



**SELEKSI *IN VITRO* EKSPLAN SETENGAH BIJI KEDELAI DARI
VARIETAS TAHAN TANAH KERING MASAM MENGGUNAKAN
KANAMISIN**

Skripsi

**sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Biologi**

Oleh
Aisyah
4411410026

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2015**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, Februari 2015



Aisyah

4411410026

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Seleksi *In Vitro* Eksplan Setengah Biji Kedelai dari Varietas Tahan Tanah Kering Masam Menggunakan Kanamisin

disusun oleh

Aisyah

4411410026

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada tanggal 26 Januari 2015.

Panitia:



Sekretaris

Andin Irsadi, S.Pd., M.Si
1974310 200003 1 001

Anggota Penguji I

Dra. Lina Herlina, M.Si
19670207 199203 2 001

Anggota Penguji II

Drs. Krispinus Kedati Pukan, M.Si
19550731 198503 1 002

Anggota Penguji III/
Pembimbing

Dr. Yustinus Ulung Anggraito, M.Si
19640427 199003 1 003

ABSTRAK

Aisyah. 2015. Seleksi *In Vitro* Eksplan Setengah Biji Kedelai dari Varietas Tahan Tanah Kering Masam Menggunakan Kanamisin. Skripsi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Dr. Yustinus Ulung Anggraito, M. Si.

Kata kunci: kanamisin, kedelai, seleksi *in vitro*

Kebutuhan kedelai di Indonesia terus meningkat namun lahan pertanian subur semakin menyempit. Salah satu cara untuk meningkatkan produksi kedelai yaitu, dengan memanfaatkan lahan kering masam sebagai lahan pertanian. Kendala budidaya kedelai di lahan kering masam adalah hasil produksi yang rendah, sehingga perlu adanya varietas kedelai tahan tanah kering masam. Perakitan varietas tahan tanah kering masam dapat dilakukan dengan teknik transformasi genetik. Tahap-tahap transformasi genetik adalah infeksi, kokultivasi, seleksi, regenerasi dan aklimatisasi. Seleksi pra transformasi dapat memudahkan orang yang akan melakukan transformasi, dengan mengetahui konsentrasi antibiotik yang optimal sehingga dapat mengefisienkan proses seleksi pasca transformasi.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi kanamisin yang optimal, dan dosis lethal kanamisin, serta mengamati respon eksplan setengah biji kedelai dari varietas tahan tanah kering masam.

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober-November 2014. Eksplan yang digunakan adalah setengah biji. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor: yaitu konsentrasi kanamisin (0 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, dan 200 mg/L), dan varietas kedelai tahan tanah kering masam (Gepak kuning, Tanggamus, Gema, Grobogan, dan Burangrang). Parameter yang diamati adalah: hari muncul tunas, jumlah eksplan yang tumbuh tunas, jumlah tunas yang tumbuh, dan jumlah eksplan yang hidup.

Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi kanamisin 100 mg/L menghasilkan banyak eksplan yang bertunas dan banyak tunas yang terbentuk walaupun dalam cekaman antibiotik yang ketat. Meskipun media sudah ditambahkan BAP 4 mg/L namun tidak langsung membentuk tunas, karena energi digunakan untuk mengatasi cekaman. Berdasarkan LD_{50} (*Lethal Dosis 50%*) setiap varietas memiliki sensitivitas yang berbeda. Varietas Grobogan sensitif pada konsentrasi 100 mg/L, varietas Gema, Gepak Kuning, dan Tanggamus sensitif pada konsentrasi 150 mg/L, sedangkan varietas Burangrang sensitif pada konsentrasi 200 mg/L.

Konsentrasi kanamisin yang optimal untuk kedelai varietas tahan tanah kering masam adalah 100 mg/L. Meningkatnya konsentrasi kanamisin menyebabkan penundaan munculnya tunas, penurunan jumlah tunas, jumlah eksplan yang bertunas, dan jumlah eksplan hidup.

PRAKATA

Puji syukur senantiasa terucap kehadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga tersusunlah skripsi berjudul “Seleksi *In Vitro* Eksplan Setengah Biji Kedelai dari Varietas Tahan Tanah Kering Masam Menggunakan Kanamisin”

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar. Untuk itu ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberi izin penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Ketua jurusan biologi yang telah memudahkan administrasi penulis dalam menyusun skripsi.
4. Dr. Yustinus Ulung Anggraito, M.Si selaku dosen pembimbing sekaligus penguji III atas bimbingan, pengarahan, dan dorongannya selama ini.
5. Dra Lina Herlina, M.Si. selaku dosen penguji I, untuk waktu dan kesabaran yang sangat berarti, sehingga penulisan skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Drs. Krispinus Kedati Pukan, M.Si. selaku dosen penguji II, untuk waktu dan kesabaran yang sangat berarti, sehingga penulisan skripsi ini menjadi lebih baik.
7. Bapak Ibu dosen dan seluruh staf pengajar Jurusan Biologi, untuk ilmu yang diberikan pada penulis.
8. Mbak Tika, Mas Solikhin, dan segenap pengurus Laboratoium Biologi FMIPA UNNES atas bantuannya.
9. Keluargaku tercinta Bapak H. Tohir, Ibu Hj. Hafidzoh, Mbakku Puji Nur Faizah dan Khodijah, serta adikku Hasan dan Ni'matul Maula, dengan kasih sayang, doa dan dukungannya.
10. Kak Arif Saefurrohman, atas kasih sayang, do'a, dan dukungannya.

11. Mbak-mbak kuljar: Mbak Nida, Mbak Ambar, Mbak Osi, Mbak Umi dan Mbak Betty, terimakasih untuk kebaikan dan kesabarannya dalam membimbing selama penelitian.
12. Teman-teman botani, Biomy '10, OASE, fifeteen D-stars, dan keluarga ASWAJA, terimakasih untuk semangat, kebersamaan dalam suka maupun duka.
13. Semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Semoga segala bantuan yang telah diberikan menjadi catatan amal tersendiri di hari perhitungan kelak dan semoga Allah SWT memberi balasan yang setimpal, Amin. Semoga hasil penelitian skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca. Saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan untuk kesempurnaan skripsi ini.

