



## **POTENSI TERBENTUKNYA KALUS EMBRIOGENIK PADA BEBERAPA VARIETAS KEDELAI (GLYCINE MAX (L.) MERILL) TOLERAN TERHADAP KONDISI HIPOKSIA SECARA IN VITRO**

**Sopa Putri Tanjung**

Program Studi Agroteknologi

Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan 2016, Indonesia

[sopaputritanjung@gmail.com](mailto:sopaputritanjung@gmail.com)

### **Abstract**

*This study aims to determine the growth response and identification of embryogenic callus on several varieties of soybean (Glycine max (L.) Merrill) tolerant to hypoxic conditions in vitro. This research was conducted at the Tissue Culture Laboratory and the Laboratory of Food Technology Faculty of Agriculture, University of North Sumatra, Medan from March to September 2016, design used was a completely randomized design (CRD) factorial with 2 factors. The first factor is soybean varieties which consists of three levels ie baluran, Gepak yellow, Wilis. The second factor is the media with growth regulators which consists of three levels ie 2,4-D, NAA, IAA 10 mg/l. The parameters measured were the percentage of explants forming embryogenic callus, color callus, structure callus, types of development callus, histological analysis of callus fresh weight callus total, the measurement of chlorophyll content in total, measurement of protein concentration, measuring the value of the activity of enzyme Super oxide dismutase (SOD) and measurement value of the activity of peroxidase(POD). The results showed that the interaction Gepak kuning and Wilis varieties by administering PGR 2,4-D 10 mg/l affect the growth of embryogenic callus, callus fresh weight of total, total chlorophyll content, protein concentration, the value of the enzyme activity of Super Oxide Dismutase (SOD) and value peroxidase enzyme activity (POD), but the treatment of the three types of varieties baluran PGR and PGR treatment of NAA and IAA 10 mg/l to the three types of varieties no effect on all parameters observed.*

### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon pertumbuhan dan identifikasi kalus embriogenik pada beberapa varietas kedelai (Glycine max (L.) Merrill) toleran terhadap kondisi hipoksia secara in vitro. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dari bulan Maret sampai September 2016, Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor perlakuan. Faktor pertama adalah varietas kedelai yang terdiri dari 3 taraf yaitu Baluran, Gepak kuning, Wilis. Faktor kedua adalah media dengan zat pengatur tumbuh yang terdiri dari 3 taraf yaitu 2,4-D, NAA, IAA 10 mg/l. Parameter yang diamati adalah persentase eksplan membentuk kalus embriogenik, warna kalus, struktur kalus, tipe perkembangan kalus, analisis histologi kalus, bobot segar kalus total, pengukuran kandungan klorofil total, pengukuran konsentrasi protein, pengukuran nilai aktifitas enzim Super Oksida Dismutase (SOD) dan pengukuran nilai aktivitas enzim peroksidase (POD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa

interaksi varietas Gepak kuning dan Wilis dengan pemberian ZPT 2,4-D 10 mg/l berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus embriogenik, bobot segar kalus total, kandungan klorofil total, konsentrasi protein, nilai aktivitas enzim Super Oksida Dismutase (SOD) dan nilai aktivitas enzim Peroksidase (POD), tetapi perlakuan varietas Baluran terhadap ketiga jenis ZPT dan perlakuan ZPT NAA dan IAA 10 mg/l terhadap ketiga jenis varietas tidak berpengaruh terhadap semua parameter yang diamati.

Kata kunci : Identifikasi Kalus Embriogenik Kedelai, ZPT 2,4D, IAA, NAA, Penggenangan.

## 1. Pendahuluan

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) merupakan salah satu tanaman pangan yang sudah lama dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Tanaman ini mempunyai arti penting untuk memenuhi kebutuhan pangan dalam rangka perbaikan gizi masyarakat, karena merupakan sumber protein nabati yang relatif murah bila dibandingkan sumber protein lainnya seperti daging, susu, dan ikan. Di samping itu kedelai juga mengandung mineral seperti kalsium, posfor, besi, vitamin A dan B (Mapegau, 2006).

