berdasarkan notasi BNJ 0.05, dapat diketahui bahwa pertambahan volume kalus pada varietas Grobogan lebih meningkat jika dibandingkan dengan varietas lain.

Peningkatan volume kalus yang berbeda pada setiap varietas menunjukkan bahwa setiap varietas mempunyai kemampuan berbeda dalam membentuk kalus. Hal ini dikarenakan setiap varietas memiliki ukuran dan kondisi fisiologis jaringan eksplan yang digunakan berbeda.



Gambar 4.4 Peningkatan volume kalus: (a) varietas Wilis, (b) varietas Grobogan, (c) varietas Tanggamus Pada Pengamatan Hari Ke 14 Setelah Disubkultur

Peningkatan volume kalus menunjukkan adanya proses pertumbuhan. Dari hasil pengamatan dan didukung hasil analisis statistik diketahui bahwa pertambahan volume tersebut sangat signifikan. Menurut Rahmawati (2007), peningkatan volume kalus terjadi karena kalus mengalami pembelahan sel hingga menyebabkan terjadinya peningkatan massa sel. Pembelahan sel kalus disebabkan oleh adanya 2,4-D yang ditambahkan dalam media. Hasil penelitian Dian (2004), menunjukkan pula bahwa zat pengatur tumbuh (ZPT) yang ditambahkan dalam media mempengaruhi tahapan perkembangan kalus. Dengan penambahan 2,4-D 2ppm, kotiledon kedelai dapat membentuk kalus embriogenik yang memiliki struktur remah. Menurut Hendaryono (1994) dalam Rahmawati (2007), auksin dapat meningkatkan tekanan osmotik, sintesa protein, dan permeabilitas sel terhadap air. Hal ini menyebabkan air dapat masuk ke dalam sel sehingga volume kalus meningkat. Dengan adanya peningkatan sintesis protein, maka dapat digunakan sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan. Menurut Stafford *et al*

(1991) dalam Astutik (2007), pembentukan kalus dari suatu tanaman terjadi dalam tiga tahap perkembangan yakni :

1. Induksi sel (sel-sel siap melakukan pembelahan)
2. Pembelahan (sel-sel menjadi meristematik, lebih aktif membelah dan mengalami peningkatan ukuran sel)
3. Differensiasi (morfogenesis dan organogenesis) sel (sel mulai melebar dan membelah hingga tercapai keseimbangan antara pembelahan dan pelebaran)

4.3 Respon Pertumbuhan Kalus Kedelai (*Glycine max*) Pada Media PEG 6000 Sebagai Simulasi Cekaman Kekeringan

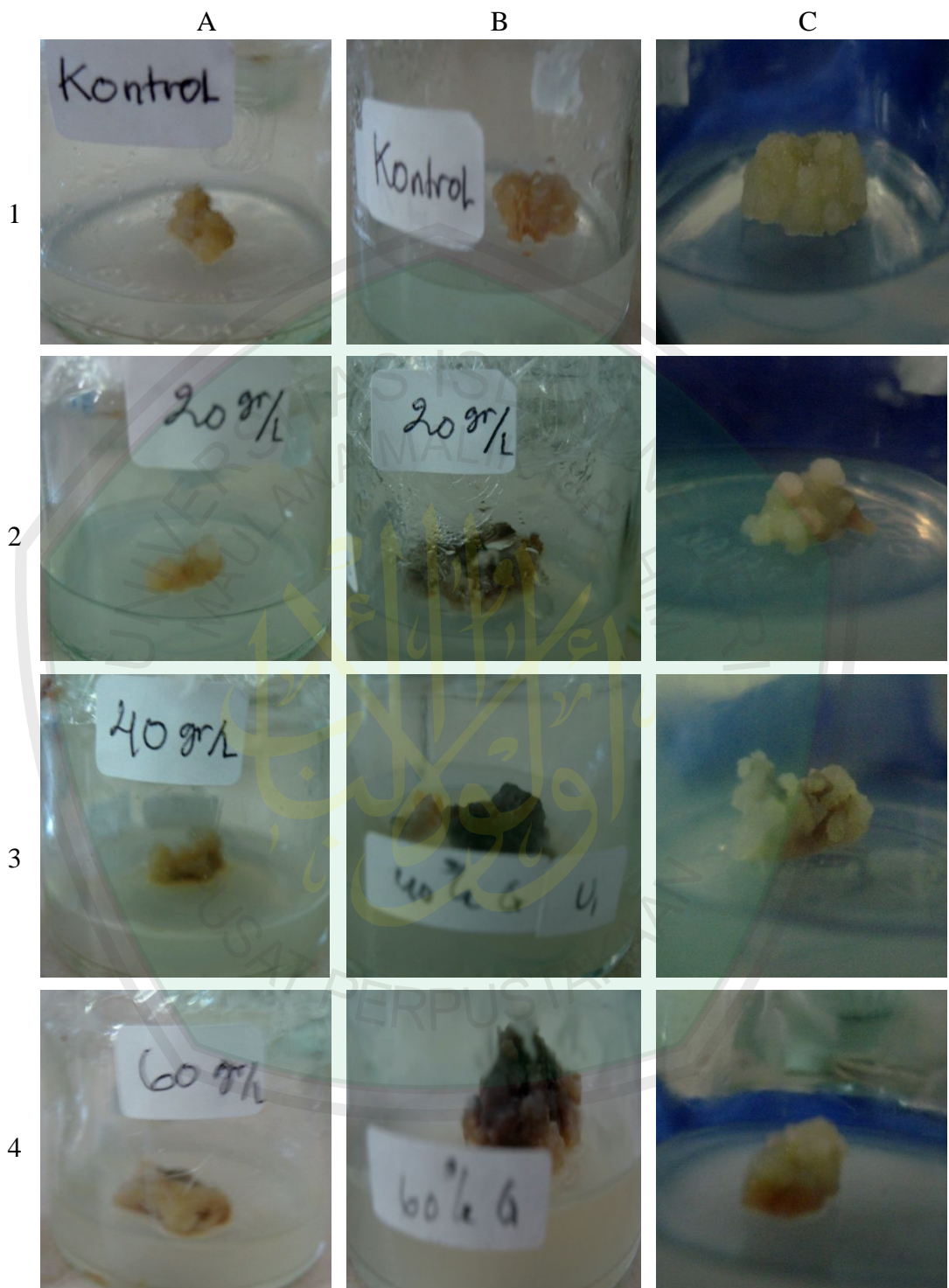
4.3.1 Morfologi Kalus (Warna dan Tekstur Kalus) Pada Media PEG 6000

Kalus yang telah dipindahkan pada media mengandung PEG 6000 mengalami perubahan dari segi morfologi (warna dan tekstur). Perubahan tersebut disajikan pada tabel 4.5 dan gambar 4.5.

Tabel 4.5. Perubahan Morfologi Kalus Kedelai (*Glycine max*) Pada Media PEG 6000

Varietas	Perlakuan PEG 6000	Warna kalus		Tekstur kalus	
		Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Wilis	Kontrol	K	Kc	R	R
	20 gr/L	K	Kc	R	R
	40 gr/L	Pk	Kc	R	R
	60 gr/L	Pk	Kc	R	AR
Grobogan	Kontrol	K	K	AR	R
	20 gr/L	Pk	Ch	R	R
	40 gr/L	Kc	H	R	R
	60 gr/L	Pk	Ch	R	AR
Tanggamus	Kontrol	Pk	K	R	R
	20 gr/L	Pk	K	R	R
	40 gr/L	Pk	K	AR	R
	60 gr/L	Pk	Kc	R	R

Keterangan: Pk = putih kuning Kc = kuning kecoklatan h = hitam AR = agak remah
k = kuning Ch = coklat kehitaman R = remah



Gambar 4.5 Pengamatan perubahan warna dan tekstur kalus beberapa varietas kedelai (*Glycine max*) pada pengamatan hari ke 15 setelah subkultur pada media PEG 6000
 A = varietas Wilis, B = varietas Grobogan, C = varietas Tanggamus
 1 = Kontrol, 2 = PEG 20 gr/L, 3 = PEG 40 gr/L, 4 = PEG 60 gr/L

Pada tabel 4.5 dan gambar 4.5 dapat dilihat bahwa tekstur kalus yang diperoleh hampir semua menunjukkan struktur yang remah dengan warna yang semakin coklat. Tekstur kalus yang semakin remah (*friable*) mengalami pembelahan sel yang cepat dari pada tekstur kalus yang kompak. Sel-sel kalus yang terbentuk bersifat remah (*friable*) memiliki ciri-ciri antara satu sel dengan sel lainnya mudah dipisahkan (Kusumandari, 2005 dalam Rahmawati, 2007). Perubahan tekstur kalus yang semakin remah menunjukkan terjadinya proliferasi massa sel dalam kalus. Pada tabel 4.5 juga menunjukkan sebagian kalus mempunyai struktur yang agak remah pada akhir pengamatan serta warna yang semakin coklat dan bahkan ada yang berwarna hitam. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian kalus tidak mengalami proliferasi massa sel karena adanya PEG 6000 dalam media.

Menurut Kadir (2006), sejalan dengan nilai indeks kalus, kalus yang mati dalam media yang mengandung PEG dapat diamati dari perubahan warna kalus. Secara umum perubahan morfologi kalus dalam media PEG 6000 dari 3 varietas kedelai yang diuji menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi PEG 6000 yang ditambahkan dalam media, maka warna kalus semakin coklat. Pada varietas Wilis perubahan warna yang mencolok hanya terlihat pada konsentrasi PEG 40 gr/L dan 60 gr/L yaitu dari warna putih kuning menjadi kuning coklat, sedangkan pada kontrol dan konsentrasi PEG 20 gr/L perubahan warna tidak begitu mencolok yaitu dari warna kuning menjadi kuning coklat. Pada varietas Grobogan kalus yang berwarna coklat hingga mendekati warna hitam terlihat mulai dari konsentrasi PEG 20 gr/L, 40 gr/L 60 gr/L dan pada kontrol berwarna kuning.

Sedangkan pada varietas Tanggamus terlihat bahwa pada kontrol, konsentrasi PEG 6000 20 gr/L dan 40 gr/L tidak terjadi perubahan hingga mencapai warna coklat jika dibandingkan pada konsentari 60 gr/L.

Warna coklat yang terjadi pada kalus menunjukkan terjadinya sintesis senyawa fenolik. Vickery (2003) dalam Astutik (2007) menyatakan bahwa sintesis senyawa fenolik dipicu oleh cekaman atau gangguan pada sel tanaman. Cekaman atau gangguan yang terjadi pada sel tanaman disebabkan karena berkurangnya nutrisi yang ada dalam media. Menurut Dubravina (2005), pencoklatan pada jaringan terkait dengan akumulasi fenol yang berlebihan. Fenol yang teroksidasi akan membentuk kuinon dan kuinon adalah senyawa yang menyebabkan adanya warna coklat pada kultur kalus. Intensitas warna coklat berkorelasi positif dengan hiperaktivitas enzim oksidatif (Naz, 2008), sedangkan peningkatan aktivitas enzim tersebut terkait dengan reaksi pertahanan jaringan dari stres oksidatif. Berdasarkan hal tersebut, maka dapat diduga bahwa dengan adanya peningkatan intensitas warna coklat seiring dengan konsentrasi PEG 6000 menunjukkan tingkat stres yang semakin tinggi.

Tingkat stres yang semakin tinggi pada kalus disebabkan kurangnya nutrisi dalam media kalus karena pada media yang dipakai mengandung PEG 6000. PEG 6000 merupakan suatu senyawa yang dapat memodifikasi potensial osmotik suatu larutan nutrisi kultur dan menyebabkan kekurangan air pada tanaman. Cekaman air dalam media merupakan hal yang mengganggu proses pertumbuhan tanaman. Karena air merupakan komponen yang penting untuk kelangsungan proses pertumbuhan dalam tubuh tanaman. Islami dan Utomo (1995) menambahkan

bahwa cekaman kekeringan akan menyebabkan terjadinya perubahan anatomi dan morfologi tanaman. Cekaman kekeringan juga mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel melalui pengaruhnya pada pembelahan sel, pertumbuhan sel dan protoplasma. Pada penelitian ini, perubahan warna yang terjadi pada tiga varietas tersebut merupakan respon yang ditunjukkan kalus terhadap media yang kurang air (cekaman kekeringan).

Hasil pengamatan warna kalus secara keseluruhan terlihat bahwa pada konsentrasi PEG 60 gr/L merupakan kondisi subletal karena warna yang ditunjukkan adalah coklat kehitaman dan kuning kecoklatan atau nilai indeks kualitas kalus bernilai 3 dan 2. Beberapa kalus pada media PEG 6000 40 gr/L berwarna kekuningan sehingga masih mempunyai potensi untuk beregenerasi begitu pula pada konsentrasi dibawahnya. Jika dibandingkan dari setiap varietas yang diuji, varietas Tanggamus merupakan varietas yang mampu bertahan pada kondisi cekaman kekeringan jika dibandingkan dengan varietas lain. Hal ini ditunjukkan kalus yang berwarna kuning walaupun ditanam dalam media yang mengandung PEG 6000 hingga konsentrasi 40 gr/L dan menunjukkan warna kuning coklat pada konsentrasi PEG 60 gr/L.

4.3.2 Berat Kalus

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANKOVA faktorial tentang pengaruh PEG 6000 dengan konsentrasi 0 gr/L (kontrol), 20 gr/L, 40 gr/L dan 60 gr/L terhadap berat kalus beberapa varietas kedelai (*Glycine max*) yaitu Wilis, Grobogan dan Tanggamus, diperoleh data yang menunjukkan

bahwa F hitung > F tabel dengan taraf signifikan 95%. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata pada pemberian PEG 6000 dengan konsentrasi yang berbeda terhadap berat kalus beberapa varietas kedelai (*Glycine max*), sebagaimana yang tercantum dalam tabel 4.6.