Semarang, Februari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI..... | ii |
| PENGESAHAN | iii |
| ABSTRAK | iv |
| PRA KATA | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR TABEL..... | ix |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| BAB I. PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Permasalahan | 4 |
| C. Penegasan Istilah | 4 |
| D. Tujuan Penelitian | 5 |
| E. Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Botani Kedelai | 6 |
| B. Tanah Kering Masam..... | 9 |
| C. Kanamisin sebagai Penanda Seleksi | 11 |
| D. Seleksi <i>In Vitro</i> | 14 |
| BAB III. METODE PENELITIAN | |
| A. Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 17 |
| B. Variabel Penelitian | 17 |
| C. Rancangan Penelitian | 18 |
| D. Alat dan Bahan Penelitian | 18 |
| E. Prosedur Penelitian | 18 |
| F. Metode Pengumpulan Data | 20 |

| | |
|--|-----------|
| G. Analisis Data | 21 |
| BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | |
| A. Hasil Penelitian..... | 23 |
| B. Pembahasan | 30 |
| BAB V. SIMPULAN DAN SARAN | |
| A. Simpulan..... | 36 |
| B. Saran | 36 |
| DAFTAR PUSTAKA | 37 |
| LAMPIRAN-LAMPIRAN..... | 44 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Beberapa varietas kedelai berdasarkan ukuran biji | 7 |
| 2. Volume dan nilai impor kedelai tahun 2009-2012..... | 8 |
| 3. Kedelai varietas tahan tanah kering masam yang dilepas oleh BALITKABI pada Tahun 1983-2011 | 11 |
| 4. Berbagai konsentrasi kanamisin yang digunakan sebagai agen seleksi pada kedelai dan famili Leguminosae lainnya | 14 |
| 5. Pengamatan untuk semua parameter..... | 21 |
| 6. Penggunaan uji ANAVA dua jalan | 21 |
| 7. Rerata semua parameter dari berbagai varietas kedelai pada berbagai konsentrasi kanamisin | 23 |
| 8. Ringkasan uji ANAVA dua jalan untuk hari muncul tunas | 24 |
| 9. Ringkasan UJGD pada perlakuan kanamisin untuk hari muncul tunas | 24 |
| 10. Ringkasan ANAVA dua jalan untuk jumlah tunas | 25 |
| 11. Ringkasan UJGD pada perlakuan kanamisin untuk jumlah tunas | 25 |
| 12. Ringkasan UJGD pada perlakuan varietas untuk jumlah tunas | 26 |
| 13. Ringkasan UJGD pada interaksi perlakuan varietas dengan kanamisin untuk jumlah tunas..... | 26 |
| 14. Ringkasan ANAVA dua jalan untuk jumlah eksplan yang bertunas | 27 |
| 15. Ringkasan UJGD pada perlakuan varietas untuk jumlah eksplan yang bertunas | 27 |
| 16. Ringkasan UJGD pada perlakuan kanamisin untuk jumlah eksplan yang bertunas | 28 |
| 17. Ringkasan ANAVA dua jalan untuk jumlah eksplan yang hidup. | 28 |
| 18. Ringkasan UJGD pada perlakuan varietas untuk jumlah eksplan hidup..... | 29 |

| | |
|--|----|
| 19. Ringkasan UJGD pada perlakuan kanamisin untuk jumlah eksplan hidup..... | 29 |
| 20. Ringkasan UJGD pada interaksi perlakuan antara varietas dengan kanamisin untuk jumlah eksplan hidup..... | 30 |
| 21. <i>Lethal Doses</i> 50% kanamisin untuk kedelai varietas tahan tanah kering masam | 30 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Beberapa varietas kedelai dengan berbagai ukuran | 7 |
| 2. Anatomi biji dikotil | 7 |
| 3. Pengaruh pH tanah terhadap ketersediaan unsur hara | 9 |
| 4. Struktur kimia kanamisin | 11 |
| 5. Mekanisme kerja antibiotik aminoglikosida | 12 |
| 6. Proses detoksifikasi kanamisin..... | 13 |
| 7. Struktur kimia Benzilaminopurin (BAP) | 16 |
| 8. Tahap-tahap memperoleh eksplan setengah biji | 17 |
| 9. Tunas yang tumbuh dari beberapa varietas kedelai dalam berbagai konsentrasi kanamisin | 26 |
| 10. Berbagai varietas kedelai tahan tanah kering masam pada konsentrasi kanamisin 150 mg/L | 35 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Rekap pengambilan data pengaruh pemberian kanamisin terhadap hari munculnya tunas kedelai varietas tahan tanah kering masam | 43 |
| 2. Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter waktu munculnya tunas kedelai varietas tahan tanah kering masam..... | 44 |
| 3. Perhitungan hasil uji jarak berganda duncan (UJGD) untuk parameter rentang waktu muncul tunas pertama..... | 47 |
| 4. Rekap pengambilan data pengaruh pemberian kanamisin terhadap jumlah tunas kedelai varietas tahan tanah kering masam | 48 |
| 5. Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter jumlah tunas. | 49 |
| 6. Perhitungan hasil uji jarak berganda Duncan (UJGD) untuk parameter jumlah tunas | 52 |
| 7. Rekap pengambilan data pengaruh pemberian kanamisin terhadap jumlah eksplan yang bertunas | 54 |
| 8. Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter jumlah eksplan yang bertunas | 55 |
| 9. Perhitungan hasil uji jarak berganda Duncan (UJGD) untuk parameter jumlah eksplan yang bertunas | 58 |
| 10. Rekap pengambilan data pengaruh pemberian kanamisin terhadap jumlah eksplan yang hidup..... | 59 |
| 11. Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter jumlah eksplan yang hidup..... | 60 |
| 12. Perhitungan hasil uji jarak berganda Duncan (UJGD) untuk parameter jumlah eksplan yang hidup..... | 63 |
| 13. Hasil uji anava dan UJGD dengan menggunakan perangkat SPSS 17..... | 65 |
| 14. Dokumentasi hasil seleksi kedelai beberapa varietas tahan tanah kering masam pada berbagai konsentrasi kanamisin | 71 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kedelai adalah komoditas utama kacang-kacangan yang memiliki kandungan protein nabati tinggi dan merupakan andalan pangan Indonesia yang mendukung ketahanan pangan nasional. Kebutuhan kedelai terus meningkat seiring dengan meningkatnya permintaan untuk bahan industri pangan. Biji kedelai digunakan sebagai bahan pembuatan tempe, tahu, susu kedelai, tauco, dan olahan kedelai lainnya. Bertambahnya jumlah penduduk Indonesia juga menyebabkan kebutuhan kedelai meningkat seiring berkembangnya industri pangan (Rukmana & Yuniarsih 2009).