Kedelai merupakan sumber protein nabati yang sangat dibutuhkan oleh masyarakat Indonesia, sehingga dengan meningkatnya jumlah penduduk dan kesadaran akan kebutuhan protein berdampak pada kebutuhan akan kedelai terus meningkat dari tahun ke tahun. Rata-rata kebutuhan kedelai setiap tahunnya sebesar  $\pm 2,2$  juta ton biji kering, akan tetapi kemampuan produksi dalam negeri saat ini baru mampu memenuhi sebanyak 779.992 ton (BPS, 2013) atau 33,91 % dari kebutuhan sedangkan berdasarkan ARAM II tahun 2014 baru mencapai 921.336 ton atau 40,06% (Kementerian Pertanian, 2015).

Selain itu, pemanasan global yang menyebabkan peningkatan curah hujan dan kenaikan permukaan laut dapat mengakibatkan banyak lahan pertanian yang tergenang. Tersedianya varietas kedelai yang adaptif pada kondisi tersebut akan memberikan arti penting dalam rangka percepatan peningkatan produksi kedelai di dalam negeri. Peluang perakitan varietas kedelai toleran genangan sangat terbuka dengan tersedianya sumber-sumber gen dan metode skrining yang sederhana, mudah, dan cepat. Kerja sama dengan lembaga internasional terutama dalam pertukaran sumber gen akan mempercepat program pemuliaan kedelai toleran genangan di Indonesia (Hapsari dan Adie, 2010).

Genangan berpengaruh terhadap proses metabolisme pada tanaman yaitu akan terjadi gangguan pada proses fisiologis dan biokimiawi yaitu respirasi, permeabilitas akar, penyerapan air dan hara, penyematan N. Genangan menyebabkan kematian akar di kedalaman tertentu dan hal ini akan memacu pembentukan akar adventif pada bagian di dekat permukaan tanah pada tanaman yang tahan genangan. Kematian akar menjadi penyebab kekahatan N dan cekaman kekeringan fisiologis. Kondisi jenuh air tadi akan menghambat perkembangan dan pertumbuhan tanaman. Tanaman juga dapat mengalami kekeringan fisiologis yang efeknya lebih parah dari kekeringan fisik (Harjanti, 2012).

Pengembangan kedelai toleran genangan tidak hanya bermanfaat bagi pengembangan kedelai di lahan sawah, tetapi juga prospektif bagi wilayah yang sering mengalami cekaman genangan seperti lahan pasang surut. Luas lahan pasang surut di Indonesia mencapai 20,10 juta ha, sekitar 20–30% di antaranya berpotensi sebagai lahan pertanian (Suriadikarta dan Sutria, 2007).

Salah satu alternatif untuk mengatasi kendala diatas adalah dengan melakukan perbanyakan tanaman secara vegetatif melalui teknik kultur in vitro, sebagai contoh kultur kalus (Fauziyyah et al., 2012). Gunawan (1987), mengatakan salah satu tujuan teknik in vitro adalah membantu dalam seleksi dan pemuliaan tanaman dalam pengembangan varietas-varietas baru yang toleran terhadap stres lingkungan. Metode kultur jaringan yang pada mulanya hanya suatu penelitian fisiologis, dewasa ini menduduki posisi yang penting dalam perkembangan pertanian.