Tabel 4.6 Ringkasan ANKOVA Faktorial Tentang Pengaruh Pemberian Konsentrasi PEG 6000 yang Berbeda Terhadap Berat Total Kalus Kedelai (*Glycine max*)

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel
Ulangan	2	0.017446	0.007723	3.067	3.47
Perlakuan	11	-	-	-	-
P	3	0.049862	0.0166207	8.76*	3.07
V	2	0.165548	0.082774	29.35*	3.47
PV	6	0.077207	0.01286783	13.57*	2.57
Galat	1	0.119493	0.00569		

Keterangan; * = berbeda nyata pada tingkat signifikan 0,05
tn = tidak nyata

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang ada, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) 0,05. Berdasarkan hasil uji BNJ 0,05 dari rata-rata berat total kalus, maka di dapatkan notasi BNJ seperti pada tabel 4.6.

Tabel 4.7 Rata-Rata Berat Kalus (gram) Kedelai (*Glycine max*) Total Pada Pemberian PEG 6000 dengan Konsentrasi yang Berbeda

Varietas	Konsentrasi PEG 6000			
	Kontrol	20 gr/L	40 gr/L	60 gr/L
Wilis	0.6946 bc	0.6678 bc	0.5343 ab	0.5319 ab
Grobogan	0.6718 bc	0.4411 ab	0.4123 a	0.4958 ab
Tanggamus	0.8387 c	0.6456 abc	0.6926 bc	0.5393 abc

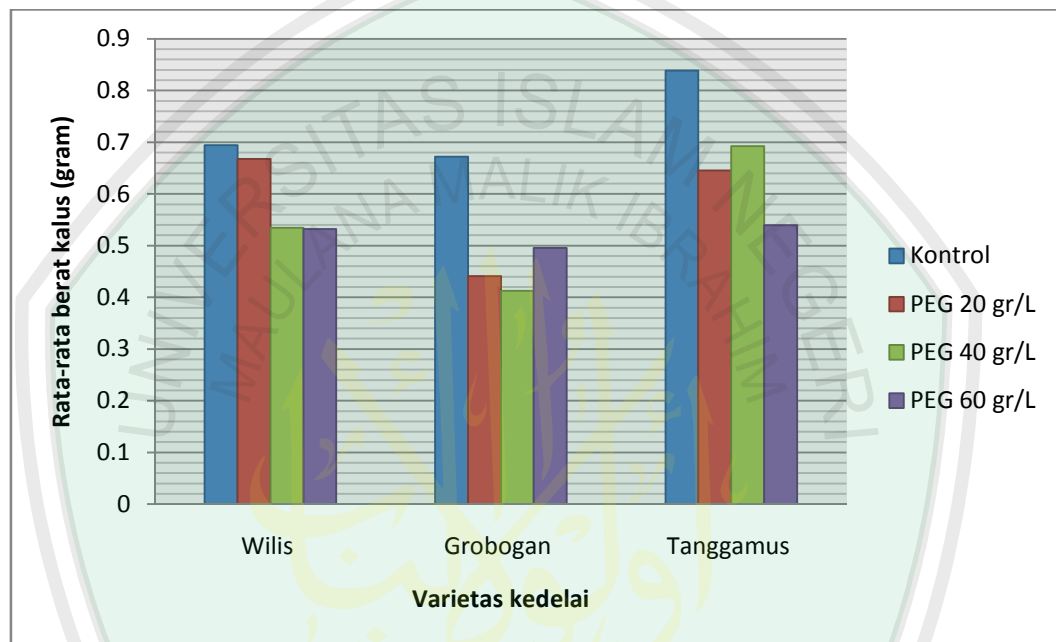
Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf signifikan 0.05

Dari hasil tabel 4.7 menunjukkan bahwa perlakuan kontrol Tanggamus berbeda nyata dengan perlakuan PEG 40 gr/L Grobogan, dengan demikian nilai

rata-rata jumlah berat kalus yang tinggi yaitu pada kontrol varietas Tanggamus dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol Wilis, PEG 40gr/L Tanggamus, kontrol Grobogan, PEG 20 gr/L Wilis, PEG 20 gr/L Tanggamus dan PEG 60 gr/L Tanggamus. Sedangkan berat kalus yang rendah yaitu pada perlakuan PEG 40 gr/L pada varietas Grobogan dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan PEG 20 gr/L Grobogan, PEG 60 gr/L Grobogan, PEG 60 gr/L Wilis, PEG 40 gr/L Grobogan, PEG 60 gr/L Tanggamus dan PEG 20 gr/L Tanggamus.

Berdasarkan hasil pengamatan, diketahui bahwa secara umum berat kalus bertambah jika dilihat dari data berat kalus yang semakin meningkat diakhir pengamatan tanpa adanya penambahan PEG 6000 dalam media. Sedangkan data berat kalus menunjukkan adanya penurunan diakhir pengamatan jika dalam media ditambahkan PEG 6000. Hal ini menunjukkan bahwa PEG 6000 merupakan senyawa yang mampu menurunkan berat kalus karena media yang diberi PEG 6000 merupakan media yang mengalami cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan merupakan istilah untuk menyatakan bahwa tanaman mengalami kekurangan air akibat keterbatasan air dari lingkungannya yaitu media tanam (Kuswarwiyah, 2006). Akibat dari kekurangan suplai air dalam media ini menyebabkan terganggunya metabolisme sel. Metabolisme merupakan reaksi kimia yang terjadi di dalam sel yang melibatkan enzim. Metabolisme tersebut berupa reaksi penyusunan (anabolisme) dan reaksi penguraian (katabolisme). Metabolisme sel dilakukan untuk memperoleh energi, menyimpan energi, menyusun bahan makanan, merombak bahan makanan, membentuk struktur sel, merombak struktur sel, memasukkan atau mengeluarkan zat-zat, melakukan

gerakan, menanggapi rangsangan dan bereproduksi (Lakitan, 2004) sehingga kurangnya air dalam media ini menyebabkan kalus mengalami penurunan berat kalus. Rata-rata berat kalus disajikan dalam diagram 4.2.



Gambar 4.6. Diagram Rata-Rata Berat Kalus (gram) Kedelai (*Glycine max*) Pada Pemberian PEG 6000 dengan Konsentrasi yang Berbeda

Berat kalus merupakan salah satu indikator adanya proses pertumbuhan. Hal ini disebabkan sel-sel kalus mengalami pembelahan sel sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan massa sel. Kurangnya suplai air dalam proses pertumbuhan kalus menyebabkan kalus tidak dapat melakukan pembelahan sel secara sempurna sehingga massa sel kalus tidak bertambah dan mengalami penurunan. Menurut Gardner (1991), air memiliki bermacam-macam fungsi bagi tanaman, yaitu 1) sebagai pelarut unsur hara dalam tanah, 2) medium untuk reaksi kimia, 3) sebagai medium transport, 4) sebagai penyusun sitoplasma sekaligus

sebagai medium yang memberikan tekanan turgor pada sel tanaman, tekanan turgor dapat memacu pembesaran sel, 5) sebagai bahan baku untuk fotosintesis, proses hidrolisis dan reaksi kimia lainnya dalam tumbuhan dan 6) berperan dalam proses transpirasi sehingga sangat dibutuhkan dalam setiap proses pertumbuhan.

Untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian berbagai macam konsentrasi PEG 6000 terhadap berat kalus, maka perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNT 5%. Berdasarkan hasil uji BNT 5% dari rata-rata berat total kalus, maka di dapatkan notasi BNT seperti pada tabel 4.8.

Tabel 4.8 Rata-rata Berat Kalus (gram) Pada Perlakuan PEG 6000 dengan Berbagai Konsentrasi

Perlakuan PEG 6000	Rata-rata
60 gr/L	0.5201 a
40 gr/L	0.5474 a
20 gr/L	0.5835 a
Kontrol	0.7355 ab

Keterangan: Angka yang didampingi dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf signifikan 0.05

Dari tabel 4.8 dapat diketahui bahwa terjadi perbedaan yang nyata pada berat kalus kedelai yang diberi PEG 6000 dengan kalus kedelai perlakuan kontrol (media tanpa PEG 6000). Pada kontrol menunjukkan perbedaan yang nyata dengan perlakuan PEG 6000 60 gr/L, 40 gr/L dan 20 gr/L tetapi antar perlakuan tersebut menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Dari uji BNT 0.05 menunjukkan bahwa nilai rata-rata berat kalus yang tinggi yaitu pada perlakuan kontrol (tanpa PEG) dan berat kalus yang rendah pada perlakuan PEG 60 gr/L.

Pengaruh PEG 6000 dalam proses pertumbuhan kalus sangat berpengaruh, karena dengan adanya senyawa tersebut berat kalus mengalami penurunan pada

setiap konsentrasinya. Melalui aktivitas matriks sub-unit etilena oksida, PEG 6000 mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen sehingga dapat menciptakan kondisi cekaman pada media karena ketersediaan air bagi tanaman menjadi berkurang (Suwarsi dan Guhardja, 2005). Menurut Campbell (2002) sel yang dicelupkan atau diletakkan ke dalam lingkungan hipertonik, maka sel akan kehilangan air yang berpindah ke sekelilingnya dan akan mengkerut. Begitu sel ini mengkerut, membran plasmanya tertarik menjauhi dindingnya. Fenomena ini disebut plasmolisis, biasanya menyebabkan tumbuhan mati. Pada kalus peristiwa ini tidak disebabkan karena senyawa PEG akan tetapi disebabkan kekurangan air dalam media tanam, sehingga bisa dikatakan bahwa PEG secara tidak langsung menyebabkan plasmolisis. Suryowinoto (1990) menambahkan bahwa PEG merupakan senyawa yang mempunyai sifat dalam memacu adhesi antar protoplas dan mempunyai sifat mengganggu (perturbation) terhadap lapisan-lapisan rangkap phospholipid. Pengaruh tidak langsung inilah yang menyebabkan terganggunya proses pertumbuhan kalus baik dari penurunan berat kalus maupun morfologi kalus.

Setiap varietas memiliki respon yang berbeda dalam menanggapi cekaman akibat penambahan PEG 6000 dalam media. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh varietas yang berbeda terhadap berat kalus dalam media PEG 6000, maka perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNT 5%. Berdasarkan hasil uji BNT 5% dari rata-rata berat total kalus, maka di dapatkan notasi BNT seperti pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Rata-rata Berat Kalus Pada Berbagai Varietas Kedelai (*Glycine max*) Dalam Media dengan Penambahan PEG 6000

Perlakuan	Rata-rata
Grobogan	0.474007 a
Wilis	0.612413 b
Tanggamus	0.710951 b

Keterangan: Angka yang didampangi dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf signifikan 0.05

Dari ringkasan uji BNJ diatas diketahui bahwa perbedaan perlakuan varietas Grobogan berbeda nyata dengan varietas Tanggamus terhadap berat kalus. Nilai rata-rata tertinggi berat kalus yaitu pada varietas Tanggamus tetapi tidak berbeda nyata dengan varietas Wilis dan nilai terendah rata-rata berat kalus yaitu pada varietas Grobogan.

Kedelai merupakan tanaman yang peka terhadap cekaman kekeringan. Tanaman kedelai memerlukan kelembapan yang tinggi terutama di daerah perakaran (Pasaribu dan Sunarlim, 1988). Setiap varietas kedelai mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menanggapi adanya cekaman kekeringan. Berdasarkan uji statistik diketahui bahwa varietas Tanggamus merupakan varietas yang mampu bertahan dalam kondisi kekeringan dibandingkan varietas Grobogan dan Wilis. Hal ini sesuai dengan perhitungan indek sensitivitas kekeringan berdasarkan pada data selisih berat kalus pada setiap varietas. Varietas Tanggamus menunjukkan nilai indek sensitivitas $0.5 < 0.6 < 1$ yang artinya varietas Tanggamus medium terhadap kekeringan. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh varietas Wilis yang memiliki nilai indek sensitivitas $0.5 < 0.89 < 1$ yang berarti varietas Wilis juga medium atau moderat terhadap kekeringan seperti halnya varietas Tanggamus. Tetapi nilai indek sensitivitas kekeringan pada kedua varietas

tersebut berbeda. Pada varietas Tanggamus nilai indeks sensitivitas lebih kecil (0.6) dibandingkan varietas Wilis yaitu (0.89). Perbedaan angka ini menunjukkan bahwa varietas Tanggamus lebih toleran terhadap kekeringan dibandingkan varietas Wilis. Pada varietas Grobogan, nilai indeks sensitivitas $2.54 > 1$ yang artinya varietas ini peka terhadap kekeringan.

Perbedaan tanggapan setiap varietas ini menunjukkan bahwa setiap varietas memiliki kemampuan berbeda dalam menanggapi cekaman kekeringan. Menurut (Bailey, 2003 dalam Diah, 2006), perbedaan kemampuan pada berbagai genotip kedelai dalam kultur *in vitro* terjadi akibat adanya perbedaan kualitas jaringan embriogenik antar genotip. Penurunan berat kalus pada varietas kedelai yang peka lebih besar daripada penurunan berat kalus pada varietas yang tergolong toleran terhadap cekaman. Hal ini menunjukkan bahwa pada media dengan konsentrasi PEG yang sama, genotip kedelai toleran mampu menaikkan berat kalus dalam jumlah yang lebih banyak daripada berat kalus oleh genotip kedelai yang termasuk peka terhadap cekaman kekeringan. Menurut Handa *et.al* (1938) dalam Suryowinoto (1990), toleransi terhadap kekeringan (*drought tolerance*) menyangkut penyesuaian tekanan osmotik secara substansial didalam sel-sel. Penyesuaian osmotik ini dilakukan dengan peningkatan bahan larut dalam sel, dan terjadi untuk menanggapi berbagai tekanan lingkungan. Bahan larutannya ialah karbohidrat, gula dan asam amino. Bagi sel-sel yang toleran terhadap kadar air rendah, sel-sel dapat menyesuaikan diri terhadap tekanan osmotik sebesar 40 bar untuk PEG.