Meningkatnya kebutuhan kedelai tidak searah dengan produksi kedelai dalam negeri. Pada tahun 2012 kebutuhan kedelai di Indonesia mencapai 2,4 juta ton, namun produksi kedelai dalam negeri hanya dapat mencukupi 30% (779.800 ton) dari kebutuhan tersebut, dan sisanya 70% (1,25 juta ton) harus impor (BPS 2012). Untuk menekan laju impor kedelai dapat diupayakan melalui berbagai strategi, yaitu peningkatan produktivitas, perluasan areal tanam, peningkatan dan efisien produksi. Penggunaan varietas unggul dan penerapan teknologi budidaya dapat meningkatkan produktivitas kedelai dengan laju peningkatan 1,03% per tahun.

Lahan pertanian di Indonesia semakin menyempit dikarenakan banyaknya lahan yang digunakan sebagai pemukiman, perkantoran maupun yang lainnya. Lahan pertanian terdiri dari lahan optimal yang tergolong subur dan lahan sub optimal dengan kendala agronomis yang beragam. Penerapan teknologi budidaya pertanian mendominasi pada lahan optimal, sedangkan lahan sub optimal kurang dimanfaatkan. Oleh karena itu, untuk memenuhi kebutuhan kedelai, perluasan area tanam lebih diarahkan ke lahan sub optimal atau lahan marginal seperti lahan masam, lahan kering, atau lahan yang kesuburannya rendah (Savitri 2010). Menurut data BBSDLP (2013) Indonesia mempunyai lahan marginal yang cukup luas di antaranya adalah lahan kering masam dengan luasan mencapai $\pm 102,8$ juta

hektar di seluruh Indonesia. Lahan kering masam 67,5% dari luas total lahan pertanian tersebar di luar Jawa di antaranya di Kalimantan, Sumatra, Sulawesi, dan Papua. Lahan kering masam di Jawa di antaranya di daerah Grobogan, Banyuwangi, Cisarua, Mojokerto, dan Bantul (Mulyani 2006). Namun pengembangan pertanian di lahan kering masam mempunyai banyak kendala karena kondisi lingkungan yang kurang optimal (Harsono 2008).

Permasalahan yang dihadapi dalam budidaya kedelai di tanah masam adalah berkurangnya hasil produksi akibat lingkungan yang kurang optimal karena pH yang rendah, keracunan Al, dan rendahnya unsur hara di dalam tanah (Agustina 1990). Upaya mempercepat pemulihan lahan kering masam sudah banyak dilakukan menggunakan berbagai cara di antaranya dengan bahan amelioran seperti kapur, namun umumnya amelioran masih bersifat sementara. Selain itu dengan pengapuran area tanam, membutuhkan biaya yang mahal, serta menyebabkan pemadatan tanah dan pencucian. Oleh karena itu, mengembangkan varietas kedelai yang tahan tanah kering masam merupakan cara yang lebih tepat (Mariska *et al.* 2004). Untuk mendapatkan varietas kedelai yang tahan tanah kering masam bisa dilakukan dengan pemuliaan tanaman menggunakan teknik transformasi genetik. Teknik transformasi genetik ada dua cara yaitu transformasi genetik secara langsung dengan *particel bombardment* dan transformasi genetik menggunakan perantara *Agrobacterium* (Acquaah 2007).

Teknik transformasi genetik dengan *Agrobacterium* terdiri dari beberapa tahap yaitu infeksi, kokultivasi, seleksi, regenerasi, dan aklimatisasi (Hoa *et al.* 2008). Seleksi terhadap sel-sel transforman merupakan faktor kunci dalam keberhasilan metode yang dikembangkan untuk transformasi genetik. Seleksi bertujuan untuk memisahkan sel transforman dan sel non transforman. Seleksi sel-sel transforman dilakukan secara *in vitro* menggunakan antibiotik sebagai agen seleksi (Arencibia 2000).

Antibiotik kanamisin biasa digunakan sebagai agen seleksi dalam transformasi tanaman (Chi-Manzanero *et al.* 2010). Pada proses transformasi, gen resistensi antibiotik yang digunakan sebagai gen penanda seleksi disisipkan ke dalam vektor ekspresi. Gen *npt2* mengkode enzim *neomycin phosphotransferase2*,

yang secara ekstensif digunakan sebagai gen penanda seleksi. Enzim *neomycin phosphotransferase2* dapat mendetoksifikasi kanamisin dengan memfosforilasi gugus hidroksi dari kanamisin (Miki & Mchugh 2004). Banyak vektor ekspresi yang mengandung gen resistensi kanamisin antara lain pG10-90 mengandung gen *npt2* untuk seleksi tembakau (Garcia-Almodofar *et al.* 2013), vektor ekspresi pBILec-GFP-FAD2 yang membawa gen *npt2* untuk transformasi kedelai kultivar *Jilin 3* (Chen *et al.* 2011), p35SGUSintnptII untuk transformasi kedelai NARC-4 dengan perantara *Agrobacterium* (Zia *et al.* 2010).

Kanamisin adalah antibiotik aminoglikosida yang struktur kimianya terdiri atas satu deoxystreptamin dan dua unit glukosamin (Yu *et al.* 2003). Kanamisin berperan sebagai agen penyeleksi karena dapat membunuh sel tanaman yang tidak diinginkan melalui penghambat pertumbuhan sel tanaman dengan mengikat ribosom sub unit 40S sehingga menghambat inisiasi translasi plastid. Sel tanaman yang ditransformasi dengan gen *npt2* dapat mendetoksifikasi kelompok antibiotik dalam medium seleksi (Zhang *et al.* 2001). Famili kacang-kacangan mempunyai ketahanan alami terhadap antibiotik aminoglikosida seperti kanamisin (Christou 1994).

Ada beberapa persyaratan yang perlu diperhatikan dalam melakukan transformasi genetik, di antaranya metode seleksi yang efisien (Acquaah 2007). Seleksi pra transformasi dapat memudahkan orang yang akan melakukan transformasi, dengan mengetahui konsentrasi antibiotik yang optimal sehingga proses seleksi pasca transformasi menjadi efisien. Konsentrasi kanamisin yang terlalu rendah menyebabkan sel tanaman non transforman ada yang masih dapat tumbuh dalam medium seleksi. Konsentrasi kanamisin terlalu tinggi menyebabkan sel tanaman transforman bisa mati. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi kanamisin yang optimal pada sel tanaman yang belum ditransformasi, agar proses-proses sebelum seleksi dalam transformasi menjadi tidak sia-sia.