## 2. Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Laboratorium Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dengan ketinggian tempat  $\pm$  25 m dpl pada bulan Maret sampai dengan September 2016.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan eksplan: biji kedelai yang diperoleh dari koleksi Balai Penelitian Tanaman Kacangkacangan dan Umbi-umbian (Balitkabi) Malang meliputi benih kedelai varietas Baluran, Gepak kuning dan Wilis, berupa kotiledon yang telah dipisahkan dari bagian embrio. Bahan kimia: larutan stok makronutrien medium MS; larutan stok mikronutrien, sukrosa, vitamin, asam amino, larutan stok zat pengatur tumbuh 2,4-D, NAA dan IAA, akuades steril; agar; bahan sterilisasi yaitu alkohol 70%, spiritus, detergen, Dithane, Benlate, Chlorox dan Iodine. Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas: gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, batang pengaduk, botol kultur, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, gunting), Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), timbangan analitik, pipet tetes, alat sterilisasi (autoklaf, lampu spiritus, dan penyemprot alkohol (hand sprayer), pH meter, lemari pendingin, rak kultur, termometer, lampu fluourescent, hot plate, magnetic stirrer, mortar, alu, mikroskop cahaya, mikropipet, tube, tips (biru, kuning), sentrifuse, vortex, cuvet, spektrofotometer UV-Vis, waterbath, oven, labu kjedhal, alat destilasi, kondensor dan kamera.

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap yaitu: (1) Tahap pembentukan kalus embriogenik; (2) Tahap identifikasi kalus toleran genangan. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial terdiri dari dua factor. Jika perlakuan (Varietas yang diuji, jenis ZPT auksin dan interaksi) berbeda nyata dalam sidik ragam maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (DMRT) pada  $\alpha = 5\%$  (Steel dan Torrie, 1995). Analisis dilakukan menggunakan software Costat for Window dan Microsoft Excel 2007.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### Hasil

#### Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)

Data hasil pengamatan terhadap persentase pertumbuhan eksplan dapat dilihat pada Lampiran 7, 8 dan 9. Rataan persentase eksplan membentuk kalus akibat pemberian beberapa jenis ZPT dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)

Perlakuan	4MST	8MST	Rataan
V1A1	0.00	0.00	0.00
V1A2	0.00	0.00	0.00
V1A3	0.00	0.00	0.00
V2A1	100.00	100.00	100.00
V2A2	0.00	0.00	0.00
V2A2	0.00	0.00	0.00
V3A1	100.00	100.00	100.00
V3A2	0.00	0.00	0.00
V3A2	0.00	0.00	0.00

Keterangan: V1 (Varietas Baluran); V2 (Varietas Gepak kuning); V3 (Varietas Wilis); A1 (ZPT 2,4-D 10 mg/l); A2 (ZPT NAA 10 mg/l); A3 (ZPT IAA 10 mg/l)

Pada Tabel 1. terlihat bahwa pemberian ZPT 2,4-D 10 mg/l pada eksplan varietas Gepak kuning dan Wilis telah terbentuk kalus pada umur 4 dan 8 MST, sedangkan untuk pemberian ZPT NAA dan IAA 10 mg/l kalus belum juga terbentuk pada kedua umur tersebut, dikarenakan untuk tujuan induksi kalus embriogenik ZPT NAA dan IAA tunggal dengan konsentrasi tersebut belum bisa digunakan karena tidak menginduksi terbentuknya kalus. Sedangkan pada varietas Baluran juga tidak menunjukkan pertumbuhan eksplan, dikarenakan eksplan tidak respon terhadap media yang diberikan hal ini mungkin akibat konsentrasi zatpengatur tumbuh eksogen yang diberikan belum sesuai, disamping itu kemungkinan juga lebih dipengaruhi oleh keadaan hormon endogen.

#### Keadaan Visual Kalus

Dari hasil pertumbuhan kalus yang terbentuk pada tiap perlakuan pada tahap I, hanya perlakuan V2A1 dan V3A1 yang respon membentuk kalus sehingga pada tahap II hanya kedua perlakuan tersebut yang dijadikan sebagai bahan analisa pada tahap II yaitu identifikasi kalus toleran genangan. Karena jumlah kalus yang dihasilkan pada tahap induksi masih terbatas maka pada setiap perlakuan yang berhasil membentuk kalus untuk masuk pada tahap identifikasi dilakukan komposit (1 ulangan perlakuan terdiri dari 3 botol kultur dengan perlakuan yang sama).