4.4 Usaha Menguji Varietas Kedelai (*Glycine max*) Tahan Kekeringan Menurut Pandangan Islam

Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai bahan makanan. Hal ini dikarenakan kedelai merupakan sumber protein nabati yang efisien (Sumarno dan Harnoto, 1983) dan juga sumber protein yang menduduki tempat pertama diantara tanaman kacang-kacangan (Somatmadja, 1985) yang dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan gizi manusia. Kedelai biasa dikonsumsi dalam bentuk terfermentasi dan olahan seperti tahu, tempe, kecap dan susu kedelai. Kedelai adalah makanan yang murah tetapi bergizi, karena mampu menggantikan kandungan protein hewani. Kedelai selain sebagai salah satu kebutuhan pokok, juga bermanfaat sebagai bahan obat dan penyangkal penyakit (Savitri, 2008).

Banyaknya manfaat kedelai tersebut, menyebabkan kedelai terus diproduksi secara cepat dengan menggunakan sistem bercocok tanam. Dalam Islam, bercocok tanam merupakan salah satu anjuran Nabi. Beberapa hadist yang menunjukkan anjuran agama Islam untuk bercocok tanam yaitu agar kita bisa memanfaatkan lahan secara produktif bahkan menegaskan bahwa sesungguhnya Islam benar-benar menganjurkan kepada umatnya untuk bercocok tanam.

Dari Jabir bin Abdullah *Rodhiyallahu 'Anhu* dia bercerita bahwa Rosulullah SAW bersabda yang Artinya: *“Tidaklah seorang muslim menanam suatu tanaman melainkan apa yang dimakan dari tanaman itu sebagai sedekah baginya, dan apa yang dicuri dari tanaman tersebut sebagai sedekah baginya dan tidaklah kepunyaan seorang itu dikurangi melainkan menjadi sedekah baginya”* (HR. Imam Muslim)

Syaikh Utsaimin (2004) menjelaskan bahwa hadist-hadist tersebut merupakan dalil-dalil yang jelas mengenai anjuran Nabi SAW untuk bercocok tanam, karena bercocok tanam terdapat manfaat yaitu manfaat dunia dan akhirat.

Kebanyakan lahan untuk bercocok tanam pada masa kini mengalami kekeringan karena kurangnya air dalam tanah sehingga menyebabkan produksi pertanian menurun. Pada lahan kering, cekaman kekeringan pada tanaman terjadi karena suplai air yang tidak mencukupi. Komori (2000) menambahkan bahwa kekeringan akan menurunkan potensial air tanah dan menyebabkan kekurangan air dalam tanaman yang membatasi pertumbuhan tanaman dan produktivitas pertanian. Air merupakan sumber kehidupan yang dibutuhkan dalam segala hal termasuk untuk menyuburkan tanaman. Sebagaimana Firman Allah dalam surat Al Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya; “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”.

Manusia terus melakukan usaha perbaikan untuk memenuhi kebutuhan hidup mereka. Dalam Alquran telah disebutkan ayat yang menerangkan tentang anjuran untuk melakukan perubahan (usaha) yaitu dalam surat Ar-Ra'd ayat 11:

لَهُ مُعَقِّبَاتٌ مِّنْ بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا
بِقَوْمٍ حَتَّى يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ وَإِذَا أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ وَمَا لَهُمْ مِنْ
دُونِهِ مِنْ وَّالٍ ﴿١٠١﴾

Artinya: “Bagi manusia ada malaikat-malaikat yang selalu mengikutinya bergiliran, di muka dan di belakangnya, mereka menjaganya atas perintah Allah. Sesungguhnya Allah tidak merobah Keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merobah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri. dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, Maka tak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia.

Menurut tafsir Al-Azhar yang ditulis oleh Hamkan (2004), penggalan ayat “Sesungguhnya Allah tidak merobah Keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merobah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri” merupakan ayat yang terkenal tentang kekuatan dan akal budi yang dianugerahkan Allah kepada manusia sehingga manusia tidak dapat bertindak sendiri dan mengendalikan dirinya sendiri di bawah naungan Allah. Dia berkuasa atas dirinya dalam batas-batas yang ditentukan oleh Allah. Sebab itu maka manusia itu pun wajiblah berusaha sendiri pula menentukan garis hidupnya, jangan hanya menyerah saja dengan tidak berikhtiar. Manusia diberi akal oleh Allah dan dia pandai sendiri mempertimbangkan dengan akalnya itu di antara yang buruk dan yang baik. Manusia bukanlah semacam kapas yang diterbangkan angin kemana-mana, atau laksana batu yang terlempar di tepi jalan. Dia mempunyai akal, dan dia pun mempunyai tenaga untuk mencapai yang lebih baik, dalam batas-batas yang ditentukan oleh Allah. Kalau tidak demikian, niscaya tidaklah akan sampai manusia itu mendapat kehormatan menjadi khalifah Allah di muka bumi ini.

Tafsir diatas jelas menerangkan bahwa manusia boleh melakukan usaha untuk perbaikan baik untuk diri sendiri maupun sosial dengan akal yang diberikan Allah dalam batas yang telah ditentukan Allah.

Salah satu usaha yang dilakukan manusia untuk menanggulangi lahan kering adalah dengan mencari varietas kedelai tahan terhadap kekeringan dengan menggunakan metode kultur jaringan. Usaha ini merupakan usaha perbaikan yang ditujukan untuk hal yang positif yaitu supaya produksi kedelai tidak mengalami kemunduran meskipun ditanam dilahan kering. Menurut Adisarwanto (2005) dalam Astutik (2007), upaya-upaya pengembangan varietas unggul tanaman kedelai sudah dimulai sejak tahun 1916 dengan cara memasukkan varietas dari luar negeri. Dari hasil-hasil persilangan antara kedelai lokal dan kedelai dari luar negeri yang juga varietas unggul, maka didapatkan varietas-varietas unggul baru. Upaya mencari varietas yang tahan kekeringan diantara varietas-varietas yang ada merupakan upaya positif yang bertujuan untuk pengembangan varietas unggul pada lahan kering dan hal ini merupakan usaha yang dibolehkan dalam ajaran Islam.

Pada penelitian ini diketahui bahwa setiap varietas memiliki respon dan kemampuan yang berbeda-beda dalam menanggapi cekaman kekeringan. Perbedaan ini tidak selamanya mengandung hal yang negatif karena Allah menciptakan makhluknya berbeda-beda, misalnya menciptakan manusia yang memiliki bentuk, bahasa dan sifat yang berbeda-beda seperti yang tercantum dalam surat Ar-Rum ayat 22:

وَمِنْ آيَاتِهِ خَلْقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافُ أَلْسِنَتِكُمْ وَأَلْوَانِكُمْ إِنَّ فِي ذَلِكَ

لَآيَاتٍ لِّلْعَالَمِينَ ﴿١١﴾

Artinya: “dan di antara tanda-tanda kekuasaan-Nya ialah menciptakan langit dan bumi dan berlain-lainan bahasamu dan warna kulitmu. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang mengetahui”.

Ayat diatas menerangkan bahwa salah satu tanda-tanda kekuasaan Allah yaitu menciptakan sesuatu yang berbeda-beda. Perbedaan ini memiliki hikmah tersendiri baik secara langsung maupun tidak langsung. Adanya perbedaan kemampuan menanggapi cekaman kekeringan oleh beberapa varietas kedelai ini juga merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah. Jika semua varietas memiliki sifat yang sama dalam menanggapi kekeringan misalnya semua varietas peka, maka lahan kering sudah tidak dapat dimanfaatkan kembali sehingga hasil produksi kedelai semakin menurun. Jika semua varietas memiliki sifat yang toleran terhadap kekeringan maka tidak akan ada pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kultur jaringan. Hal ini menunjukkan bahwa Allah SWT telah mengatur segala hal yang ada di bumi ini secara seimbang seperti yang tercantum dalam surat Al-Mulk ayat 3:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۗ فَارْجِعِ

الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya : “yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu Lihat sesuatu yang tidak seimbang?”

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang respon pertumbuhan kalus kedelai (*Glycine max*) pada media PEG 6000 sebagai simulasi cekaman kekeringan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pembentukan kalus beberapa varietas kedelai (Wilis, Grobogan dan Tanggamus) pada media B5 dengan penambahan PEG 6000 dalam berbagai konsentrasi memberikan respon yang berbeda. Perbedaan respon ini ditunjukkan dengan pengamatan morfologi (warna dan tekstur) kalus pada varietas Wilis kalus berwarna kuning kecoklatan dengan tekstur remah, varietas Grobogan kalus berwarna coklat kehitaman dengan tekstur remah dan varietas Tanggamus kalus berwarna kuning. Penambahan PEG 6000 dalam media dapat menghambat pertumbuhan (penambahan berat) kalus kedelai (*Glycine max*). Semakin tinggi konsentrasi PEG yang ditambahkan dalam media, berat kalus yang ditimbang semakin rendah.
2. Berdasarkan berat kalus, morfologi kalus dan nilai indek sensitivitas diketahui bahwa varietas Tanggamus dan varietas Wilis moderat atau medium terhadap cekaman kekeringan dan varietas Grobogan merupakan varietas yang peka terhadap cekaman kekeringan.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai regenerasi kalus yang telah di induksi PEG 6000.
2. Sebaiknya ukuran potongan eksplan disamakan antar varietas sehingga lebih mudah dalam mengamati perbedaan respon pertumbuhan kalus.
3. Perlu dilakukan penelitian respon kalus terhadap PEG 6000 dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda.



DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1985. *Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Ahlowalia, B.S. 1986. Limitations to the use of somaclonal variation in crop improvement. *In* J. Semal (Ed.). *Somaclonal Variation and Crop Improvement*. Martinus nijhoff Publisher, USA. P. 14-27
- Aljazair, S.A.B.J. 2007. *Tafsir Alqur'an An Aisar*. Jakarta: Darussunah Press
- Al-Tirmidzi, Al- Hakim. 2006. *Rahasia Perumpaman Dalam Al-Qur'an dan Sunnah*. Jakarta. Serambi Ilmu Semesta.
- AlQurtubi, S. 2000. *Tafsir Alqurtubi*. Jakarta: Pustaka Azam
- Anggi, L.O. 2008. Pengaruh Osmotikum Pada Pembentukan Dan Perkembangan Embrio Somatik Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.). *Tugas akhir* Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Brawijaya.
- Astutik. S. 2007. Pengaruh Varietas Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Pertumbuhan Kalus Dan Kandungan Senyawa Isoflavon (Daidzein dan Genistein). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Biologi Lingkungan Fakultas dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang.
- Auliah, R.F.K. 2005. Respon Perkecambahan dan Anatomi Akar Beberapa Varietas Kedelai Berdaya Hasil Tinggi Terhadap Cekaman Kekeringan Menggunakan PEG. *Tugas akhir* Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Brawijaya.
- Bhojwani, S. S and M. K. Razdan, 1996. *Plant Tissue Culture : Theory and Practice, a Revised Edition*. Elsevier Science. Amsterdam. The Netherlands. 767p.
- Campbell.2006. *Biologi Jilid 1*. Jakarta : Erlangga
- Dian. R. W. 2005. Skrining In Vitro Untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan Dengan Menggunakan Polyetylena Glycol Pada Beberapa Varietas Kedelai (*Glycin max* (L.) Merr.) Berdaya Hasil Rendah. *Tugas akhir* Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Brawijaya.
- Dian. Y. T. 2004. Uji Konsentrasi Hormon 2,4-D Pada Pertumbuhan Kalus Dari Eksplan Kotiledon Dan Hipokotil Kedelai (*Glycine max*). *Skripsi* Tidak

Diterbitkan. Malang. Jurusan Biologi Lingkungan Fakultas dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang.

Diharjo, D. 2008. Aktivitas enzim katalase, peroksidase dan superoksidase pada kecambah kedelai dibawah kondisi stres kekeringan. *Tugas akhir* Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Brawijaya.

Dixon, R. A. 1985. *Plant cell Culture A Practical Approach*. Washington DC: Department of Biochemistry, Royal Holloway College. IRL Press Oxford.

Fitriani, A. 2003. *Kandungan ajmalisin pada kultur kalus Catharanthus roseus (L) G. Don setelah Dielistasi homogen jamur phythium aphanidermatum edson fitzp*. Diakses pada tanggal 1 November 2009. http://tumoutou.net/6_sem2_023/any_fitriani.htm.

George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. England: Exegenetic Limited.

Gunawan, L. W. 1995. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman: PAU IPB.

Hamim, Sopandie D dan Jusuf M. 1996. Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Kedelai Toleran dan Peka Terhadap Cekaman Kekeringan. Bogor. Jurusan Biologi FMIPA IPB. Vol. 3, No.1. 1996, hlm. 30-34

Hamka. 2004. *Tafsir Al Azhar*. Jakarta : PT Pustaka Panjimas

Haris, M.J. 1997. *Peg Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications*, online (www.interscience.wiley.com/app). Diakses pada tanggal 11 oktober 2009. Michel dan Kaufmann, 1973

Hendaryono, D. P. S dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan : Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Yogyakarta: Kanisius.

Hendaryono, dan A. Wijayani. 1998. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius Sumarno dan Hartono. 1983. *Kedelai dan Cara Budidayanya*. Jakarta: Yasaguna.

Husni A., Hutami S, kosmiatin M dan Mariska I. 2006. Regenerasi Massa Sel Embriogenik Kedelai Yang Diseleksi Dengan Polyetylena Glikol 6000 (PEG). Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian.