B. Permasalahan

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah yang diajukan adalah:

1. Berapa konsentrasi optimal antibiotik kanamisin untuk seleksi *in vitro* kedelai varietas tahan tanah kering masam?
2. Berapa *Lethal doses* 50% kanamisin untuk kedelai varietas tahan tanah kering masam?
3. Bagaimanakah respon pertumbuhan kedelai varietas tahan tanah kering masam terhadap berbagai konsentrasi antibiotik kanamisin?

C. Penegasan Istilah

1. Seleksi *In Vitro*

Seleksi *in vitro* adalah proses menyeleksi sel yang diinginkan yang dilakukan di dalam botol kultur (Bos & Caligari 2008). Seleksi *in vitro* dilakukan karena adanya agen seleksi seperti antibiotik atau herbisida. Seleksi didasarkan pada ketahanan terhadap antibiotik atau herbisida (Puchta 2003). Pada penelitian ini seleksi *in vitro* menggunakan antibiotik kanamisin.

2. Kedelai Varietas Tahan Tanah Kering Masam

Kedelai varietas tahan tanah kering masam adalah kedelai yang tahan terhadap kekeringan dan kemasaman tanah. Dalam penelitian ini menggunakan kedelai varietas tahan tanah kering masam yaitu varietas Gepak kuning, Tanggamus, Gema, Burangrang, dan Grobogan (BALITKABI 2012).

3. Kanamisin

Kanamisin adalah antibiotik aminoglikosida yang dihasilkan dari bakteri tanah *Streptomyces kanamyceticus* (The European Agency 2003). Kanamisin sering digunakan sebagai agen selektif dalam seleksi *in vitro* (Bardhan *et al.* 2012). Konsentrasi kanamisin yang digunakan sebagai agen seleksi adalah: 0, 50, 100, 150, dan 200 ppm.

D. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan perumusan masalah, tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Menentukan konsentrasi kanamisin yang optimal untuk seleksi *in vitro* kedelai varietas tahan tanah kering masam.
2. Menentukan *Lethal doses* 50% kanamisin untuk kedelai varietas tahan tanah kering masam.
3. Mengamati respon pertumbuhan kedelai varietas tahan tanah kering masam terhadap berbagai konsentrasi antibiotik kanamisin.

E. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi bagi para peneliti yang akan melakukan perakitan varietas kedelai tahan tanah kering masam melalui transformasi *Agrobacterium* dengan menggunakan gen penanda seleksi kanamisin pada tahap seleksi *in vitro*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Botani Kedelai

Pada awalnya, kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* dan *Soja max*. Namun pada tahun 1948 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima dalam istilah ilmiah, yaitu *Glycine max* (L) Merrill. Klasifikasi tanaman kedelai adalah sebagai berikut.

Phylum : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Ordo : Fabales

Famili : Fabaceae

Genus : *Glycine*

Species : *Glycine max* (L.) Merrill

(Sumber: Kristin *et al.* 2010).

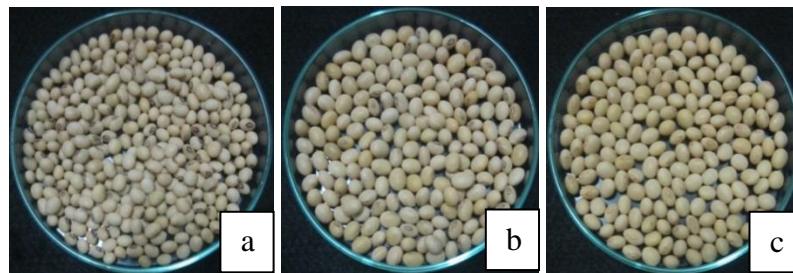
Tanaman kedelai umumnya tumbuh tegak, berbentuk semak, dan merupakan tanaman semusim. Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam, yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Kedelai memiliki empat tipe daun, yaitu kotiledon (daun biji), daun primer sederhana, daun bertiga (*trifoliolate*) dan profila. Secara umum bentuk daun kedelai ada dua, yaitu bulat (oval) dan lancip (*lanceolate*). Kedua bentuk daun tersebut dipengaruhi oleh faktor genetik. Bentuk bunga kedelai menyerupai kupu-kupu (Singh 2010).

Di dalam polong terdapat biji yang berjumlah 2-3 biji. Setiap biji kedelai mempunyai ukuran bervariasi, mulai dari kecil (sekitar 7-9 g/100 biji), sedang (10-13 g/100 biji), dan besar (>13 g/100 biji) (Tabel 1).

Tabel 1. Beberapa varietas kedelai berdasarkan ukuran biji

| Varietas | Golongan biji | Ukuran (g/100 biji) |
|--------------|---------------|---------------------|
| Gepak kuning | Kecil | 8,25 |
| Otau | Kecil | 7-8 |
| Ringgit | Kecil | 8 |
| Argomulyo | Sedang | 10,6 |
| Tanggamus | Sedang | 11 |
| Sindoro | Sedang | 12 |
| Slamet | Sedang | 12,5 |
| Anjasmoro | Besar | 14,8-15,3 |
| Ijen | Besar | 15-17 |
| Burangrang | Besar | 17 |
| Grobogan | Besar | 18,4 |

Sumber: BPTPI 2010.



Gambar 1. Beberapa varietas kedelai dengan berbagai ukuran. (a) varietas Gepak kuning, biji kecil. (b) varietas Argomulyo, biji sedang. (c) varietas Burangrang, biji besar (dok. Pribadi).

Bentuk biji bervariasi, tergantung pada varietas tanaman, yaitu bulat, agak gepeng, dan bulat telur. Namun demikian, sebagian besar biji berbentuk bulat telur. Biji kedelai terbagi menjadi dua bagian utama, yaitu kulit biji dan embrio. Pada kulit biji terdapat bagian yang disebut pusar (hilum) yang berwarna coklat, hitam, atau putih. Pada ujung hilum terdapat mikrofil, berupa lubang kecil yang terbentuk pada saat proses pembentukan biji (Rukmana & Yuniarsih 2009).



Gambar 2. Anatomi biji kedelai (dok. Pribadi).

Biji kedelai banyak mengandung protein, karbohidrat, lemak, isoflavon, dan mineral lainnya (Maxwell 2011). Oleh karena itu kedelai digunakan sebagai bahan makanan yang diolah menjadi tahu, tempe, susu, vetsin, kue-kue, tofu, susu kedelai, dan daging nabati. Selain itu, bahan industri makanan dari minyak kedelai yang digunakan berbentuk gliserida sebagai bahan untuk pembuatan minyak goreng, margarin, dan bahan lemak lainnya (Singh 2010).