### **Nilai Aktivitas Enzim Super Oksida Dismutase (SOD) (unit/mg/l)**

Dari data hasil analisa menunjukkan bahwa perlakuan pemberian media ZPT 2,4-D pada beberapa jenis varietas kedelai dan interaksinya keduanya memberikan respon perbedaan hasil terhadap jumlah nilai aktivitas enzim SOD saat sebelum dan setelah penggenangan. Dengan jumlah nilai aktivitas enzim SOD tertinggi terdapat pada varietas Wilis dengan media ZPT 2,4-D 10 mg/l sebelum dan setelah penggenangan.

### **Nilai Aktivitas Enzim Peroksidase (POD) (unit/mg/l)**

Dari data hasil analisa menunjukkan bahwa perlakuan pemberian media ZPT 2,4-D pada beberapa jenis varietas kedelai dan interaksinya keduanya memberikan respon perbedaan hasil terhadap jumlah konsentrasi protein saat sebelum dan setelah penggenangan. Dengan jumlah konsentrasi protein tertinggi terdapat pada varietas Gepak kuning dengan media ZPT 2,4-D 10 mg/l sebelum dan setelah penggenangan.

## **Pembahasan**

### **Respon Pertumbuhan Kalus Embriogenik pada Beberapa Varietas Kedelai terhadap Pemberian Beberapa Zat Pengatur Tumbuh.**

Berdasarkan pengamatan terhadap persentase terbentuknya kalus terlihat perlakuan 2,4-D 10 mg/l terhadap varietas Gepak kuning dan Wilis telah mampu membentuk kalus pada 4 dan 8 MST. Kalus yang terbentuk umumnya berwarna putih kekuning-kuningan dan bertekstur friable. Berbeda dengan perlakuan NAA dan IAA pada Tabel 1. terlihat bahwa tidak adanya eksplan kotiledon pada tiap varietas kedelai yang mampu membentuk kalus baik itu pada 4 dan 8 MST. Hasil pengamatan pada peubah warna kalus secara keseluruhan menunjukkan bahwa warna kalus cenderung berwarna putih kekuning-kuningan, dan pada sebagian perlakuan juga ditemukan warna hijau pada kalus yang terbentuk. Warna kalus yang terbentuk menunjukkan bahwa terjadinya aktivitas pembelahan pada kalus. Hal ini sesuai dengan pendapat Shofiyah dan Purnawanto(2010) yang menyatakan bahwa warna kalus dapat bermacam-macam tergantung dari jenis sumber eksplan itu diambil, seperti warna kekuning-kuningan, putih, hijau, kuning kejingga-jinggaan. Hasil yang sama dari penelitian Rusdianto dan Indrianto (2012) yang menyatakan bahwa kalus yang berwarna putih bening atau kekuningan merupakan kalus yang dapat mengikuti pola embriogenik.

### **Respon Bobot Segar Kalus Total, Kandungan Klorofil Total, Konsentrasi protein, Nilai Aktivitas Enzim SOD dan POD Akibat Perlakuan Penggenangan.**

Berdasarkan hasil analisis terhadap kandungan klorofil total diketahui bahwa perlakuan V2A1 merupakan perlakuan dengan kandungan klorofil total tertinggi baik pada saat sebelum dan setelah penggenangan dibandingkan dengan perlakuan V3A1. Pada kedua perlakuan tersebut menunjukkan penurunan kandungan klorofil total setelah dilakukan proses penggenangan. Hal ini disebabkan karena kalus setelah dilakukan penggenangan mengalami gangguan metabolisme sehingga proses fotosintesis terganggu. Hal ini sesuai dengan pendapat Bidwell (1979) yang menyatakan bahwa gangguan terhadap metabolisme

