

REGENERASI DAN ENKAPSULASI *IN VITRO* KEDELAI (*Glycine Max (L.) MERRILL*) KULTIVAR RAJABASA MELALUI BERBAGAI KOMBINASI KONSENTRASI *THIDIAZURON* DAN *NAPHTALENE ACETIC ACID* PADA MEDIA MURASHIGE & SKOOG DAN VITAMIN MEDIA B5

Regeneration Encapsulation and In Vitro of Soybean (Glycine max (L.) Merrill) cv. Rajabasa with Various Combinations of Concentrations Thidiazuron and Naphthalene Acetic Acid (NAA) on medium MS + Vitamin from Medium B5

Perkasa, R.N.T.¹, E.Suminar^{2*}, dan A. Karuniawan²

¹Mahasiswa Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

²Staf Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor, 45363

*Alamat korespondensi: suminarerni@yahoo.com

ABSTRAK

Produksi benih secara *in vitro* dapat dijadikan metode alternatif dalam perbanyakan benih sumber kultivar unggul, namun penelitian penggunaan zat pengatur tumbuh yang tepat dalam mendukung regenerasi dan enkapsulasi pada kultivar ini belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi TDZ dan NAA pada media dasar MS dan vitamin dari media B5 terbaik dalam regenerasi eksplan *embryonic axis* dan menentukan apakah metode enkapsulasi yang digunakan dapat mengenkapsulasi eksplan kedelai kultivar Rajabasa secara *in vitro* dengan baik. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Teknologi Benih Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, yang berlangsung dari bulan Mei hingga Agustus 2014. Eksplan yang digunakan adalah *embryonic axis* kedelai kultivar Rajabasa. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Media yang digunakan adalah MS dan Vitamin dari media B5 dengan penambahan zat pengatur tumbuh TDZ (0 mg L⁻¹; 0,01 mg L⁻¹; 0,1 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹) dan NAA (0 mg L⁻¹; 0,01 mg L⁻¹; 0,1 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹), kemudian tahap kedua dilakukan enkapsulasi pada eksplan hasil regenerasi menggunakan Na-Alginat 4% + CaCl₂.2H₂O 100 mM. Perlakuan yang terbaik diperoleh pada perlakuan TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹, tetapi tahap enkapsulasi yang dilakukan belum mampu mengenkapsulasi eksplan hasil regenerasi secara *in vitro* dengan baik.

Kata kunci : TDZ, NAA, media MS + vitamin dari media B5, eksplan embrionic axis, enkapsulasi.

ABSTRACT

In vitro seed production can be used as an alternative method in seed multiplication of superior cultivars sources, but the research concerning the use of the growth regulators to support regeneration and encapsulation in this cultivar has never been done. The objective of this experiments is to find out the best combination of TDZ and NAA on medium MS + vitamin from medium B5 in the regeneration of *embryonic axis* explant and determine the encapsulation method used in this research that can encapsulate soybean cv Rajabasa *in vitro*. Current research was carried out from May to August 2014 at Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran. The explants used in the research are embryonic axis of Rajabasa soybean cultivar. Its experimental design was a Completely Randomized Design (CRD). The used medium was MS and vitamin from medium B5 with the addition of growth regulators TDZ (0 mgL⁻¹; 0.01 mgL⁻¹; 0.1 mgL⁻¹; 1.0 mgL⁻¹) and NAA (0 mgL⁻¹; 0.01 mgL⁻¹; 0.1 mgL⁻¹; 1.0 mgL⁻¹). Second stage of encapsulation in explants regenerated using Na-Alginate 4% + CaCl₂.2H₂O 100 mM. The best treatment was obtained on combination of TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹, but the encapsulation stage in this research has not been able to encapsulates regenerated explants *in vitro*.

Key words : TDZ, NAA, medium MS + vitamin from medium B5, explant embryonic axis, encapsulation.