Kebutuhan kedelai di Indonesia meningkat setiap tahunnya seiring dengan penambahan penduduk. Produksi dalam negeri belum dapat mencukupi kebutuhan sehingga diperlukan pasokan kedelai tambahan. Pemenuhan kebutuhan kedelai Indonesia dilakukan dengan mengimpor dari luar negeri. Impor kedelai meningkat untuk setiap tahunnya (Tabel 2).

Tabel 2. Volume dan nilai impor kedelai tahun 2009-2012

| Tahun | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 (triwulan 1) |
|----------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|
| Volume (ton) | 1.320.865 | 1.740.505 | 2.088.616 | 374.870 |
| Nilai (000 US) | 624.979 | 840.037 | 1.245.963 | 202.421 |

Sumber: Statistik Makro Sektor Pertanian. Vol. 4 No. 2 Thn. 2012. Kementerian Pertanian.

Upaya program pengembangan kedelai bisa dilakukan dengan penanaman di lahan kering masam. Namun ada masalah utama yang dihadapi dalam pengembangan budidaya kedelai di lahan kering masam yaitu rendahnya tingkat kesuburan, cekaman kekeringan pada pertanaman akhir musim hujan, gangguan hama, gulma, dan penyakit (Mulyani 2006). Masalah tersebut dapat diatasi dengan perakitan varietas kedelai tahan tanah kering masam. Perakitan varietas kedelai adaptif lahan kering masam lebih diarahkan untuk mendapatkan varietas yang toleran kemasaman tanah dan toleran kekeringan serta mempunyai sifat-sifat agronomi yang baik (tanaman kokoh, tinggi, tidak mudah rebah, polong banyak, ukuran biji besar atau sedang) (BPTPI 2010). Selain menggunakan metode persilangan, perakitan varietas kedelai dapat dilakukan dengan metode transformasi genetik (Kristin *et al.* 2010).

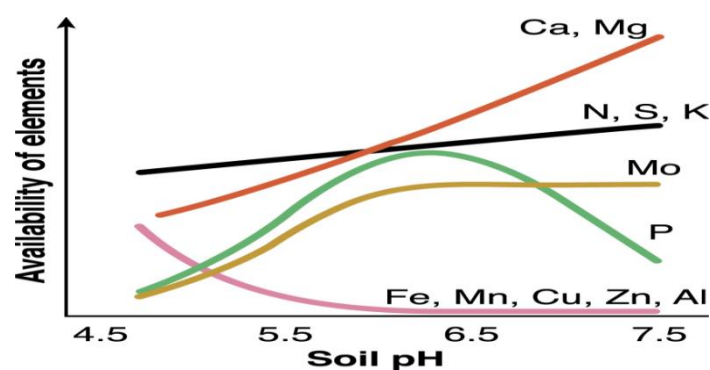
Pada transformasi genetik kedelai, eksplan yang sering digunakan adalah setengah biji (*half-seed*), buku kotiledon (*cotyledonary node*), dan *pollen tube*

(Anita *et al.* 2012, Anuradha *et al.* 2006, Shuzen 2006). Eksplan setengah biji diperoleh dari biji kedelai yang dibuang kulit arinya kemudian dibelah menjadi dua, dan aksis embrionya dihilangkan (Zia *et al.* 2010). Proses menghilangkan embrio, menyebabkan adanya luka, luka ini memberikan pintu masuk bagi *Agrobacterium* selama infeksi sehingga proses transformasi lebih efisien (Paz *et al.* 2005).

B. Tanah Kering Masam

Program pengembangan tanaman pangan di Indonesia dilakukan di lahan sub optimal (lahan kering masam, rawa, dll) dengan pertimbangan lahan sub optimal atau lahan marginal atau lahan tidak subur secara nasional masih sangat luas dan masih banyak yang belum dimanfaatkan (Barus 2013). Luas lahan kering masam di Indonesia mencapai $\pm 108,8$ juta hektar (BBSDLP 2012).

Perluasan areal tanam merupakan alternatif solusi untuk masalah ketahanan pangan nasional. Salah satu tanaman semusim yang dapat dikembangkan pada lahan-lahan sub optimal adalah kedelai (*Glycine max*). Perluasan areal tanam kedelai mempunyai prospek baik di lahan kering masam (Harsono 2008). Lahan kering didefinisikan sebagai suatu hamparan lahan yang tidak pernah digenangi atau tergenangnya air pada sebagian besar waktu dalam setahun. Secara umum, lahan kering dapat dibedakan menjadi lahan kering masam dan non masam (Mulyani 2006). Tingginya curah hujan di Indonesia menyebabkan pencucian basa-basa dalam tanah, akibatnya bereaksi masam dan kejenuhan aluminium tinggi (Barus 2013).



Gambar 3. Pengaruh pH tanah terhadap ketersediaan unsur hara (Scanlan 2013).

Pada pH rendah, tanah bereaksi menjadi masam dengan kejenuhan basa rendah, dan menunjukkan kejenuhan aluminium yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh tingginya curah hujan yang menyebabkan tingkat pencucian hara tinggi terutama basa-basa dan yang tertinggal dalam kompleks adsorpsi liat dan humus adalah ion H^+ dan Al^{3+} . Bentuk aluminium di dalam tanah berbeda-beda, tergantung pH tanah. Pada pH rendah (pH 3,5-5), aluminium berbentuk Al^{3+} yang bersifat sangat toksik bagi tanaman (Suharsono 2005).

Keracunan Al merupakan faktor pembatas utama bagi pertumbuhan tanaman di lahan asam. Toksisitas Al menyebabkan penghambatan pemanjangan akar (Hock & Elstner 2005). Selain kemasaman tanah, kekeringan juga merupakan cekaman bagi tanaman. Pada saat kekeringan, sebagian stomata daun menutup sehingga terjadi hambatan masuknya CO_2 dan menurunkan aktivitas fotosintesis. Cekaman kekeringan juga menghambat sintesis protein dan dinding sel tanaman (Salisbury & Ross 1995). Toksisitas Al dan kekeringan adalah dua kendala utama dalam produksi tanaman di dunia, terutama di daerah tropis. Gejala utama fitotoksisitas Al adalah penghambatan pertumbuhan akar karena terbatasnya nutrisi dan serapan air, sedangkan kekeringan berpengaruh dalam pertumbuhan tunas. Oleh karena itu, dalam pemuliaan tanaman untuk ketahanan kekeringan harus dikombinasikan dengan ketahanan Al, agar dapat melengkapi bahwa tanaman tahan kekeringan juga dapat ditanam pada tanah masam (Yang *et al.* 2012).