- Kadir, Abdul. 2006. Induksi dan Perbanyakkan Populasi Kalus, Regenerasi Tanaman Serta Uji Respon Kalus Terhadap Konsentrasi PEG dan Dosis Iradiasi Sinar Gamma. Makassar. Fakultas Pertanian Universitas Islam Makassar
- Kamal, Allamah Faqih Imami. 2004. *Tafsir Nurul Quran*. Jakarta: Penerbit Al-Huda
- Kulkarni, M. Dan Deshpande, U. 2007. In vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using PEG. *Plant*
- Lamina. 1993. *Kedelai dan Pengembangannya*. Jakarta: CV. Simplex.
- Lawyer, D.W. 1970. *Absorption of PEG by plant and its effect on plant growth*. *New Phytol.* 69:501-503
- Litz, R.E dan D.J. Gray. 1995. *Biotechnology of Perennial Fruit Crop*. C.A.B. Internasional. Cambridge
- Liu, K. 1997. *Soybeans, Chemistry, Technology and Utilization*. ITP. Tokyo. Hal 149-435
- Somatmadja. 1985. *Kedelai*. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Kedelai. P 122-123.
- Nunung, Zainab. 2000. *Kumpulan Makalah Pelatihan Analisa Standart Benih Di Laboratorium*. Malang: UPT-PBP
- Nursandi, F. dan D. Roeswitawati. 1999. *Induksi Kalus dan Embrio Somatic Anggrek Langka *Grammatophyllum speciosum* Bl.* *Tropika*. Vol. 8, no. 1, P 1-11
- Mahani. 2007. *Keajaiban Air Sembuhkan Penyakit*. Jakarta: Puspa swara.
- Mexal, J., J.T. Fisher., J. Osteryoung dan C.P. Partick Reid. 1975. Oxygen Availability in Polyethylene Glycol Solution and its Implications in Plant Water Relation. *Plant Physiol.* 55: 914-916
- Quraish, M.S. 2002. *Tafsir Al-Mishbah*. Jakarta: Lentera Hati
- Pitojo, Setijo. 2003. *Benih Kedelai*. Yogyakarta: Kanisius
- Rahmawati, P. D. 2007. Pengaruh konsentrasi 2,4-D terhadap pertumbuhan dan kandungan senyawa isoflavon daidzein dan genistein dari kalus kedelai (*Glycine max.* L. Merr). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang. Jurusan Biologi Lingkungan Fakultas dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang.

- Reisinger, D.M. Ball, E.A., and J. Arditti. 1976. *Clonal Propagation of Phalaenopsis by Means of Stalk Node Culture Orchid*. Rev 45-52
- Risyati, D. 2005. Tingkat Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) Berdaya Hasil Tinggi Berdasarkan Respon Pembentukan Embrio Somatik Pada Media Yang Mengandung Polietilena Glikol. *Tugas akhir* Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Brawijaya.
- Rubatzky, Viencent. E dan Yamaguchi, Mas. 1998. *Sayuran Dunia 2, Prinsip, Produksi, Dan Gizi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Santoso, U & F. Nursandi. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Pusbitan UMM.
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan I*. Penerjemah: Lukman, D.R. dan Sumaryono. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Savitri, E. S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*, Malang : UIN Press
- Shoemaker, R.C., L.A. Amberger., G.G. Palmer., L. Oglesby dan J.P. Ranch. 1991. Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid Concentration on Somatic Embryogenesis and Heritable Variation in Soybean (*Glycine max*) *In Vitro*. Cell. 27: 88-94
- Sirait, B. 2001. Evaluasi Karakter Morfofisiologis Dan Produksi Galur Kedelai (*Glycine max* (L) Merr) Toleran Aluminium Yang Diseleksi Secara *In Vitro*. *Tesis*. Program Pascasarjana IPB.
- Somatmadja. 1985. *Kedelai*. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Kedelai. P 122-123.
- Sumardi, Issrep. 1992. *Struktur dan Perkembangan Tumbuhan*. Yogyakarta: UGM
- Suprpto. 1993. *Bertanam Kedelai*. Jakarta: PT Penebar Swadaya.
- Suryowinoto, M. 1990. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta. Kanisius.
- Susila, S.D. dan Susanto. 2003. *Kedelai, Deskripsi, Budidaya dan Sertifikasi Benih*. Surabaya: Expert JICA-SSP
- Sutjahjo, S.H., Kadir, A. dan Mariska, I. 2007. Efektivitas Polietilena Glikol Sebagai Bahan Penyeleksi Kalus Nila Yang Diradiasi Sinar Gamma

Untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan. Bogor. Dapertemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB. Vol 9, No1, 2007, hal 48-57

Staba, E. J. 1988. *Plant Tissue Culture as Source of Biochemical*. Florida: CRC Press Inc. Boca Raton. Wetherell, D. F. (Penerjemah: Koensumardiyah). 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara in Vitro*. New Jersey: Avery Publishing Group Inc.

Stafford, A. And Graham, W. 1991. *Plant Cell And Tissue Culture*. Dapertement of Molecular Biology and Biotechnology University of Sheffield, UK.

Steenis. 1988. *Flora*. Jakarta: PT Pradnya Paramita.

Street, H. E. 1972. *Plant Tissue and Cell Culture*. England: Botanical Laboratories. University of Leicester.

Tanaka, M.A., Hasegawa, and M.Goi. 1975. *Studies On The Clonal Propagation of Monopodial Orchid by Tissue Culture*. J. Japan Soc, Hort. Sci. 445:47-58

Wareing, P.F., and D.J. Philips. 1987. *The Control of Growth and Differentiation in Plants Second Edition*. Pergamon Press, Oxford, 347 p.

Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. Bogor: PAU IPB.

Wetter, L.R., dan Constabel, F. 1991, *Metode Kultur Jaringan Tanaman Edisi kedua*. Bandung: Penerbit ITB.

Widiastoety, D. dan syafril. 1993. Pengaruh Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Protocorm Like Bodies Anggrek Dendrobium Dalam Media Padat. Cipanas. Bulletin panel tanaman hias.

Widiastoety, D, Syafril, dan Haryanto. 1991. Kultur In Vitro Anggrek Dendrobium Dalam Media Cair. Jurnal hortikultura 1(3): 6-10

Widoretno, W. Edi Guhardja, Satroyat, S. Ilyas dan Sudarsono. 2002. Efektivitas Polyethelena Glycol untuk Mengevaluasi Tanggapan Genotip Kedelai terhadap Cekaman Kekeringan pada Fase Perkecambahan. Hayati 9: 33-36.

Widoretno, W. dan Sudarsono. 2003. Evaluasi Sejumlah Galur Kedelai Varian Somaklonal Hasil Seleksi In Vitro Terhadap Stres Kekeringan. Bogor. Dapertemen Budi Daya Pertanian, Faperta, Institut Pertanian Bogor. Vol 11, No. 1

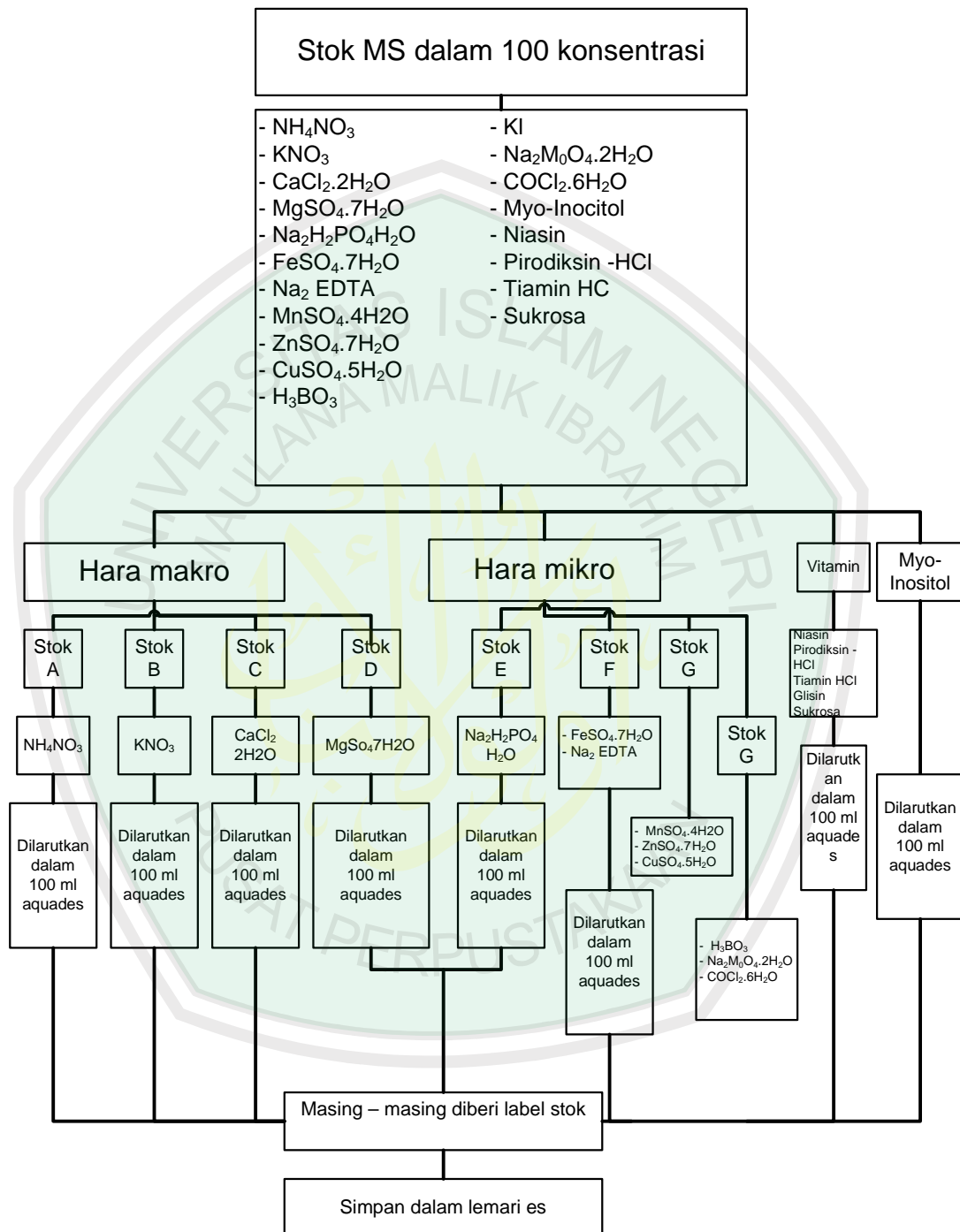
Winata, L. G. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor: Dirjen Perguruan Tinggi PAK Bioteknologi IPB

Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan : Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.

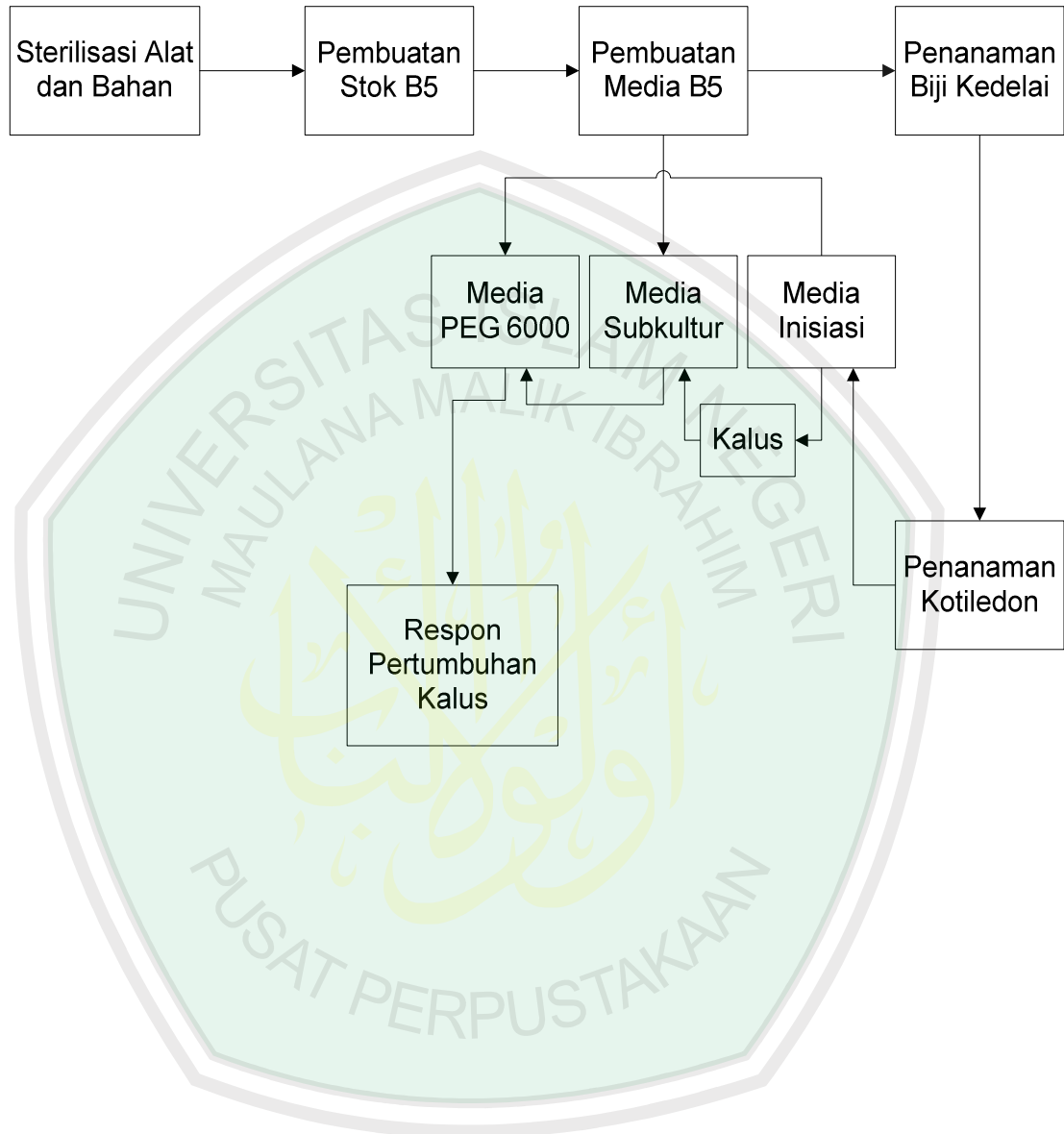
Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara



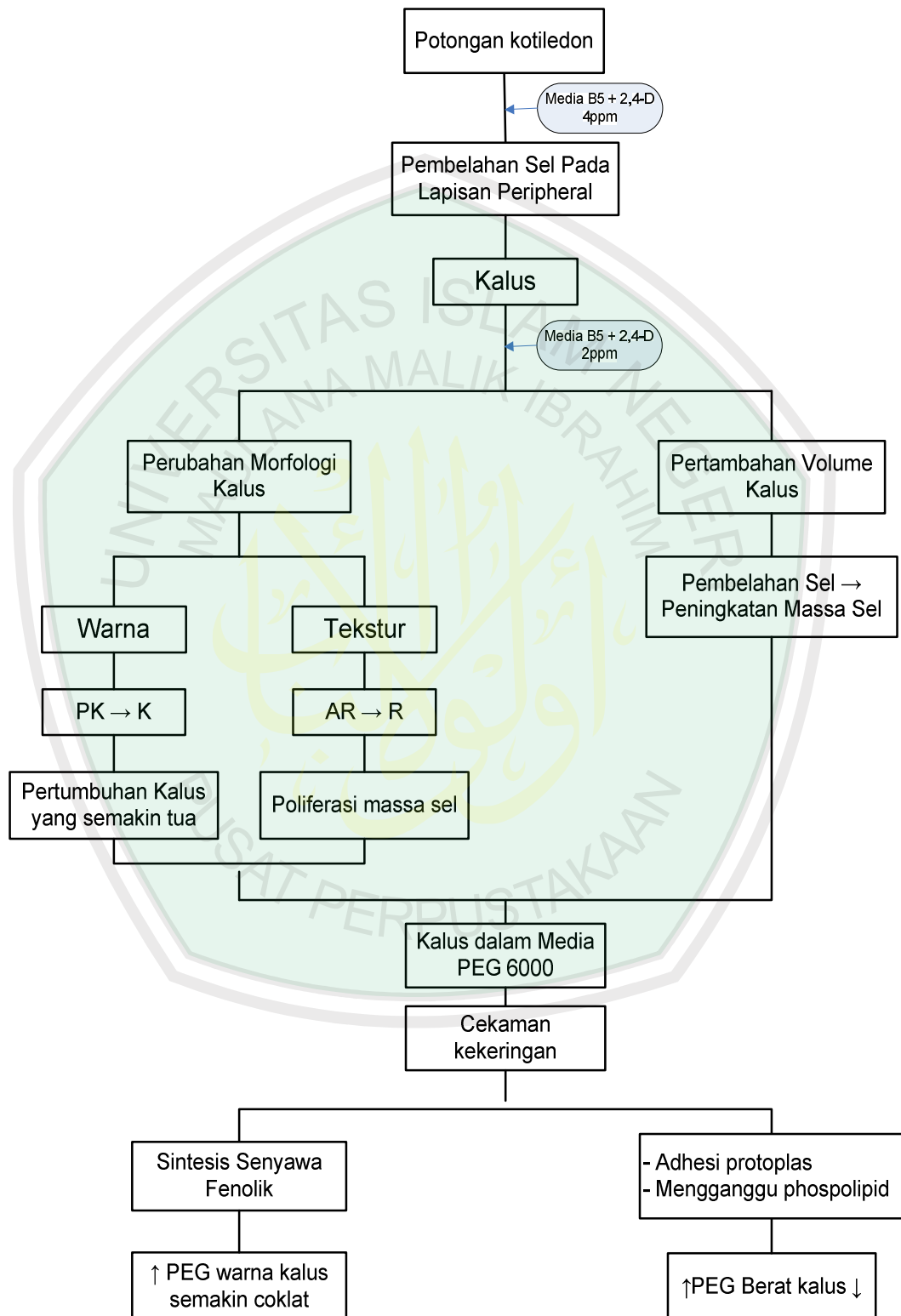
Lampiran 1. Komposisi Media B5



Lampiran 2. Skema kerja



Lampiran 3. Kerangka Konsep Penelitian



Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi PEG 6000

1. Konsentrasi PEG 20 gr/L

$$\begin{aligned}\frac{20}{1000} &= \frac{\quad}{252 \text{ l}} \\ &= \frac{5040}{1000} \\ &= 5.04\end{aligned}$$

2. Konsentrasi PEG 40 gr/L

$$\begin{aligned}\frac{40}{1000} &= \frac{\quad}{252 \text{ l}} \\ &= \frac{10000}{1000} \\ &= 10.08\end{aligned}$$

3. Konsentrasi PEG 60 gr/L

$$\begin{aligned}\frac{60}{1000} &= \frac{\quad}{252 \text{ l}} \\ &= \frac{15120}{1000} \\ &= 15.12\end{aligned}$$

Keterangan : 252 = Jumlah media yang digunakan (ml)

x = Konsentrasi PEG 6000 yang dicari

Lampiran 5. Perhitungan Persentase Eksplan Berkalus

1. Varietas Wilis

Diketahui : eksplan yang ditanam = 14 eksplan

Kalus yang terbentuk dari eksplan = 13 kalus

Ditanya : a. \sum kalus yang terbentuk per eksplan?

b. % eksplan membentuk kalus?

Jawab :

$$\begin{aligned} \text{a. } \sum \text{ kalus yang terbentuk per eksplan} &= \frac{\sum \text{ alus ange entu}}{\sum \text{ e s lan ang tanam}} \\ &= \frac{13}{14} = 0.928571 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \% \text{ eksplan membentuk kalus} &= \frac{\sum \text{ alus ange entu}}{\sum \text{ e s lan ang tanam}} \times 100\% \\ &= \frac{13}{14} \times 100\% \\ &= 93 \% \end{aligned}$$

2. Varietas Grobogan

Diketahui : eksplan yang ditanam = 27 eksplan

Kalus yang terbentuk dari eksplan = 26 kalus

Ditanya : a. \sum kalus yang terbentuk per eksplan?

b. % eksplan membentuk kalus?

Jawab :

$$\begin{aligned} \text{a. } \sum \text{ kalus yang terbentuk per eksplan} &= \frac{\sum \text{ alus ange entu}}{\sum \text{ e s lan ang tanam}} \\ &= \frac{26}{27} = 0.962963 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \% \text{ eksplan membentuk kalus} &= \frac{\sum \text{ alus ange entu}}{\sum \text{ e s lan ang tanam}} \times 100\% \\ &= \frac{26}{27} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= 96 \%$$

3. Varietas Tanggamus

Diketahui : eksplan yang ditanam = 12 eksplan

Kalus yang terbentuk dari eksplan = 8 kalus

Ditanya : a. Σ kalus yang terbentuk per eksplan?

b. % eksplan membentuk kalus?

Jawab :

$$\begin{aligned} \text{a. } \Sigma \text{ kalus yang terbentuk per eksplan} &= \frac{\Sigma \text{ alus ange entu}}{\Sigma \text{ e s lan ang tanam}} \\ &= \frac{8}{12} = 0.67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } \% \text{ eksplan membentuk kalus} &= \frac{\Sigma \text{ alus ange entu}}{\Sigma \text{ e s lan ang tanam}} \times 100\% \\ &= \frac{8}{12} \times 100\% \\ &= 67 \% \end{aligned}$$

Lampiran 6. Warna dan Tekstur Kalus

Warna Kalus pada media inisiasi dan subkultur

Varietas Wilis		Varietas Grobogan		Varietas Tanggamus	
Inisiasi	Subkultur	Inisiasi	Subkultur	Inisiasi	Subkultur
Pk	K	P	Pk	P	Pk
P	Pk	Pk	K	P	Pk
P	Pk	Pk	K	Pk	K
Pk	K	Pk	Pk	P	Pk
P	Pk	P	Pk	Pk	Pk
K	K	Pk	Pk	P	Pk
P	Pk	K	Kc	Pk	P
Pk	K	Pk	Pk	P	Pk
P	Pk	Pk	K	K	Kc
P	Pk	K	Kc	Pk	K
Pk	K	Pk	Pk	Pk	Pk
Pk	Kc	Pk	K	P	Pk

Warna kalus pada media PEG 6000

Varietas	Perlakuan	Sebelum perlakuan PEG 6000			Setelah perlakuan PEG 6000		
		Ulangan			Ulangan		
		1	2	3	1	2	3
Wilis	0 gr/L	K	Pk	Pk	Kc	Pk	Pk
	20 gr/L	K	Pk	K	Kc	Pk	K
	40 gr/L	Pk	K	Pk	Kc	Kc	Kc
	60 gr/L	Pk	K	Kc	Kc	Kc	Kc
Grobogan	0 gr/L	Pk	K	K	Kc	K	K
	20 gr/L	Pk	Pk	Pk	Ch	Ch	Ch
	40 gr/L	Kc	Pk	K	H	Ch	Ch
	60 gr/L	Kc	Pk	K	Ch	Ch	Ch
Tanggamus	0 gr/L	Pk	Pk	K	Pk	K	Kc
	20 gr/L	Pk	Pk	Pk	K	K	Pk
	40 gr/L	P	Pk	Kc	Kc	Kc	Kc
	60 gr/L	K	Pk	Pk	Kc	Kc	Kc

Keterangan Warna kalus : p/ph= putih (skor:5)
 pk= putih kekuningan (skor:4)
 kc= kuning kecoklatan (skor:3)
 ch= coklat kehitaman (skor:2)

h/m= hitam/mati (skor:1 dan 0)

Tekstur kalus pada media inisiasi dan subkultur

Varietas Wilis		Varietas Grobogan		Varietas Tanggamus	
Inisiasi	Subkultur	Inisiasi	Subkultur	Inisiasi	Subkultur
AR	AR	AR	AR	AR	R
AR	R	AR	AR	AR	R
AR	AR	AR	AR	AR	R
AR	R	AR	R	AR	R
AR	R	AR	R	AR	R
AR	R	AR	R	AR	R
AR	R	AR	AR	AR	AR
AR	AR	AR	R	AR	R
AR	AR	AR	R	AR	AR
AR	R	AR	R	AR	R
AR	R	AR	R	AR	R
AR	R	AR	R	AR	R

Tekstur kalus pada media PEG

Varietas	Perlakuan	Sebelum perlakuan PEG 6000			Setelah perlakuan PEG 6000		
		Ulangan			Ulangan		
		1	2	3	1	2	3
Wilis	0 gr/L	AR	R	AR	R	R	R
	20 gr/L	R	R	R	R	R	AR
	40 gr/L	R	AR	AR	R	R	AR
	60 gr/L	R	R	R	R	AR	R
Grobogan	0 gr/L	AR	AR	AR	R	AR	AR
	20 gr/L	R	R	R	R	R	R
	40 gr/L	AR	R	R	R	AR	R
	60 gr/L	R	R	R	R	AR	AR
Tanggamus	0 gr/L	R	R	R	R	R	R
	20 gr/L	R	R	R	R	R	R
	40 gr/L	AR	R	AR	R	R	R
	60 gr/L	R	R	R	R	R	R

Keterangan : AR = agak remah
R = remah

**Lampiran 7. Data Pertambahan Volume Kalus Kedelai (*Glycine max*)
Sebelum dan Sesudah Ditanam Pada Media Subkultur**

1. Varietas wilis

Volume awal X_1	Volume akhir X_2	Perkembangan volume ($X_2 - X_1$)
0.35	0.539	0.189
0.42	0.528	0.108
0.952	1.064	0.112
0.36	0.616	0.256
0.15	0.504	0.354
0.42	0.637	0.217
0.48	0.56	0.08
0.945	1.8	0.855
0.36	0.64	0.28
0.42	0.704	0.284
0.39	0.672	0.282
1.836	2.142	0.306

2. Varietas grobogan

Volume awal X_1	Volume akhir X_2	Perkembangan volume ($X_2 - X_1$)
1.2	1.536	0.336
0.28	0.35	0.07
0.693	0.792	0.099
3.312	4.6	1.288
0.828	1.152	0.324
2.156	2.737	0.581
0.756	0.84	0.084
0.9	1.26	0.36
1.02	1.71	0.69
2.142	2.926	0.784
1	1.694	0.694
0.462	0.77	0.308

3. Varietas tanggamus

Volume awal X_1	Volume akhir X_2	Perkembangan volume $(X_2 - X_1)$
0.91	1.05	0.14
0.45	0.714	0.264
0.546	0.728	0.182
0.36	0.42	0.06
0.4	0.5	0.1
0.504	0.686	0.182
0.4	0.616	0.216
0.33	0.39	0.06
0.42	0.546	0.126
0.44	0.495	0.055
0.36	0.52	0.16
0.33	0.385	0.055

4. Tabel pertambahan volume kalus pada media subkultur dalam cm^2

Varietas	Ulangan												Total	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Wilis	0.189	0.108	0.112	0.256	0.356	0.217	0.08	0.855	0.28	0.284	0.282	0.306	3.323	0.277
Grobogan	0.336	0.07	0.099	1.288	0.324	0.581	0.084	0.36	0.69	0.784	0.694	0.308	5.618	0.468
Tanggamus	0.14	0.264	0.182	0.06	0.1	0.182	0.216	0.06	0.216	0.005	0.16	0.05	1.6	0.133
Total													10.541	