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) merupakan komoditas tanaman pangan terpenting ketiga setelah padi dan jagung di Indonesia (Badan Litbang Pertanian, 2012). Kedelai dapat diolah menjadi berbagai produk pangan seperti tempe, tahu, tauco, kecap, susu, dan lain-lain. Permintaan kedelai pun meningkat setiap tahun. Produksi kedelai pada tahun 2013 mencapai 847,16 ribu ton biji kering atau mengalami peningkatan sebesar 4,00 ribu ton (0,47 persen) dibandingkan dengan tahun 2012, namun produktivitas mengalami penurunan sebesar 0,03 kuintal/hektar (0,20 persen) (BPS, 2013).

Sebagai upaya dalam mengatasi rendahnya produktivitas kedelai, penggunaan kultivar unggul dan perluasan ke lahan sub-optimal seperti lahan kering masam dan lahan pasang surut perlu dilakukan. Indonesia memiliki luas lahan kering masam sekitar 102,8 juta ha dan 23,1 juta ha lahan pasang surut (Mulyani *dkk.*, 2010).

Salah satu kultivar kedelai yang memiliki sifat toleran terhadap berbagai permasalahan lahan, khususnya kondisi lahan masam serta tahan serangan penyakit karat daun (*Phakopsora pachyrhizi* SYD) adalah kultivar Rajabasa. Kultivar ini telah dilepas sejak tahun 2004, namun saat ini ketersediaan benihnya masih sangat

terbatas, sehingga sulit untuk memenuhi kebutuhan lahan yang sangat luas.

Rendahnya produktivitas dan tingginya serangan hama penyakit di lapangan merujuk bahwa kultur *in vitro* dapat dijadikan metode alternatif untuk menyediakan benih sumber kultivar unggul dalam jumlah besar, waktu yang singkat serta tidak bergantung terhadap musim.

Penelitian Widoretno *dkk.* (2003) mengenai kultur embrio dengan pemberian beberapa kombinasi zat pengatur tumbuh berhasil menginduksi pembentukan dan pertumbuhan tunas melalui kombinasi NAA, 2,4-D dan BAP. Khawar *dkk.* (2004) menyatakan bahwa Thidiazuron (TDZ) merupakan zat pengatur tumbuh yang dapat menginduksi perbanyakan tunas lebih cepat daripada sitokinin jenis lain, namun saat ini belum banyak penelitian yang menunjukkan kombinasi antara zat pengatur tumbuh NAA dan TDZ yang berpengaruh nyata terhadap perkembangan kultur *in vitro* kedelai.

Proses pembentukan tunas mikro secara *in vitro* dipengaruhi pula oleh komposisi media dasar yang digunakan. Widoretno *dkk.* (2003) dan Sari (2014) telah berhasil menginduksi pembentukan embrio somatik dari kotiledon dan regenerasi planlet kedelai menggunakan media MS + Vitamin dari Media B5.

Besarnya potensi kerusakan benih kedelai saat penyimpanan di daerah Tropis

merujuk kepada pengembangan teknologi enkapsulasi secara *in vitro*. Teknik enkapsulasi untuk memproduksi benih sintetik (*Artificial seed*) memiliki beberapa keuntungan, salah satunya dapat memberi manfaat dalam memperpanjang masa hidup benih pada saat penyimpanan dan pendistribusian, selain dapat menghasilkan stok benih yang bebas dari organisme pengganggu tanaman (OPT) seperti bakteri, virus dan jamur (Kumar *dkk*, 2005).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Percobaan

Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran di Jatinangor, Sumedang. Waktu percobaan berlangsung selama 4 bulan mulai bulan Mei – Agustus 2014.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah benih kedelai kultivar Rajabasa, sukrosa, media dasar MS dan Vitamin dari Media B5, NAA, TDZ, kristal kalsium oksalat, natrium alginat, spirtus, alkohol 70% dan aquades, sedangkan alat-alat yang digunakan meliputi: timbangan analitik, erlenmeyer, pipet dan volume pipet, *hot plate magnetic stirrer*, botol kultur 100 ml, alat suntik 2 ml, pH meter, kompor listrik, oven, *autoclave*, aluminium foil/plastik, karet gelang, gelas ukur, *Laminar Air Flow* (LAF), *petridish*, pinset, *scalpel blade*, lampu spirtus,

termometer dan *Air Conditioner* (AC). Pada tahap pengamatan, alat-alat yang dibutuhkan adalah kamera, buku, penggaris dan alat tulis.