Menurut Mulyani (2006), keberhasilan usahatani tanaman pangan di beberapa lahan kering masam disebabkan komponen penting yang satu sama lain saling terkait dan tidak dapat dipisahkan, di antaranya adalah kondisi lahan dan iklim, teknologi budidaya, tersedianya saprotan, pengelolaan pascapanen, jaminan pasar, modal, kebiasaan petani, kelembagaan (kelompok tani dan penyuluh), dan jenis komoditas yang diusahakan.

Pertanian di lahan kering masam umumnya menghadapi masalah keracunan Al dan ketersediaan hara rendah bagi tanaman sehingga untuk mengatasinya diperlukan varietas yang toleran sebagai teknologi budidaya pada agroekosistem lahan kering masam (Mariska *et al.* 2004). Varietas tahan tanah

kering masam ini lebih diarahkan untuk mendapatkan varietas yang toleran kekeringan dan toleran kemasaman tanah serta memiliki sifat-sifat agronomi yang baik (BPTPI 2010). Ada beberapa kedelai varietas unggul yaitu varietas kedelai tahan tanah kering masam yang dilepas oleh Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI) Malang pada tahun 2012, yaitu Wilis, Kaba, Sinabung, Ijen, Tanggamus, Burangrang, Anjasmoro, Argomulyo, Detam 1, Gepak Kuning, Grobogan (BALITKABI 2012).

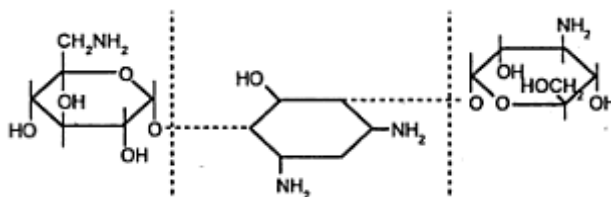
Tabel 3. Kedelai varietas tahan tanah kering masam yang dilepas oleh BALITKABI pada Tahun 1983-2011

| Nama Varietas | Tahun Dilepas | Umur Masak (Hari) | Kadar Protein (%) | Kadar Minyak (%) | Potensi Hasil (ton/ha) |
|---------------|---------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------------|
| Wilis | 1983 | 85-90 | 37 | 18 | 1,6 |
| Argomulyo | 1998 | 80-82 | 39,4 | 20,8 | 1,5-2 |
| Burangrang | 1999 | 80-82 | 39 | 20 | 1,6-2,5 |
| Sinabung | 2001 | 88 | 46 | 13 | 2,16 |
| Kaba | 2001 | 85 | 44 | 8 | 2,13 |
| Tanggamus | 2001 | 88 | 44,5 | 12,9 | 1,22 |
| Anjasmoro | 2001 | 82,5-92,5 | 42,78-42,05 | 17,21-18,60 | 2,03-2,25 |
| Ijen | 2003 | 83 | 36,4 | 13,2 | 2,15-2,49 |
| Detam 1 | 2008 | 84 | 45,36 | 33,06 | 3,45 |
| Gepak Kuning | 2008 | 73 | 35,38 | 15,10 | 2,86 |
| Gema | 2011 | 73 | 39,07 | 19,11 | 3,06 |
| Grobogan | 2008 | 76 | 43,9 | 18,4 | 3,4 |

Sumber: Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (BALITKABI 2012).

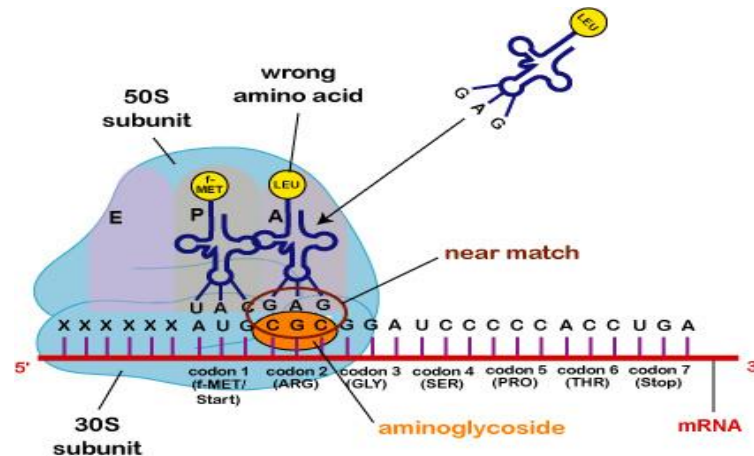
C. Kanamisin sebagai Penanda Seleksi

Kanamisin merupakan antibiotik aminoglikosida, yang berasal dari bakteri tanah *Streptomyces kanamycetious*. Struktur kimia kanamisin terdiri atas tiga unit senyawa, yaitu 6-D-glukosamina, 1,3-diamino-4,5,6-tri-hidroksi sikloheksana dan 3-D-glukosamina (Sumarjo 2009), digambarkan pada Gambar 5.



Gambar 4. Struktur kimia kanamisin (Sumarjo 2009).

Pada konsentrasi tertentu antibiotik ini dapat menghambat pertumbuhan sel tanaman (non transgenik) melalui penghambatan sintesis protein dalam kloroplas (Laine *et al.* 2000). Penghambatan juga terjadi di mitokondria dengan mengikat ribosom sub unit 40S sehingga menghambat inisiasi translasi plastid, dan akhirnya tanaman mengalami etiolasi dan mati (Bardhan *et al.* 2012).



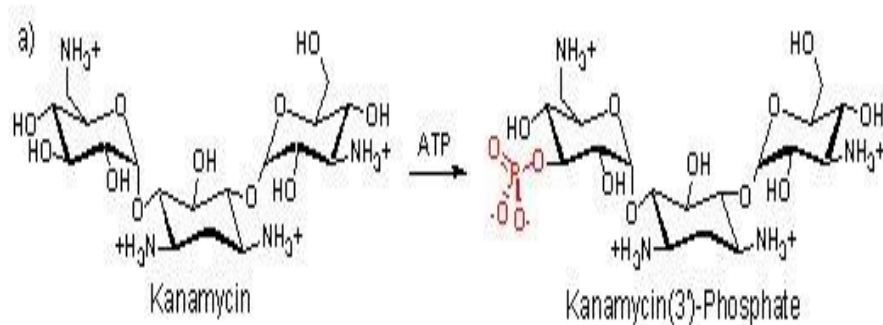
Gambar 5. Mekanisme kerja antibiotik aminoglikosida (Abdul *et al.* 2011).