Lampiran 8. Analisis Statistik dalam Analisis Variasi (ANOVA) Tunggal, Rancangan Acak Lengkap (RAL) terhadap pertambahan volume kalus kedelai (*Glycine max*) pada media subkultur

1. Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{10.541}{3 \cdot 12} = 3.08646$$

2. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$K_{er} = 0.189^2 + 0.108^2 + \dots + 0.055^2 - FK$$

$$= 5.667427 - 3.086463$$

$$= 2.580964$$

$$K_{erlakuan} = \frac{3.323^2 + 5.61^2 + 1.6^2}{12} - FK$$

$$= 3.763688 - 3.086463$$

$$= 0.677224$$

$$K_{erlakuan} = 2.580964 - 0.677224$$

$$= 1.903739$$

3. Tabel ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel
Perlakuan	2	0.677224	0.338612	5.87*	3.28
Galat	33	1.903739	0.057689		
Total	35	2.580964			

4. Mencari BNJ 5%

$$BNJ 5 = Q_{\alpha} : \text{galat} \times \frac{\text{---}}{\text{ulangan}}$$

$$\begin{aligned} BNJ_{0.05} &= Q_{0.05 \ 3:33} \times \frac{0.05 \ 6}{12} \\ &= 3.49 \times 0.06 \\ &= 0.24081 \end{aligned}$$

5. Ringkasan Uji BNJ 5% Dari Pertambahan Volume Pada Media Subkultur

Perlakuan	Rata-rata	Notasi BNJ 5%
Tanggamus	0.133	a
Wilis	0.277	ab
Grobogan	0.468	b

Oneway

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.677	2	.339	5.870	.007
Within Groups	1.904	33	.058		
Total	2.581	35			

Lampiran 9. Data Berat Kalus Kedelai (*Glycine max*) Sebelum dan Sesudah Perlakuan PEG 6000

1. Data berat Kalus Kedelai (*Glycine max*) Sebelum Perlakuan

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
PEG 6000	Varietas	1	2	3		
0 gr/L	Wilis	0.27	0.17	1.12	1.56	0.52
	Grobogan	0.61	0.32	0.37	1.3	0.43
	Tanggamus	0.41	0.29	0.25	0.95	0.317
20 gr/L	Wilis	0.14	0.26	0.16	0.56	0.187
	Grobogan	2.41	1.76	1.11	5.28	1.76
	Tanggamus	0.25	0.14	0.25	0.64	0.213
40 gr/L	Wilis	0.63	0.15	0.75	1.53	0.51
	Grobogan	0.83	0.70	1.83	3.36	1.12
	Tanggamus	0.23	0.22	0.19	0.64	0.213
60 gr/L	Wilis	0.49	0.69	1.13	2.31	0.77
	Grobogan	1.80	0.49	0.42	2.71	0.90
	Tanggamus	0.38	0.34	0.30	1.02	0.34
Total		8.45	5.53	7.88	21.86	7.287

2. Data Berat Kalus Kedelai (*Glycine max*) Setelah perlakuan

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
PEG 6000	Varietas	1	2	3		
0 gr/L	Wilis	0.36	0.23	1.24	1.83	0.61
	Grobogan	0.71	0.41	0.38	1.5	0.5
	Tanggamus	0.86	0.42	0.40	1.68	0.56
20 gr/L	Wilis	0.19	0.38	0.21	0.78	0.26
	Grobogan	2.14	1.57	0.95	4.67	1.56
	Tanggamus	0.29	0.17	0.33	0.79	0.26
40 gr/L	Wilis	0.53	0.13	0.65	1.31	0.437
	Grobogan	0.76	0.50	1.48	2.74	0.91
	Tanggamus	0.37	0.33	0.24	0.94	0.31
60 gr/L	Wilis	0.37	0.62	1.08	2.07	0.69
	Grobogan	1.72	0.37	0.24	2.33	0.78
	Tanggamus	0.33	0.29	0.22	0.84	0.28
Total		8.63	5.24	7.43	21.48	7.16

Lanjutan Lampiran 9. Data Berat Kalus Kedelai (*Glycine max*) Sebelum dan Sesudah Perlakuan PEG 6000

Perlakuan		Ulangan						Total		Rata-rata	
		1		2		3					
PEG 6000	Varietas	X	Y	X	y	x	y	$\sum x$	$\sum y$	x	y
0 gr/L	Wilis	0.27	0.36	0.17	0.23	1.12	1.24	1.56	1.83	0.52	0.61
	Grobogan	0.61	0.71	0.32	0.41	0.37	0.38	1.3	1.5	0.43	0.5
	Tanggamus	0.41	0.86	0.29	0.42	0.25	0.40	0.95	1.68	0.317	0.56
20 gr/L	Wilis	0.14	0.19	0.26	0.38	0.16	0.21	0.56	0.78	0.187	0.26
	Grobogan	2.41	2.14	1.76	1.57	1.11	0.95	5.28	4.67	1.76	1.56
	Tanggamus	0.25	0.29	0.14	0.17	0.25	0.33	0.64	0.79	0.213	0.26
40 gr/L	Wilis	0.63	0.53	0.15	0.13	0.75	0.65	1.53	1.31	0.51	0.437
	Grobogan	0.83	0.76	0.70	0.50	1.83	1.48	3.36	2.74	1.12	0.91
	Tanggamus	0.23	0.37	0.22	0.33	0.19	0.24	0.64	0.94	0.213	0.31
60 gr/L	Wilis	0.49	0.37	0.69	0.62	1.13	1.08	2.31	2.07	0.77	0.69
	Grobogan	1.80	1.72	0.49	0.37	0.42	0.24	2.71	2.33	0.90	0.78
	Tanggamus	0.38	0.33	0.34	0.29	0.30	0.22	1.02	0.84	0.34	0.28
Total		8.45	8.63	5.53	5.24	7.88	7.43	21.86	21.48	7.287	7.16

Keterangan :

X = Berat Kalus Total Sebelum Perlakuan

Y = Berat Kalus Total Setelah Perlakuan

Lampiran 10. Analisis Statistik dalam Analisis Kovarian (ANKOVA), Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial Terhadap Berat Kalus Kedelai (*Glycine max*) Sebelum dan Sesudah Perlakuan PEG 6000

A. Pengamatan xx (Sebelum Perlakuan)

1. Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$FK \quad K = \frac{\Sigma}{t.r}$$

$$= \frac{21.6}{12.3}$$

$$= 13.27388$$

2. Menghitung jumlah kuadrat (JK)

$$K_{tal} = \Sigma^2 \quad FK \quad K$$

$$= 0.2^2 \quad 0.1^2 \quad \dots \quad 0. \quad \emptyset \quad 1 \quad .2 \quad 88$$

$$= 13.27388$$

$$K_{erlakuan} = \frac{\Sigma \dots \Sigma}{r} - FKDK$$

$$= \frac{1.56 \quad .. \quad 1.02}{3} \quad 1 \quad .2 \quad 88$$

$$= 7.188922$$

$$K_{langan} = \frac{\Sigma \dots \Sigma}{t} - FKDK$$

$$= \frac{8.45^2 \quad .. \quad .88^2}{12} \quad 13.27388$$

$$= 0.399272$$

$$K_{alat} = K_{tal} \quad K_{erlakuan} \quad K_{langan}$$

$$= 1 \quad .2 \quad 88 \quad .188922 \quad 0. \quad 992 \quad 2$$

$$= 3.462128$$

3. Tabel uji ANKOVA 2 Faktor untuk perlakuan xx

	V1	V2	V3	Total	Rata-rata
P1	1.56	1.3	0.95	3.81	0.423
P2	0.56	5.28	0.64	6.48	0.72
P3	1.53	3.36	0.64	5.53	0.614
P4	2.31	2.71	1.02	6.04	0.671
Total	5.96	12.65	3.25	21.86	
Rata-rata	0.662	1.4056	0.361		

Ket: P = konsentrasi PEG yang berbeda
V = berbagai macam varietas kedelai

$$K = \frac{\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^3 \dots}{4 \cdot 3} - FKDK$$

$$= \frac{3.1 \dots 6.04}{12} - 13.27388$$

$$= \frac{123.56}{12} - 13.27388$$

$$= -2.97646$$

$$K = \frac{\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \dots}{3 \cdot 3} - FKDK$$

$$= \frac{5.6 \dots 3.25}{9} - 13.27388$$

$$= \frac{206.1066}{9} - 13.27388$$

$$= 9.626853$$

$$K = K_{perlakuan} \quad K \quad K$$

$$= .188922 \quad 2.9 \quad 4 \quad 9. \quad 2 \quad 85$$

$$= 0.538529$$

4. Menghitung JK Perlakuan + JK Galat

$$K = K \quad K_{alat}$$

$$= 2.9 \quad 4 \quad .4 \quad 2128$$

$$= 0.485667$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{alat} \\
 &= 9.285 \cdot 4 \cdot 2128 \\
 &= 13.08898
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{alat} \\
 &= 0.58529 \cdot 4 \cdot 2128 \\
 &= 4.000656
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{alat} \\
 &= 0.58529 \cdot 4 \cdot 2128 \\
 &= 3.8614
 \end{aligned}$$

B. Pengamatan xy (Sebelum dan Sesudah Perlakuan)

1. Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}
 FKDK &= \frac{\sum \Sigma}{t \cdot r} \\
 &= \frac{21.6 \cdot 21.4}{12 \cdot 3} \\
 &= 13.04313
 \end{aligned}$$

2. Menghitung jumlah kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}
 K_{tal} &= \sum_1 \sum_1 \dots \sum_{12} \sum_{12} \quad FK \quad K \\
 &= 0.2 \quad 0.5 \quad \dots \quad 0.22 \quad 1 \quad .04 \quad 1 \\
 &= 9.316267
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K_{erlakuan} &= \frac{\sum \Sigma \dots \Sigma \Sigma}{r} - FKDK \\
 &= \frac{1.56 \quad 1.3 \quad \dots \quad 1.02 \quad 0.4}{3} \quad 1 \quad .04 \quad 1 \\
 &= 5.5455
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K_{langan} &= \frac{\sum \Sigma \dots \Sigma \Sigma}{t} - FKDK \\
 &= \frac{8.45 \quad 8. \quad \dots \quad .88 \quad .4}{12} \quad 13.04313
 \end{aligned}$$

$$= 0.419575$$

$$\begin{aligned}
 K_{alat} &= K_{tal} \quad K_{erlakuan} \quad K_{angan} \\
 &= 9. \quad 1 \quad 2 \quad 5.5455 \quad 0.4195 \quad 5 \\
 &= 3.360192
 \end{aligned}$$

3. Tabel uji ANKOVA 2 Faktor untuk perlakuan xx

	V1		V2		V3		Total	
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
P1	1.56	1.83	1.3	1.5	0.95	1.68	3.81	5.01
P2	0.56	0.78	5.28	4.67	0.64	0.79	6.48	6.24
P3	1.53	1.31	3.36	2.74	0.64	0.94	5.53	4.99
P4	2.31	2.07	2.71	2.33	1.02	0.84	6.04	5.24
Total	5.96	5.49	12.65	11.24	3.25	4.25	21.86	21.48

Ket: P = konsentrasi PEG yang berbeda
V = berbagai macam varietas kedelai

$$\begin{aligned}
 K &= \frac{\sum \sum \dots \sum \sum}{4 \quad 3} - FKDK \\
 &= \frac{3. \quad 1 \quad 5.01 \quad \dots \quad 6.04 \quad 5.24}{12} - 13.04313 \\
 &= \frac{11 \cdot 6 \quad 6}{12} - 13.04313 \\
 &= -3.14583 \\
 K &= \frac{\sum \sum \dots \sum \sum}{3 \quad 3} - FKDK \\
 &= \frac{5. \quad 6 \quad 5. \quad \dots \quad 3.25 \quad 4.25}{3} - 13.04313 \\
 &= \frac{1 \quad 16}{3} - 13.04313 \\
 &= 8.256744
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{erlakuan} \quad K \quad K \\
 &= 5.5455 \quad .1458 \quad 8.25 \quad 44 \\
 &= 0.434589
 \end{aligned}$$

4. Menghitung JK Perlakuan + JK Galat

$$\begin{aligned} K &= K_{alat} \\ &= .1458 \cdot 0192 \\ &= 0.214358 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} K &= K_{alat} \\ &= 8.2544 \cdot 0192 \\ &= 11.61694 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} K &= K_{alat} \\ &= 0.44589 \cdot 0192 \\ &= 3.794781 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} K &= K_{alat} \\ &= 0.58529 \cdot 0192 \\ &= 3.770767 \end{aligned}$$

C. Pengamatan yy (Sesudah Perlakuan)

1. Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} FK &= \frac{\Sigma}{t.r} \\ &= \frac{21.4}{12.3} \\ &= 12.8164 \end{aligned}$$

2. Menghitung jumlah kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} K_{tal} &= \sum^2 FK \cdot K \\ &= 0.1458^2 \cdot 1.5^2 \dots 0.84^2 \cdot 12.81 \cdot 4 \\ &= 8.3326 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} K_{perlakuan} &= \frac{\Sigma \dots \Sigma}{r} - FKDK \\ &= \frac{1.3 \dots 0.4}{3} \cdot 12.81 \cdot 4 \\ &= 4.5134 \end{aligned}$$

$$K_{\text{langan}} = \frac{\sum \dots \sum}{t} - FKDK$$

$$= \frac{8. \quad 2 \quad \dots \quad .4 \quad 2}{12} - 12.8164$$

$$= 0.4385$$

$$K_{\text{alat}} = K_{\text{tal}} + K_{\text{erlakuan}} + K_{\text{langan}}$$

$$= 8. \quad 2 \quad 4.5134 \quad 0.4 \quad 85$$

$$= 3.38075$$

3. Tabel uji ANKOVA 2 Faktor untuk perlakuan xx

	V1	V2	V3	Total	Rata-rata
P1	1.83	1.5	1.68	5.01	0.5567
P2	0.78	4.67	0.79	6.24	0.693
P3	1.31	2.74	0.94	4.99	0.554
P4	2.07	2.33	0.84	5.24	0.582
Total	5.49	11.24	4.25	21.48	
Rata-rata	0.6656	1.2489	0.472		