Rancangan Percobaan dan Pengamatan Percobaan Tahap 1

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 12 perlakuan dan setiap perlakuan diulang tiga kali. Setiap ulangan terdiri dari tiga unit percobaan yang masing-masing berisi satu eksplan *embryonic axic* kedelai. Jumlah keseluruhan bahan percobaan yang digunakan adalah 108 unit percobaan. Media dasar yang digunakan adalah media MS dan Vitamin dari Media B5, dengan kombinasi perlakuan sebagai berikut: A: Kontrol; B: TDZ 0 mgL⁻¹ + NAA 0,1 mgL⁻¹; C : TDZ 0 mgL⁻¹ + NAA 1 mgL⁻¹, D: TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹, E: TDZ 0,01mgL⁻¹ + NAA 0,1 mgL⁻¹, F : TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 1 mgL⁻¹, G : TDZ 0,1 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹; H : TDZ 0,1 mgL⁻¹ + NAA 0,1 mgL⁻¹, I : TDZ 0,1 mgL⁻¹ + NAA 1 mgL⁻¹; J : TDZ 1 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹; K : TDZ 1 mgL⁻¹ + NAA 0,1 mgL⁻¹; L : TDZ 1 mgL⁻¹ + NAA 1 mgL⁻¹.

Percobaan Tahap 2

Enkapsulasi dari hasil regenerasi pada percobaan tahap I. Setelah regenerasi dan multiplikasi, tunas mikro yang diperoleh kemudian dilakukan enkapsulasi untuk

menghasilkan benih sintetik. Bahan yang terbentuk pada tahap I dienkapsulasi dengan menggunakan Na-Alginat 4% + CaCl₂.2H₂O 100mM (Rady, 2004; Kumar dkk, 2005; Siong dkk. 2012). Pada tahap II pengamatan dilakukan secara deskriptif.

Pengamatan

Parameter utama yang diamati pada percobaan tahap pertama adalah: 1) Persentase eksplan membentuk tunas (%), 2) Persentase eksplan membentuk akar (%), 3) Persentase eksplan membentuk kalus (%), 4) Jumlah tunas, 5) Jumlah akar dan 6) Bobot basah kalus. Kemudian percobaan tahap kedua dilakukan pengamatan secara deskriptif terhadap warna kapsul dan perubahan warna/bentuk eksplan. Pengamatan pada percobaan tahap pertama dilakukan selama 12 MST (minggu

setelah tanam) dan pada percobaan tahap kedua selama 30 HSE (hari setelah enkapsulasi).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase (%) Eksplan Membentuk Tunas

Tunas merupakan bagian vegetatif tanaman yang dapat terus aktif membelah sehingga selalu dimanfaatkan sebagai sumber eksplan untuk multiplikasi dan regenerasi menjadi tanaman baru.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan D (TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹) lebih efektif dan efisien dalam menghasilkan eksplan membentuk tunas. Pada dasarnya setiap tanaman tanpa penambahan ZPT mampu menginduksi pertumbuhan tunas dan akar untuk melakukan regenerasi secara *in vitro*.

Tabel 1. Data pengaruh kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada Media MS dan vitamin dari media B5 terhadap persentase eksplan membentuk tunas pada 4, 8 dan 12 minggu setelah tanam.

	Perlakuan	Persentase membentuk tunas (%)		
		4 MST	8 MST	12 MST
A	Kontrol	66,66 b	66,66 b	55,55 b
B	TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	77,77 c	88,89 b	88,89 b
C	TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	61,11 b	61,11 b	61,11 b
D	TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	100,00 c	100,00 b	100,00 b
E	TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	77,77 c	77,78 b	88,89 b
F	TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	88,89 c	100,00 b	100,00 b
G	TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	55,55 b	88,89 b	88,89 b
H	TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	44,44 b	77,78 b	88,89 b
I	TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,00 a	11,11 a	22,22 a
J	TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	0,00 a
K	TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,00 a	11,11 a	11,11 a
L	TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	0,00 a

Keterangan: Angka yang ditandai oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji *Scott Knott* pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam.

Tabel 2. Data pengaruh kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada Media MS dan vitamin dari media B5 terhadap persentase eksplan membentuk akar pada 4, 8 dan 12 minggu setelah tanam.