Abdul *et al.* (2011) menjelaskan antibiotik aminoglikosida mengikat pada ribosom subunit kecil sehingga dapat menyebabkan kesalahan asam amino, mekanisme ini terjadi pada sel prokaryot (Gambar 6). Menurut Bahrapour *et al.* (2012) mekanisme kerja penghambatan kanamisin dengan mengikat 18S rRNA dari 40S ribosom sub unit dan menghambat Bergeraknya ribosom, kemudian diikuti penghentian sintesis protein dan enzim yang terlibat dalam fotosintesis sehingga mengurangi pigmen fotosintetik.

Penggunaan gen penanda resisten antibiotik yang spesifik, akan menghasilkan sel-sel yang mengandung gen resistensi antibiotik yang dapat hidup di media yang mengandung agen seleksi. Resistensi terhadap agen seleksi dapat terjadi melalui salah satu dari tiga macam mekanisme yaitu (1) detoksifikasi oleh enzim, (2) pengurangan afinitas suatu target terhadap agen seleksi, dan (3) ekspresi berlebih suatu target tipe alami (Altman 1998; Yuwono 2006). Antibiotik yang sering digunakan sebagai agen seleksi adalah kanamisin dan gen penanda seleksi kanamisin adalah gen *npt2* (Arencibia 2000) karena banyak vektor plasmid biner yang mengandung gen resistensi kanamisin di antaranya p35SGUSintnptII yang digunakan Zia *et al.* (2010) untuk transformasi kedelai

NARC-4 perantara *Agrobacterium*, vektor pBINm-gfp5-ER pada transformasi *Astaragalus sinicus* (Cho & Jack 2002).

Sel tanaman yang ditransformasi dengan gen *npt2* dapat mendetoksifikasi kelompok antibiotik dalam medium seleksi (Zhang *et al.* 2001). Gen *npt2* atau gen *aphA2* atau *aph* (3')II menyandi enzim *neomycin phosphotransferase* (NPT2). Enzim *neomycin phosphotransferase* diisolasi dari transposon (Tn5) bakteri. Enzim ini dapat mendetoksifikasi kelompok antibiotik aminoglikosida seperti kanamisin dan genetisin, dengan cara memfosforilasi gugus hidroksi spesifik (Yong *et al.* 2006). Menurut Kestell (2012) adanya gen *npt2* dapat menonaktifkan antibiotik dengan fosforilasi gugus 3'-OH dari kanamisin.



Gambar 6. Proses detoksifikasi kanamisin (Arya 2007).

Proses fosforilasi gugus 3'-OH pada kanamisin akan membentuk kanamisin(3')-fosfat (Gambar 7). Produk detoksifikasi ini tidak mampu lagi mengikat ribosom (Arya 2007).

Tabel 4. Berbagai konsentrasi kanamisin yang digunakan sebagai agen seleksi pada kedelai dan famili Leguminosae lainnya.

| Sumber | Tanaman | Varietas | Jenis eksplan | Antibiotik |
|-----------------------------|-------------------------------------|--|--------------------------|--------------------|
| Zia <i>et al.</i> 2010 | Kedelai | NARC-4 dan NARC-7 | <i>Half-seed</i> | Kanamisin 30 ppm |
| Anita <i>et al.</i> 2012 | Kedelai | cv. JS335 | <i>Half-seed</i> | Kanamisin 125 ppm |
| Anuradha <i>et al.</i> 2006 | <i>Arachis hypogea</i> | JL-24 | <i>Cotyledonary-node</i> | Kanamisin 150 ppm. |
| Cho & Jack .2002 | Legume <i>Astragalus sinicus</i> | cv. Japan (Yutoubansei Renge; Takayama Seed, Kyoto, Japan) | Kotiledon | Kanamisin 75 ppm |
| Pardal <i>et al.</i> 2004 | Kedelai | Wilis dan tidar | Kotiledon muda | Kanamisin 200 ppm |
| Yi & Denyu. 2006 | Kedelai | Nannong88-1, Nannong18-6, Yu23 dan Nannong 87C-38 | <i>Cotyledonary-node</i> | Kanamisin 40 ppm |

Konsentrasi kanamisin yang optimal untuk seleksi pada famili Leguminosae adalah 30-200 ppm dengan menggunakan eksplan kotiledon (Tabel 3).

Dosis lethal merupakan dosis suatu zat yang diberikan ke makhluk hidup sehingga dapat menyebabkan kematian. Dosis lethal biasanya dinyatakan sebagai *Lethal Doses 50%* (LD_{50}). LD_{50} adalah dosis suatu senyawa yang dapat menyebabkan kematian makhluk hidup sebanyak 50%. LD_{50} merupakan suatu harga perhitungan yang menggambarkan estimasi yang paling baik dari dosis yang diperlukan untuk menimbulkan kematian pada 50% makhluk hidup yang diuji, karena selalu disertai dengan suatu perkiraan jarak dari kesalahannya seperti probabilitas kisaran nilainya (Loomis 1978).

D. Seleksi *In Vitro*

Teknik transformasi genetik terdapat dua cara dalam mentransfer gen ke sel inang yaitu secara langsung dengan partikel bombardmen dan tak langsung dengan perantara *Agrobacterium*. Transformasi genetik dengan *particel*

bombardment dilakukan dengan menembakkan DNA target ke sel utuh. Syarat untuk melakukan transformasi adalah system regenerasi yang efisien, menentukan sel yang mudah ditransformasi, dan metode seleksi yang efisien (Acquaah 2007).

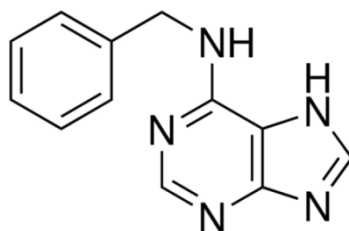
Pada teknik transformasi genetik dengan menggunakan *Agrobacterium*, tahap seleksi dilakukan untuk memisahkan sel atau jaringan yang tertransformasi dengan sel atau jaringan nontransforman (Kutsokon *et al.* 2013). Menurut Verma *et al.* (2013) seleksi *in vitro* dilakukan dengan menerapkan agen seleksi dalam media kultur atau dengan pemberian kondisi khusus. Agen seleksi yang biasa digunakan dalam seleksi pada tanaman yaitu antibiotik seperti kanamisin. Pada transformasi genetik diperlukan metode seleksi yang efisien dengan mengetahui konsentrasi agen seleksi yang optimal, sehingga mendapatkan sel-sel transforman yang diinginkan (Acquaah 2007).