Ket: P = konsentrasi PEG yang berbeda
V = berbagai macam varietas kedelai

$$K = \frac{\sum \dots \sum}{4 \quad 3} - FKDK$$

$$= \frac{5.01 \quad \dots \quad 5.24}{12} - 12.8164$$

$$= \frac{116.3 \quad 54}{12} - 12.8164$$

$$= -3.11678$$

$$K = \frac{\sum \dots \sum}{3 \quad 3} - FKDK$$

$$= \frac{5. \quad \dots \quad 4.25}{9} - 12.8164$$

$$= \frac{1 \quad 02 \quad 02}{9} - 12.8164$$

$$= 7.21477$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{\text{perlakuan}} + K_{\text{alat}} \\
 &= 4.514 + .118 + .214 \\
 &= 0.41545
 \end{aligned}$$

4. Menghitung JK Perlakuan + JK Galat

$$\begin{aligned}
 K &= K_{\text{alat}} \\
 &= .118 \cdot 805 \\
 &= 0.263967
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{\text{alat}} \\
 &= .214 \cdot 805 \\
 &= 10.59548
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{\text{alat}} \\
 &= 0.41545 \cdot 805 \\
 &= 3.7962
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 K &= K_{\text{alat}} \\
 &= 0.485 \cdot 805 \\
 &= 3.8192
 \end{aligned}$$

D. Menghitung Db awal

$$\begin{aligned}
 1. \quad \text{ulangan} &= r - 1 \\
 &= 3 - 1 \\
 &= 2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \quad \text{perlakuan} &= t - 1 \\
 &= 12 - 1 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \quad &= P - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \quad &= V - 1 \\
 &= 3 - 1 \\
 &= 2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \quad &= \quad . \\
 &= 3.2 \\
 &= 6
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \quad \text{galat} &= \text{ulangan} \cdot \text{erlakuan} \\
 &= 2.11 \\
 &= 22
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \quad \text{galat} &= \text{galat} \\
 &= 3 + 22 \\
 &= 25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \quad \text{galat} &= \text{galat} \\
 &= 2 + 22 \\
 &= 24
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \quad &= \text{galat} \\
 &= 6 + 22 \\
 &= 28
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \quad &= \text{galat} \\
 &= 2 + 22 \\
 &= 24
 \end{aligned}$$

E. Menghitung JK Regresi (JKR)

$$\begin{aligned}
 1. \quad K_{\text{alat}} &= \frac{\text{alat}}{\text{alat}} \\
 &= \frac{3.3601}{3.46212} \\
 &= 3.261257
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \quad K &= \frac{0.21435}{0.4566} \\
 &= 0.094611
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \quad K &= \text{—————} \\
 &= \text{—————} \\
 &= \frac{11.616 \quad 4}{13.0} \\
 &= 10.31044
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \quad K &= \text{—————} \\
 &= \text{—————} \\
 &= \frac{3. \quad 4 \quad 1}{4.000656} \\
 &= 3.59995
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \quad K &= \text{—————} \\
 &= \text{—————} \\
 &= \frac{3. \quad 0 \quad 6}{3. \quad 614} \\
 &= 3.682261
 \end{aligned}$$

F. Menghitung JK Galat Regresi Terkoreksi (JKGRT)

$$\begin{aligned}
 1. \quad K \quad T \quad alat &= yy \quad \text{—————} \\
 &= K \quad yy \quad K \quad alat \\
 &= 3.38075 - 3.261257 \\
 &= 0.119493
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \quad K \quad T &= yy \quad yy \quad \text{—————} \\
 &= K \quad yy \quad K \quad yy
 \end{aligned}$$

$$= 0.263967 - 0.094611$$

$$= 0.169355$$

$$3. \quad K \quad T \quad = \quad yy \quad yy \quad \text{-----}$$

$$= \quad K \quad yy \quad K \quad yy$$

$$= 10.59548 - 10.31044$$

$$= 0.285041$$

$$4. \quad K \quad T \quad = \quad yy \quad yy \quad \text{-----}$$

$$= \quad K \quad yy \quad K \quad yy$$

$$= 3.7962 - 3.59995$$

$$= 0.1967$$

$$5. \quad K \quad T \quad = \quad yy \quad yy \quad \text{-----}$$

$$= \quad K \quad yy \quad K \quad yy$$

$$= 3.8192 - 3.682261$$

$$= 0.136939$$

G. Menguji Perlakuan Terkoreksi (MPT)

$$1. \quad T \quad = \quad yy \quad yy \quad \text{-----} \quad yy \quad \text{-----}$$

$$= \quad K \quad T \quad K \quad T_{alat}$$

$$= 0.169355 - 0.119493$$

$$= 0.049862$$

$$2. \quad T \quad = \quad yy \quad yy \quad \text{-----} \quad yy \quad \text{-----}$$

$$= \quad K \quad T \quad K \quad T_{alat}$$

$$= 0.285041 - 0.119493$$

$$= 0.165548$$

$$\begin{aligned}
3. \quad T &= yy \quad yy \quad \text{—————} \quad yy \quad \text{—————} \\
&= K \quad T \quad K \quad T_{alat} \\
&= 0.1967 - 0.119493 \\
&= 0.077207
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
4. \quad T &= yy \quad yy \quad \text{—————} \quad yy \quad \text{—————} \\
&= K \quad T \quad K \quad T_{alat} \\
&= 0.136939 - 0.119493 \\
&= 0.017446
\end{aligned}$$

H. Menghitung Db Terkoreksi

$$\begin{aligned}
1. \quad galat &= alat \quad 1 \\
&= 22 - 1 \\
&= 21
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
2. &= \quad 1 \\
&= 25 - 1 \\
&= 24
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
3. &= \quad 1 \\
&= 24 - 1 \\
&= 23
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
4. &= \quad 1 \\
&= 28 - 1 \\
&= 27
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
5. &= \quad 1 \\
&= 24 - 1 \\
&= 23
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
6. \quad T &= \quad alat \\
&= 24 - 21 \\
&= 3
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
7. \quad T &= \quad alat \\
&= 23 - 21 \\
&= 2
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
8. \quad T &= \quad alat \\
&= 27 - 21 \\
&= 6
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \quad T &= \text{alat} \\
 &= 23 - 21 \\
 &= 2
 \end{aligned}$$

I. Menghitung KT Galat Murni (KTGM)

$$\begin{aligned}
 1. \quad KT \quad \text{alat} &= \frac{r \quad 1 \quad t \quad 1 \quad 1}{\text{egres} \quad \text{erk} \quad \text{reks}} \\
 &= \frac{0.11 \quad 4 \quad 3}{21} \\
 &= 0.00569
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \quad KT \quad T &= \frac{K \quad T}{0.16 \quad 355} \\
 &= \frac{3}{0.0564517}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \quad KT \quad T &= \frac{K \quad T}{0.2 \quad 5041} \\
 &= \frac{2}{0.1425205}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \quad KT \quad T &= \frac{K \quad T}{0.1 \quad 6} \\
 &= \frac{6}{0.0327833}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \quad KT \quad T &= \frac{K \quad T}{0.136 \quad 3} \\
 &= \frac{2}{0.0684695}
 \end{aligned}$$

J. Tabel ANKOVA

Sk	db	JK			JK Regresi	db	JK Galat	Db	KT Galat
		Xx	xy	Yy					
Ulangan	2	0.399272	0.410575	0.4385					
Perlakuan	11	7.188922	5.5455	4.5134					
P	3	-2.97646	-3.14583	-3.11678					
V	2	9.626853	8.256744	7.21477					
PV	6	0.538529	0.434589	0.41545					
Galat	22	3.462128	3.360192	3.38075	3.261257	1	0.119493	21	0.00569
P + Galat	25	0.485667	0.214358	0.263967	0.094611	1	0.169355	24	
Untuk menguji P terkoreksi								3	0.0564517
V + Galat	24	13.08898	11.61694	10.59548	10.31044	1	0.285041	23	
Untuk menguji V terkoreksi								2	0.1425205
PV+Galat	28	4.000656	3.794781	3.7962	3.59995	1	0.1967	27	
Untuk menguji PV terkoreksi								6	0.0327833
Ulangan+galat	24	3.8614	3.770767	3.8192	3.682261	1	0.136939	23	
Untuk menguji ulangan terkoreksi								2	0.0684695

K. Mencari F hitung Terkoreksi

$$1. F_{hitung} T = \frac{T}{KT} T$$

$$= \frac{0.04}{0.0056} 62$$

$$= 8.7630931$$

$$F_{tabel} (3:21) = 3.07$$

$$2. F_{hitung} T = \frac{T}{KT} T$$

$$= \frac{0.16554}{0.0056}$$

$$= 29.35$$

$$F_{tabel} (2:21) = 3.47$$

$$3. F_{hitung} T = \frac{T}{KT} T$$

$$= \frac{0.0}{0.0056} 20$$

$$= 23.38471$$

$$F_{tabel} (6:21) = 2.38$$

$$\begin{aligned}
 4. F_{\text{hitung}} &= \frac{T}{KT} \\
 &= \frac{0.01446}{0.0056} \\
 &= 3.067 \\
 F_{\text{tabel}}(2:21) &= 3.47
 \end{aligned}$$

L. Mencari BNJ 5%

$$\begin{aligned}
 1. &= 0.05 \\
 &= \frac{1}{r} \frac{\text{erlakuan}}{\text{erlakuan} + 1} \\
 &= \frac{0.0056}{3} \frac{1}{1 + \frac{.1}{12} \frac{22}{3.46212}} \\
 &= 0.00189 \frac{1}{1 + \frac{.1}{3.0} \frac{22}{340}} \\
 &= 0.00189 \frac{1}{1.188} = 0.188 \cdot 8 \\
 &= 0.00189 \cdot 1.188 = 8 \\
 &= \sqrt{0.002254} \\
 &= 0.047 \\
 5 &= 0.05 \\
 &= 5.23 \cdot 0.047 \\
 &= 0.24581
 \end{aligned}$$

M. Menghitung Perlakuan Rata-rata Terkoreksi

$$\begin{aligned}
 1. &= \frac{3.3601}{3.46212} \\
 &= 0.9705568
 \end{aligned}$$

2. Menghitung rata-rata

$$= \frac{\Sigma}{r.t}$$

$$= \frac{21.6}{36}$$

$$= 0.6072$$

N. Tabel Perlakuan Rata-rata Terkoreksi Sebelum dan Sesudah Perlakuan (X dan Y)

Perlakuan	Rerata Berat Kalus Total Sebelum Perlakuan (\bar{x}_1)	Penyimpangan (s_1)	Koreksi (k_1)	Rerata Berat Kalus Total Sesudah Perlakuan (\bar{y}_1)	Rerata Berat Kalus Total ($\bar{y}_1 - k_1$)
1	0.52	-0.0872	-0.08463	0.61	0.69463
2	0.43	-0.1772	-0.17198	0.5	0.671983
3	0.32	-0.2872	-0.27874	0.56	0.838744
4	0.187	-0.4202	-0.40783	0.26	0.667828
5	1.76	1.1528	1.118858	1.56	0.441142
6	0.213	-0.3942	-0.38259	0.26	0.645593
7	0.51	-0.0972	-0.09434	0.437	0.534338
8	1.12	0.5128	0.497702	0.91	0.412298
9	0.213	-0.3942	-0.38259	0.31	0.692593
10	0.77	0.1678	0.158007	0.69	0.531993
11	0.90	0.2928	0.284179	0.78	0.495821
12	0.34	-0.2672	-0.25933	0.28	0.539333

O. Analisis Ragam ANKOVA

SK	Db	JK	KT	F hitung	F tabel
Ulangan	2	0.017446	0.008723	3.067	3.47
Perlakuan	11	-	-	-	-
P	3	0.049862	0.0166207	8.67*	3.07
V	2	0.165548	0.082774	29.35*	3.47
PV	6	0.077207	0.01286783	13.57*	2.57
Galat	1	0.119493	0.00569		

P. Ringkasan Uji BNJ 5% dari Berat Kalus Kedelai yang Di Beri PEG 6000

Perlakuan	Rerata	Notasi BNJ 5%
8	0.412298	a
5	0.441142	ab
11	0.495821	ab
10	0.531993	ab
7	0.534338	ab
12	0.539333	abc
6	0.645593	abc
4	0.667828	bc
2	0.671983	bc
9	0.692593	bc
1	0.69463	bc
3	0.838744	c

Q. Mencari BNT 5% untuk Faktor P

$$\begin{aligned}
 \bar{E} &= 0.05 \\
 &= \frac{2.}{r.t} \cdot 1 \cdot \frac{\text{erlakuan}}{\text{erlakuan 1}} \cdot \frac{\text{alat}}{\text{alat}} \\
 &= \frac{2 \cdot 0.0056}{3.4} \cdot 1 \cdot \frac{.1 \cdot 22}{4 \cdot 1 \cdot 3.46212} \\
 &= \frac{0.0113}{12} \cdot 1 \cdot \frac{.1 \cdot 22}{10.3 \cdot 63 \cdot 4} \\
 &= 0.000948 \cdot 1 \cdot 0. 92148 \\
 &= 0.000948 \cdot 1. 92148 \\
 &= \sqrt{0.001 \cdot 04} \\
 &= 0.04 \\
 \bar{E} &= 0.05 \\
 &= 2.080 \times 0,04 \\
 &= 0.0832
 \end{aligned}$$