Perlakuan	Persentase membentuk akar (%)		
	4 MST	8 MST	12 MST
A Kontrol	66,66 b	66,67 b	55,55 b
B TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	88,89 b	88,89 c	88,89 c
C TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	61,11 b	61,11 b	61,11 b
D TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	88,89 b	100,00 c	100,00 c
E TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	88,89 b	100,00 c	100,00 c
F TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	88,89 b	88,89 c	100,00 c
G TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	88,89 b	88,89 c	88,89 c
H TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	77,78 b	88,89 c	88,89 c
I TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	11,11 a	11,11 a	11,11 a
J TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	11,11 a	11,11 a	11,11 a
K TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	11,11 a
L TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	0,00 a

Keterangan: Angka yang ditandai oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji *Scott Knott* pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam.

Tabel 3. Data pengaruh kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada Media MS dan vitamin dari media B5 terhadap persentase eksplan membentuk kalus pada 4, 8 dan 12 minggu setelah tanam.

Perlakuan	Persentase membentuk kalus (%)		
	4 MST	8 MST	12 MST
A Kontrol	11,11 a	11,11 a	16,67 a
B TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	11,11 a	11,11 a	11,11 a
C TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	38,89 ab	38,89 a	38,89 a
D TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	0,00 a	16,66 a	16,66 a
E TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	88,89 c	88,89 b	88,89 b
F TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	100,00 c	100,00 b	100,00 b
G TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	11,11 a	33,33 a	33,33 a
H TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	55,55 b	100,00 b	100,00 b
I TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	11,11 a	22,22 a	22,22 a
J TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	66,66 b	66,66 b	66,66 b
K TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	44,44 ab	44,44 a	44,44 a
L TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	100,00 c	100,00 b	100,00 b

Keterangan: Angka yang ditandai oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji *Scott Knott* pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam.

Persentase (%) Eksplan Membentuk Akar

Perlakuan C (TDZ 0 mgL⁻¹ + NAA 1 mgL⁻¹) jika dibandingkan dengan perlakuan B (TDZ 0 mgL⁻¹ + NAA 0,1 mgL⁻¹) pada penelitian ini menunjukkan

bahwa konsentrasi auksin NAA yang tinggi belum tentu akan menghasilkan persentase eksplan membentuk akar yang lebih tinggi, sejalan dengan penelitian ini. Arlianti *dkk.* (2013) menegaskan bahwa pada kultur *in*

in vitro tanaman stevia konsentrasi NAA 0,1 mgL⁻¹, 0,2 mgL⁻¹ dan 0,3 mgL⁻¹ efektif menghasilkan rata-rata jumlah dan panjang akar terbaik.

Persentase (%) Eksplan Membentuk Kalus

Proses induksi kalus yang terjadi merupakan pengaruh dari adanya interaksi antara kombinasi auksin dan sitokinin. Kemampuan eksplan untuk tumbuh dan morfogenesis dikendalikan oleh keseimbangan antara zat pengatur tumbuh (ZPT) eksogen yang diberikan dan hormon endogen yang telah ada dalam jaringan tanaman (Laslo dan Vicas, 2008). Berdasarkan Tabel 7 bahwa hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata antara kombinasi ZPT dan penggunaan media MS dan vitamin dari media B5 terhadap pembentukan kalus.

Jumlah Tunas

Kombinasi konsentrasi TDZ dan NAA dan penggunaan media MS + vitamin B5 dalam penelitian ini berpengaruh nyata terhadap jumlah tunas yang terbentuk pada 4 MST, 8 MST, dan 12 MST. Berdasarkan Tabel 8 bahwa hasil penelitian ini rata-rata jumlah tunas terbaik pada 4 MST, 8 MST dan 12 MST terlihat pada perlakuan D (TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹), E (TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 0,1 mgL⁻¹) dan F (TDZ 0,01 mgL⁻¹ + NAA 1 mgL⁻¹).