akibat anaerobik akan menghambat produksi ATP, Pengaruh CO<sub>2</sub> juga di dalam kultur jaringan berkaitan erat dengan kebutuhan bagi proses fotosintesis. Secara umum diduga bahwa CO<sub>2</sub> merupakan syarat mutlak untuk kultur jaringan tanaman tingkat tinggi dibawah kondisi cahay. Pada hasil analisis terhadap konsentrasi protein. menunjukkan adanya perbedaan pengaruh pemberian ZPT yang diberikan kepada kedua varietas kedelai dimana perlakuan V2A1 dengan konsentrasi protein tertinggi mengalami kenaikan konsentrasi protein setelah penggenangan. Berbeda halnya dengan perlakuan V3A1 terlihat pada perlakuan ini memberikan respon penurunan konsentrasi protein setelah dilakukan proses penggenangan. Adanya perbedaan hasil akhir konsentrasi ini diduga bahwa varietas Gepak kuning pada perlakuan V2A1 menunjukkan sifat tahan terhadap kondisi penggenangan secara *in vitro*. Sedangkan pada varietas Wilis pada perlakuan V3A1 mengalami penurunan konsentrasi, hal tersebut diduga karena varietas ini tidak tahan terhadap kondisi penggenangan sehingga terjadi proses denitrifikasi.

#### 4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada varietas Gepak kuning dan Wilis merupakan varietas yang responsif terhadap pertumbuhan kalus embriogenik atas pemberian media, sedangkan varietas Baluran tidak menunjukkan aktivitas pertumbuhan. Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan kalus embriogenik, pemberian ZPT 2,4-D 10 mg/l terhadap eksplan kotiledon kedelai memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan ZPT NAA dan IAA 10 mg/l. Pada kondisi hipoksia interaksi varietas Gepak kuning dengan ZPT 2,4-D memberikan hasil terbaik terhadap kandungan klorofil total dan konsentrasi protein sedangkan interaksi varietas Wilis dengan ZPT 2,4-D memiliki hasil terbaik pada bobot segar kalus total, nilai aktivitas enzim SOD dan POD.

#### 5. Referensi

- Mapegau. 2006. Pengaruh Cekaman Air terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kedelai (*Glycine max L. Merr*). Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Jambi. Jurnal Ilmiah Pertanian Kultura. 41(1):43-51.
- Kementerian Pertanian. 2015. Pedoman teknis pengelolaan produksi kedelai tahun 2015. Direktorat Budidaya Aneka Kacang dan Umbi. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, Kementerian Pertanian.
- Hapsari, R. T. dan M. M. Adie. 2010. Peluang perakitan dan pengembangan kedelai toleran genangan. Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Bogor. Jurnal Litbang Pertanian, 29(2).
- Harjanti, R. A. 2012. Sistem pengairan Intermittent pada System Rice of Intensification (SRI) terhadap pertumbuhan dan hasil padi (*Oryza sativa L.*) Makalah Seminar Umum (PNB 4080) Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Suriadikarta, D.A. dan M.T. Sutriadi. 2007. Jenis-jenis lahan berpotensi untuk pengembangan pertanian di lahan rawa. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian 26(3): 115–122.

- Fauziyyah, D., T.Hardiyati dan Kamsinah. 2012. Upaya memacu pembentukan kalus eksplan embrio kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan pemberian kombinasi 2,4-D dan sukrosa secara kultur in vitro. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman , Purwokerto. *Jurnal Pembangunan Pedesaan* 12(1): 30-37.
- Gunawan, L.W. 1987. Teknik kultur jaringan tumbuhan. IPB-Press, Bogor.
- Shofiyah, A. dan A. M. Purnawanto. 2010. Pengaruh kombinasi 2,4-D dan Benzil Amino Purin (BAP) terhadap pembentukan kalus pada eksplan daun Kencur (*Kaemferia galangi* L.) secara in vitro. Laporan Penelitian Dosen Muda. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto.
- Bidwell, R. G. 1979. *Plant Physiology* 2nd edition. New York Macmillan Publishing.