R. Tabel 2 Faktor Perlakuan Rata-rata Terkoreksi (P)

Faktor P	(\bar{y}_1)	(\bar{y}_1)	Koreksi . ₁	(\bar{y}_1)	(\bar{y}_1 - Koreksi)
P1	0.423	-0.1842	-0.17878	0.5567	0.735477
P2	0.72	0.1128	0.109479	0.693	0.583521
P3	0.614	0.0068	0.0066	0.554	0.5474
P4	0.671	0.0638	0.061922	0.582	0.520078

S. Ringkasan Faktor P Rata-rata Terkoreksi

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
P4	0.520078	a
P3	0.5474	a
P2	0.583521	a
P1	0.735477	b

T. Mencari BNT 5% untuk Faktor V

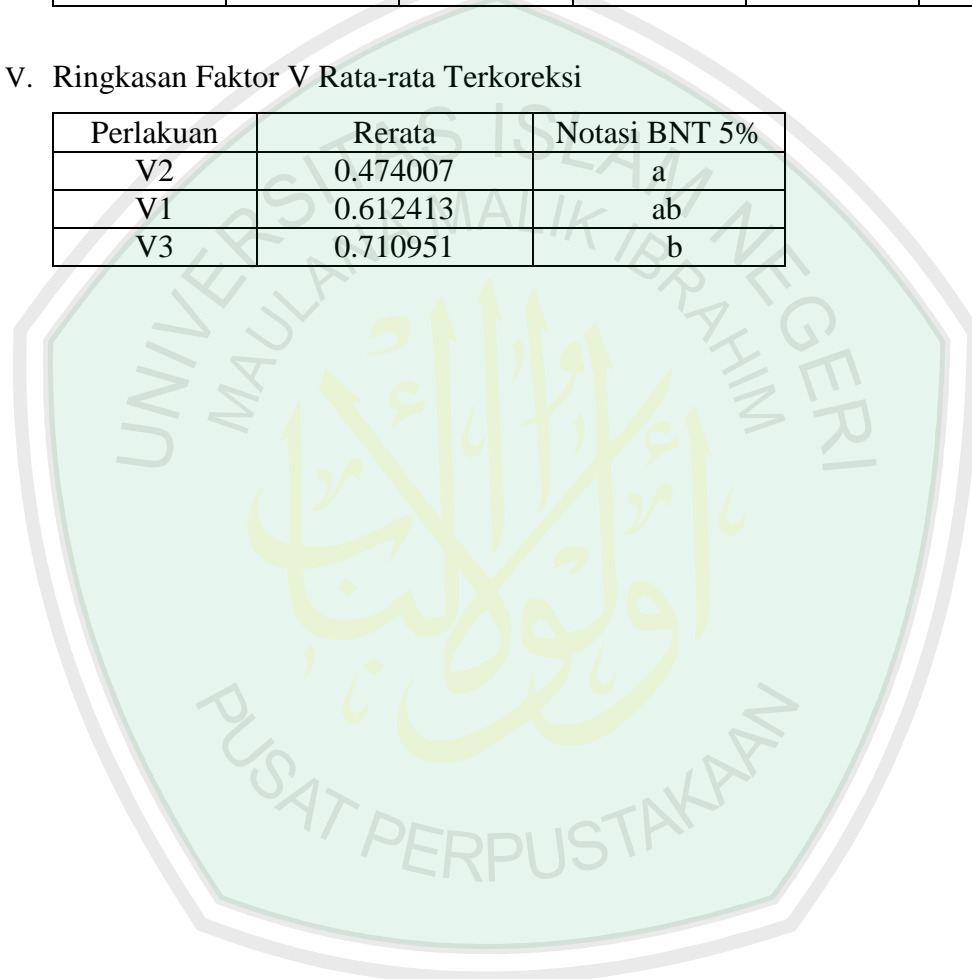
$$\begin{aligned}
 \bar{F} &= 0.05 \\
 &= \frac{2.}{r.t} \cdot 1 \cdot \frac{\text{perlakuan}}{\text{perlakuan} \cdot 1} \cdot \frac{\text{alat}}{\text{alat}} \\
 &= \frac{2 \cdot 0.0056}{3.3} \cdot 1 \cdot \frac{.1}{3 \cdot 1} \cdot \frac{22}{3.46212} \\
 &= \frac{0.0113}{6.} \cdot 1 \cdot \frac{.1}{24256} \cdot 22 \\
 &= \frac{0.0012}{441} \cdot 1.0 \cdot \frac{822}{822} \\
 &= \frac{0.0012}{442.0} \cdot 822 \\
 &= \sqrt{0.0025} \cdot 1 \\
 &= 0.051 \\
 \bar{F} &= 0.05 \\
 &= 2.080 \times 0,051 \\
 &= 0.10608
 \end{aligned}$$

U. Tabel 2 Faktor Perlakuan Rata-rata Terkoreksi (V)

Faktor P	(μ_1)	(μ_2)	Koreksi (μ_1)	(μ_1)	(μ_1 - Koreksi)
V1	0.662	0.0548	0.053187	0.6656	0.612413
V2	1.4056	0.7981	0.774893	1.2489	0.474007
V3	0.361	-0.2462	-0.23895	0.472	0.710951

V. Ringkasan Faktor V Rata-rata Terkoreksi

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
V2	0.474007	a
V1	0.612413	ab
V3	0.710951	b



Lampiran 11. Perhitungan Indeks Sensivitas Kekeringan

Data penambahan berat kalus (selisih sesudah dan sebelum perlakuan) dalam media PEG 6000

Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-rata
PEG 6000	Varietas	1	2	3		
0 gr/L	Wilis	0.09	0.06	0.12	0.27	0.09
	Grobogan	0.1	0.09	0.01	0.2	0.067
	Tanggamus	0.45	0.13	0.15	0.73	0.243
20 gr/L	Wilis	0.05	0.12	0.05	0.22	0.073
	Grobogan	-0.27	-0.19	-0.15	-0.61	-0.203
	Tanggamus	0.04	0.03	0.08	0.15	0.05
40 gr/L	Wilis	-0.1	-0.02	-0.1	-0.22	-0.073
	Grobogan	-0.07	-0.2	-0.35	-0.62	-0.207
	Tanggamus	0.14	0.11	0.05	0.3	0.1
60 gr/L	Wilis	-0.12	-0.07	-0.05	-0.24	-0.08
	Grobogan	-0.08	-0.12	-0.18	-0.38	-0.127
	Tanggamus	-0.05	-0.05	-0.08	-0.18	-0.06

1. Varietas Wilis

$$S = \frac{1}{1} \frac{/}{/}$$

$$= \frac{1 \quad 0.02 \quad /0.0}{1 \quad 0.05 \quad /0.13}$$

$$= \frac{1 \quad 0.3}{1 \quad 0.446}$$

$$= \frac{1.3}{1.446}$$

$$= 0.89 \quad 0.5 < 0.89 < 1 \rightarrow \text{Medium Terhadap Kekeringan}$$

2. Varietas Grobogan

$$S = \frac{1}{1} \frac{/}{/}$$

$$= \frac{1 \quad 0.1 \quad /0.06}{1 \quad 0.05 \quad /0.13}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{1 \quad 2.6}{1 \quad 0.446} \\
&= \frac{3.6}{1.446} \\
&= 2.54 \quad 2.54 > 1 \rightarrow \text{Peka Terhadap Kekeringan}
\end{aligned}$$

3. Varietas Tanggamus

$$\begin{aligned}
S &= \frac{1 \quad /}{1 \quad /} \\
&= \frac{1 \quad 0.03 \quad /0.243}{1 \quad 0.05 \quad /0.13} \\
&= \frac{1 \quad 0.123}{1 \quad 0.446} \\
&= \frac{0.}{1.446} \\
&= 0.6 \quad 0.5 < 0.6 < 1 \rightarrow \text{Medium Terhadap Kekeringan}
\end{aligned}$$

Lampiran 11. Gambar Hasil dan Kegiatan Penelitian



(a)



(b)



(c)

Inisiasi Kalus Kedelai (*Glycine max*) : (a) varietas Wilis, (b) varietas Grobogan, (c) varietas Tanggamus



(a)



(b)



(c)

Subkultur Kalus Kedelai (*Glycine max*) : (a) varietas Wilis, (b) varietas Grobogan, (c) varietas Tanggamus



(a)



(b)



(c)

Kalus Kedelai (*Glycine max*) Pada Media PEG 6000: (a) varietas Wilis, (b) varietas Grobogan, (c) varietas Tanggamus



Menimbang Stok B5



Pembuatan Media B5



Penanaman Biji Kedelai

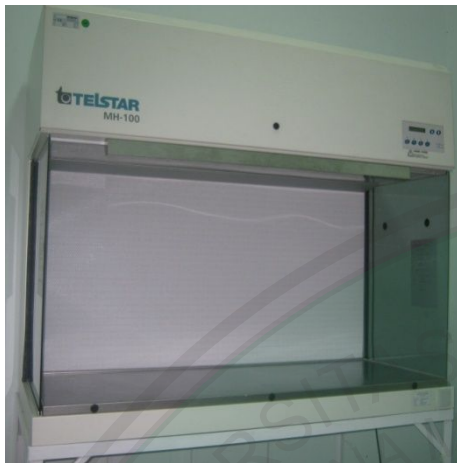


Penanaman Kalus Kotiledon



Pengamatan Terakhir

Lampiran 12. Gambar Alat dan Bahan Penelitian



LAF (Laminar Air Flow)



Autoklaf



Hot Plate



Kulkas Penyimpanan Stok B5



Oven



PH Meter



Timbangan Analitik



Pinset Steril



Scapel dan Plastik



Rak Kultur



Benih Kedelai



PEG 6000

Lampiran 13. Deskripsi Kedelai Varietas (Wilis, Tanggamus, dan Grobogan)

Wilis

Dilepas tahun	: 21 Juli 1983
SK Mentan	: TP 240/519/Kpts/7/1983
Nomor induk	: B 3034
Asal	: hasil seleksi keturunan persilangan Orba X no. 1682
Hasil rata-rata	: 1,6 t/ ha
Warna hipokotil	: Ungu
Warna batang	: Hijau
Warna daun	: Hijau-hijau tua
Warna bulu	: Coklat tua
Warna bunga	: Ungu
Warna kulit biji	: Kuning
Warna polong tua	: Coklat tua
Warna hylum	: Coklat tua
Tipe tumbuh	: Determinet
Umur berbunga	: ±39 hari
Umur matang	: 85-90 hari
Tinggi tanaman	: ±50 cm
Bentuk biji	: Oval, agak pipih
Bobot 100 biji	: ±10 g
Kandungan protein	: 37,0 %
Kandungan minyak	: 18,0 %
Kerebahan	: Tahan rebah
Ketahanan terhadap penyakit	: Agak tahan karat daun dan virus
Benih penjenis	: Dipertahankan di Balittan Malang dan Bogor
Pemulia	: Sumarno, Darman M Arsyad, Rodiah dan Ono Sutrisno

TANGGAMUS

Dilepas tahun	: 22 Oktober 2001
SK Mentan	: 536/Kpts/TP.240/10/2001
Nomor induk	: K3911-66
Asal	: Hibrida (persilangan tunggal); Kerinci X No. 3911
Hasil rata-rata	: 1,22 t/ ha
Warna hipokotil	: Ungu
Warna epikotil	: Hijau
Warna Kotiledon	: Kuning
Warna bulu	: Coklat
Warna bunga	: Ungu
Warna kulit biji	: Kuning
Warna polong masak	: Coklat
Warna hylum	: Coklat tua
Bentuk biji	: Oval
Bentuk daun	: Lancet
Tipe tumbuh	: Determinet
Umur berbunga	: 35 hari
Umur saat panen	: 88 hari
Tinggi tanaman	: 67cm
Percabangan	: 3-4 cabang
Bobot 100 biji	: 11,0 g
Ukuran biji	: Sedang
Kandungan protein	: 44,5 %
Kandungan lemak	: 12,9 %
Kandungan air	: 6,1 %
Kerebahan	: Tahan rebah
Ketahanan terhadap penyakit	: Moderat karat daun
Wilayah adaptasi	: Lahan Kering masam
Pemulia	: Muchlish Adie, Heru Kuswantoro, Darman MA dan Purwantoro

GROBOGAN

Dilepas tahun	: 2008
SK Mentan	: 238/Kpts/SR.120/3/2008
Asal	: Pemurnian populasi local Malabar Grobogan
Tipe tumbuh	: Determinet
Warna hipokotil	: Ungu
Warna epikotil	: Ungu
Warna daun	: Hijau agak tua
Warna bulu batang	: Coklat
Warna bunga	: Ungu
Warna kulit biji	: Kuning muda
Warna polong tua	: Coklat
Warna hylum	: Coklat
Bentuk daun	: Lancet
Percabangan	: -
Umur berbunga	: 30-32 hari
Umur polong masak	: \pm 76 hari
Tinggi tanaman	: 50-60 cm
Bobot 100 biji	: \pm 18g/100 biji
Hasil rata-rata	: 2,77 t/ ha
Potensi hasil	: 3,40 t/ha
Ukuran biji	: Sedang
Kandungan protein	:43,9 %
Kandungan lemak	: 18,4 %
Daerah sebaran	:Beradaptasi baik pada beberapa kondisi lingkungan tumbuh yang berbeda cukup besar, pada musim hujan dan daerah beririgasi baik
Sifat lain	: Polong masak tidak mudah pecah dan saat panen >95% daun luruh
Pemulia	: Suhartini dan Muchlis Adie