Terbentuknya tunas yang optimal terjadi akibat adanya kondisi konsentrasi

sitokinin dalam jaringan tanaman lebih tinggi dibandingkan auksin, Thomas (2003) menyatakan bahwa pembentukan tunas secara *in vitro* terbaik dapat diinisiasi dengan pemberian konsentrasi TDZ yang tepat, kondisi sitokinin yang lebih tinggi dibandingkan auksin akan mendukung pembelahan sel dalam pembentukan tunas.

Penelitian Aggarwal *dkk* (2012) menunjukkan hal sama bahwa pemberian kombinasi TDZ 0,3 mgL⁻¹ + NAA 0,02 mgL⁻¹ cenderung menghasilkan rata-rata jumlah tunas terbaik pada tanaman *Populus ciliata* Wall. dibandingkan pemberian konsentrasi yang lebih tinggi pada TDZ 1 mgL⁻¹ + NAA 0,02 mgL⁻¹.

Jumlah Akar

Kombinasi konsentrasi TDZ dan NAA pada media MS + vitamin B5 dalam penelitian ini berpengaruh nyata terhadap jumlah akar yang terbentuk pada 4 MST, 8 MST, dan 12 MST.

Efektivitas konsentrasi yang diaplikasikan terlihat pada perlakuan B (TDZ 0 mgL⁻¹ + NAA 0,1 mgL⁻¹), pemberian auksin tunggal pada eksplan menghasilkan jumlah akar terbaik. Penelitian Huang *dkk* (2014) menunjukkan hasil yang sejalan dimana NAA dalam konsentrasi 0,1 mgL⁻¹ mampu meningkatkan rata-rata jumlah akar tanaman *Gentiana scabra* Bunge. sehingga pertumbuhan eksplan dominan dalam menunjang pembentukan kalus.

Tabel 4. Data pengaruh kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada Media MS dan vitamin dari media B5 terhadap rata-rata jumlah tunas per eksplan pada 4, 8 dan 12 minggu setelah tanam.

Perlakuan	Jumlah tunas		
	4 MST	8 MST	12 MST
A Kontrol	0,78 b	0,78 b	0,56 a
B TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,89 b	1,11 b	1,44 b
C TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,83 b	1,50 b	2,83 b
D TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	1,44 c	2,89 c	3,56 c
E TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	1,33 c	2,22 c	4,22 c
F TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	1,56 c	2,67 c	4,56 c
G TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	1,11 b	1,78 b	2,22 b
H TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,67 b	1,11 b	1,89 b
I TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,11 a	0,33 a
J TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	0,00 a
K TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,11 a	0,11 a
L TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	0,00 a

Keterangan: Angka yang ditandai oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji *Scott Knott* pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam.

Tabel 5. Data pengaruh kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada Media MS dan vitamin dari media B5 terhadap rata-rata jumlah akar per eksplan pada 4, 8 dan 12 minggu setelah tanam.

Perlakuan	Jumlah akar		
	4 MST	8 MST	12 MST
A Kontrol	2,56 b	2,67 b	3,11 b
B TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	4,00 b	4,11 b	5,11 c
C TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	3,83 b	4,06 b	5,33 c
D TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	2,16 b	3,06 b	3,83 b
E TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	2,00 b	2,78 b	2,88 b
F TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	3,22 b	3,67 b	4,56 c
G TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	3,28 b	4,06 b	5,33 c
H TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	1,44 a	2,22 b	2,55 b
I TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,11 a	0,11 a	0,11 a
J TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	0,11 a	0,11 a	0,11 a
K TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	0,11 a
L TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,00 a	0,00 a	0,00 a

Keterangan: Angka yang ditandai oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji *Scott Knott* pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam.

Bobot Basah (g)

Hasil analisis ragam penggunaan media MS + vitamin B5 dengan pemberian kombinasi konsentrasi TDZ dan NAA

menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap bobot basah 12 MST. Besarnya bobot basah kalus menunjukkan bahwa

keseimbangan sitokinin dan auksin dalam jaringan tanaman cenderung seimbang.

Perlakuan TDZ 1 mgL⁻¹ + NAA 0 mgL⁻¹ menunjukkan efektivitas hasil dalam pembentukan kalus lebih baik dibandingkan perlakuan TDZ 1 mgL⁻¹ + NAA 1 mgL⁻¹, selisih yang sangat kecil membuktikan bahwa pemberian TDZ tunggal dalam konsentrasi 1 mgL⁻¹ diduga memberikan hasil optimal dalam induksi kalus eksplan kedelai.

Hasil Enkapsulasi

Enkapsulasi merupakan metode yang digunakan mendukung perbanyakan klonal embriogenesis somatik dan upaya untuk memperbaiki penyimpanan plasma nutfah tanaman secara *in vitro* (Reddy *dkk*, 2012). Semakin baik metode enkapsulasi yang diaplikasikan maka kualitas penyimpanan benih sintetik ataupun plasma nutfah pun semakin maksimal.

Penyimpanan eksplan hasil regenerasi dengan proses pengkapsulan menunjukkan adanya perbedaan daya simpan diantara masing-masing sumber eksplan (Tabel 11).

Eksplan tunas yang mampu mempertahankan kondisi warna lebih lama yaitu berasal dari perlakuan F (0,01 mg L⁻¹ TDZ + 1,0 mg L⁻¹ NAA), G (0,1 mg L⁻¹ TDZ + 0 mg L⁻¹ NAA) dan H (0,1 mg L⁻¹ TDZ + 0,1 mg L⁻¹ NAA) untuk warna kapsul, sedangkan pada perlakuan B (0 mg L⁻¹ TDZ + 0,1 mg L⁻¹ NAA) untuk warna eksplan. Pencoklatan yang terlihat pada eksplan dan kapsul disebabkan oleh tingginya senyawa fenol yang terbentuk. Vickery (1981) menjelaskan bahwa senyawa metabolit sekunder dalam bentuk fenolik timbul karena diakibatkan oleh adanya cekaman dan gangguan pada sel tanaman. Hal ini diduga bahwa komposisi kapsul yang diaplikasikan belum tepat, sehingga terjadi gangguan sel pada eksplan.

Tabel 6. Data pengaruh kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada Media MS dan vitamin dari media B5 terhadap bobot basah kalus pada 12 minggu setelah tanam.

Perlakuan	Bobot basah (g)
A Kontrol	0,00 a
B TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,00 a
C TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,00 a
D TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	0,00 a
E TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,47 a
F TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,63 b
G TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	0,18 a
H TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	1,42 c
I TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	0,64 b
J TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	1,24 c
K TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	0,96 c
L TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	1,12 c

Keterangan: Angka yang ditandai oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji *Scott Knott* pada taraf 5%.

Tabel 7. Data perubahan warna kapsul dan warna eksplan kapsul terhadap kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada media MS dan vitamin dari media B5

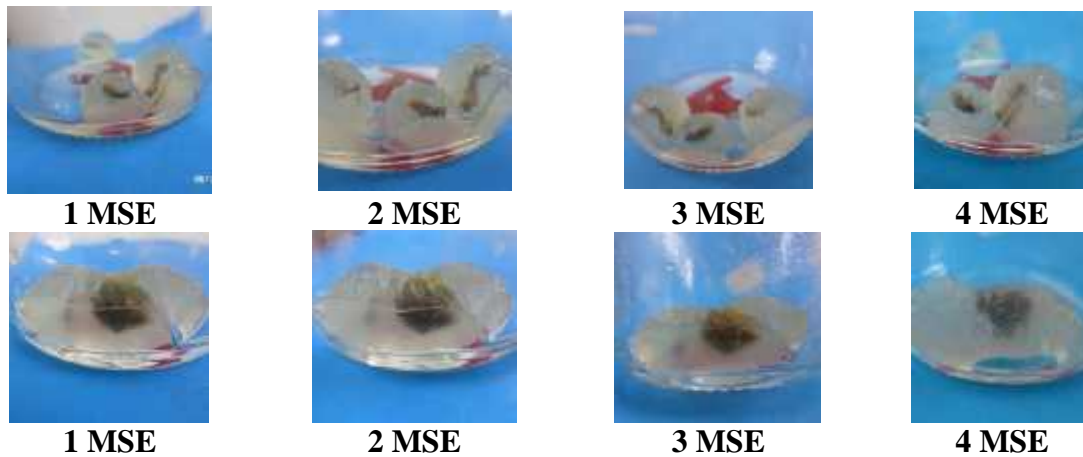
Sumber eksplan	Waktu awal perubahan (HSE)			
	Tunas		Kalus	
	Warna Kapsul	Warna Eksplan	Warna Kapsul	Warna Eksplan
A Kontrol	5	5	-	-
B TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	5	16	-	-
C TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	5	5	-	-
D TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	5	7	-	-
E TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	5	7	-	-
F TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	30	8	3	6
G TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	30	7	-	-
H TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	30	5	4	5
I TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	5	6	5	5
J TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	-	-	4	6
K TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	-	-	4	5
L TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	-	-	4	5

Keterangan: HSE = hari setelah enkapsulasi.

Tabel 8. Data perubahan warna kapsul terhadap kombinasi konsentrasi TDZ, NAA pada media MS dan vitamin dari media B5 pada 1, 2, 3, dan 4 minggu setelah enkapsulasi berdasarkan *Colour Chart RHS*

Sumber Eksplan	Warna Kapsul							
	Tunas (MSE)				Kalus (MSE)			
	1	2	3	4	1	2	3	4
A Kontrol	9	9	9	9	-	-	-	-
B TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	5	5	5	5	-	-	-	-
C TDZ 0 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	5	6	6	6	-	-	-	-
D TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	8	9	9	9	-	-	-	-
E TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	6	6	6	6	-	-	-	-
F TDZ 0,01 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	7	7	7	7	8	8	8	8
G TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	7	7	7	7	-	-	-	-
H TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	7	7	7	7	9	9	9	9
I TDZ 0,1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	9	9	9	9	8	8	8	8
J TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0 mgL ⁻¹	-	-	-	-	8	8	8	8
K TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 0,1 mgL ⁻¹	-	-	-	-	9	9	9	9
L TDZ 1 mgL ⁻¹ + NAA 1 mgL ⁻¹	-	-	-	-	9	9	9	9

Keterangan: Warna Kapsul : skala 0-9 digunakan untuk skoring warna kapsul. Coklat (0), hijau tua (1-2), hijau (3-4), hijau cerah (5-6), hijau muda (7-8) dan hijau kekuningan (9). MSE = minggu setelah enkapsulasi



Gambar 8. Kondisi perubahan warna kapsul eksplan tunas (atas) dari perlakuan B (TDZ 0 mgL^{-1} + NAA $0,1 \text{ mgL}^{-1}$) dan eksplan kalus (bawah) dari perlakuan K (TDZ 1 mgL^{-1} + NAA $0,1 \text{ mgL}^{-1}$) pada 1, 2, 3 dan 4 MSE (minggu setelah enkapsulasi).

Berdasarkan Tabel 8, kapsul dengan sumber eksplan kalus rata-rata mengalami perubahan warna dengan skor terendah dibandingkan dengan dengan sumber eksplan tunas, kapsul dengan skor terendah ditunjukkan oleh perlakuan A ($0,0 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $0,0 \text{ mgL}^{-1}$ NAA), D ($0,01 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $0,0 \text{ mgL}^{-1}$ NAA), F ($0,01 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ NAA), H ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ NAA) I ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ NAA), J ($1,0 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $0,0 \text{ mgL}^{-1}$ NAA), K ($1,0 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $0,01 \text{ mgL}^{-1}$ NAA) dan L ($1,0 \text{ mgL}^{-1}$ TDZ + $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ NAA) dengan skor 8-9 atau berwarna hijau kekuningan (Gambar 8).

Kondisi vigor eksplan ditunjukkan pada kemampuan eksplan dalam menghasilkan tunas dan akar normal saat regenerasi (Winarto, 2010). Vigor eksplan pada percobaan ini diketahui tidak dapat dipertahankan pada proses enkapsulasi eksplan hasil regenerasi kedelai varietas Rajabasa selama 30 HSE (Hari Setelah

Enkapsulasi) yang ditunjukkan oleh adanya perubahan warna kapsul dan eksplan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian berbagai kombinasi konsentrasi TDZ dan NAA pada media MS + Vitamin dari Media B5 memberikan perbedaan respon yang berbeda nyata terhadap regenerasi eksplan *embryonic axis* kedelai kultivar Rajabasa secara *in vitro*.
2. Perlakuan yang paling efektif dan efisien dalam regenerasi eksplan *embryonic axis* kedelai kultivar Rajabasa secara *in vitro* terdapat pada penggunaan TDZ $0,01 \text{ mgL}^{-1}$ + NAA 0 mgL^{-1} .
3. Metode enkapsulasi yang dilakukan terhadap eksplan hasil regenerasi belum menghasilkan kapsul yang dapat

mempertahankan *vigor* eksplan diatas 80% selama 30 HSE secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M. Maryam, Rafay, M. and Iqbal, M. 2013. Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science*, 13(4): 539-547
- Aggarwal, G., Sharma, C. Dan Srivastava, DK. 2012. Thidiazuron: a potent cytokinin for efficient plant regeneration in *Populus ciliata* Wall. using leaf explants. *Annals of Forest Research*, 55(2): 179-188.
- Arlianti, T., Syahid, SF., Kristina, NN. dan Rostiana, O. 2013. Pengaruh Auksin IAA, IBA dan NAA terhadap induksi perakaran tanaman *Stevia rebaudiana* secara *in vitro*. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 24(2): 52-62.
- Asha Rani, NS. and Prasad, MP. 2014. Auxin effect on high frequency root induction and callus generation from *Atropa belladonna*. *Indian Journal of Advantage in Plant Research*, 1(3):57-60
- Barus, J. 2013. Potensi pengembangan dan budidaya kedelai pada lahan suboptimal di lampung. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Lampung.
- Erisen, S., Atalay, E. dan Yorgancilar, Mustafa. 2011. The Effect of Thidiazuron on The *In Vitro* Shoot Development of Endemic *Astragalus cariensis* in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 35 (2011) 521-526
- Guo, B., Abbasi, BH., Zeb, A., Xu, LL., and Wei, YH. 2011. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10(45): 8984-9000
- Huang, Sh., Agrawal, DC., Wu, FS. and Tsay, HS. 2014. *In vitro* propagation of *Gentiana scabra* Bunge – an important medicinal plant in the Chinese system of medicines. *Botanical Studies*, 55-56.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K. dan Iwase, A. 2013. Plant Callus: Mechanism of induction and repression. *The Plant Cell*, 25: 3159-3173
- Ravi, D. dan Anand, P. 2012. Production and applications of artificial seeds: A Review. *International Research Journal of Biological Sciences*, 1(5):74-78.
- Redenbaugh, K., Slade, D., P.R. Viss and Kossler, M.E. 1985. *In Colloquim on Progress and Prospects in Forest and Crop Biotechnology*. F. Valentin (Ed). Springer-Verlag, Berlin.
- Reddy, M.C., Murthy, K.S.R., dan Pullaiah, T. 2012. Synthetic seeds: A review in agriculture nad forestry. *African Journal of Biotechnolog*, 11(78):14254-14275
- Sari, R. L. K. 2014. Respon pertumbuhan embrio somatik kedelai (*Glycine max*) varietas Agromulyo dan Wilis terhadap cekaman NaCl secara *in vitro*. *Paper and Presentation of Biology*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Siong, P. K., Mohajer, S., dan Taha, R. Mat. 2012. Production of artificial seeds derived from encapsulated *in vitro* microshoots of cauliflower, *Brassica oleracea* var. botrytis. *Romanian Biotechnological Letters*. 17(4):
- Suyamto dan Musalamah. 2010. Kemampuan berbunga, tingkat keguguran bunga, dan potensi hasil beberapa varietas kedelai. *Buletin Plasma Nutfah*, 16(1): 38-43

Vasile, L., Maria., Z., Eliza, A. dan Simona, V. 2013. The implications of Tiazuron (Tdz) in the induction of callus and plant regeneration in the *Dianthus Spiculifolius* Schur. Variety. *Analele Universit ii din Oradea, Fascicula Protec ia*, 21: 641-649.

Winarto, B. 2010. Peningkatan Pertumbuhan dan Regenerasi Eksplan Hasil Kultur Anther *Anthurium* melalui Perbaikan Media Kultur. *Jurnal Hortikultura*, 20(4):342-351