Seleksi *in vitro* didasarkan pada sifat resistensi terhadap antibiotik. Gen penanda dalam seleksi *in vitro* digunakan untuk membantu menemukan sel tanaman yang diinginkan. Gen penanda seleksi memberi resistensi terhadap agen seleksi. Selain itu gen penanda seleksi juga untuk meningkatkan regenerasi sel transforman setelah transformasi (Puchta 2003). Gen resistensi antibiotik kanamisin yang digunakan untuk seleksi sel tanaman yang tertransformasi adalah *npt2* dan *aph2* (Australian Government 2012). Gen *Npt2* menyandi enzim *neomycin phosphotransferase* yang dapat mendetoksifikasi antibiotik aminoglikosida seperti kanamisin dengan cara fosforilasi gugus hidroksil pada bagian amino-heksosa (Miki & McHugh 2004). Pada famili kacang-kacangan seperti kedelai mempunyai ketahanan alami terhadap antibiotik aminoglikosida seperti kanamisin, hal ini yang menyebabkan tahap seleksi menjadi lebih efisien (Christou 1994).

Dasar seleksi *in vitro* adalah teknik kultur *in vitro*. Teknik kultur jaringan adalah teknik isolasi bagian tumbuhan yang ditumbuhkan pada media buatan yang steril sehingga eksplan mampu beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain 2009). Medium merupakan salah satu faktor yang penting dalam kultur jaringan. Media tumbuh dalam kultur jaringan harus dapat memenuhi kebutuhan eksplan. Media MS merupakan media yang sering

digunakan sebagian besar spesies tumbuhan. Keberhasilan kultur jaringan bergantung pada berbagai faktor diantaranya genotip eksplan, zat pengatur tumbuh (ZPT) dan jenis eksplan yang digunakan (Bhojwani & Razdan 1996).

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik yang disintesis oleh tumbuhan yang mempengaruhi proses fisiologis. Dalam kultur jaringan, ada dua golongan ZPT yang penting yaitu sitokinin dan auksin (Mineo 1990). Interaksi dan rasio antara ZPT endogen dengan ZPT dalam media berpengaruh dalam menentukan arah perkembangan eksplan. Konsentrasi auksin lebih tinggi dibandingkan sitokinin akan menyebabkan pembentukan akar, konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibanding auksin akan menginduksi pembentukan tunas, sedangkan konsentrasi auksin yang seimbang dengan konsentrasi sitokinin akan memicu terbentuknya kalus (Van 2009). Sitokinin sintesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah benzilaminopurin (BAP).



Gambar 7. Struktur kimia benzilaminopurin (BAP) (Silva 2012).

Sitokinin merupakan ZPT yang mendorong pembelahan sel (sitokinesis). Sitokinin merangsang terjadinya pembelahan mitosis pada meristem lateral. Peningkatan pembelahan tersebut mempercepat pembentukan jaringan pengangkut pada tunas samping sehingga tunas samping mendapatkan energi hasil metabolisme (Taiz & Zeiger 2010). Pengangkutan hasil metabolisme akan memenuhi kebutuhan energi untuk pembelahan sel. Sitokinin menyebabkan sel-sel korteks bersifat meristematik dan aktif membelah. Proses pembelahan sel dipengaruhi oleh *Cyclin-dependent kinase* (CDK), enzim yang berperan pada pembelahan sel. CDK mempengaruhi peralihan fase dari G_1 ke S dan G_2 ke M (Pereira *et al.* 2012).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober-November 2014.

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi antibiotik kanamisin (0, 50, 100, 150, dan 200 ppm) dan varietas kedelai (varietas Gepak kuning, Tanggamus, Gema, Burangrang, dan Grobogan).

2. Variabel Terikat

Variabel terikatnya adalah pertumbuhan eksplan, dengan parameter pengamatan: jumlah eksplan yang hidup, hari munculnya tunas, jumlah eksplan yang mampu bertunas, dan jumlah tunas yang terbentuk.

3. Variabel Kendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Media tanam, yaitu media MS padat yang ditambahkan BAP 4 mg/L dan vitamin B5 1 mg/L.
- b. Suhu ruang tanam dan ruang inkubasi 25⁰-26⁰C.
- c. Pencahayaan dengan lampu TL 40 Watt.
- d. Eksplan setengah biji, diperoleh dari biji kedelai yang dibuang kulit arinya kemudian dibelah menjadi dua, dan aksis embrionya dihilangkan.



Gambar 8. Tahap-tahap memperoleh eksplan setengah biji (dok. Pribadi)

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi antibiotik kanamisin yang terdiri dari lima taraf yaitu 0, 50, 100, 150, dan 200 mg/L. Faktor kedua adalah varietas kedelai tahan tanah kering masam yang terdiri dari lima varietas yaitu Gepak kuning, Tanggamus, Gema, Burangrang, dan Grobogan. Varietas-varietas ini memiliki ukuran biji yang berbeda-beda. Varietas Gepak kuning mempunyai ukuran biji kecil (8,5 g/100 biji), varietas Tanggamus dan Gema mempunyai ukuran sedang (11-12 g/100 biji), varietas Grobogan dan Burangrang bijinya berukuran besar (18 g/100 biji dan 17 g/100 biji).

Dari faktor tersebut didapatkan 5 (konsentrasi kanamisin) x 5 (varietas) x 3 (ulangan) = 75 botol yang diamati. Ulangan tersebut diperoleh dengan rumus: (Perlakuan-1) x Ulangan \geq 15 (Zulkarnain 2009). Satu unit percobaan adalah satu botol kultur yang berisi lima eksplan.

D. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi: *laminar air flow* (LAF), autoklaf, rak kultur, almari es, alat tanam (pisau tanam dan pinset), pH meter, neraca analitik, mikropipet, bunsen, petridish, alat-alat gelas (gelas ukur, gelas beker, erlenmeyer, tabung reaksi, botol ukur, pengaduk, botol-botol tempat media) dan membran syringe filter.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah media MS Caisson, alkohol 70%, vitamin B5, BAP, antibiotik kanamisin, sukrosa, agar, aquades, Natrium hipoklorit, kinetin, kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill dengan varietas Gepak kuning, Tanggamus, Gema, Burangrang, dan Grobogan.

E. Prosedur Penelitian

1. Membuat larutan kanamisin

Membuat larutan stok kanamisin 100 mg/ml dengan cara 1 gram kanamisin dilarutkan dalam aquades steril sampai 10 ml. Perlakuan

konsentrasi kanamisin 50 mg/L, dilakukan dengan mengambil 500 mikroliter larutan stok kanamisin untuk 1 liter media. Perlakuan konsentrasi kanamisin 100 mg/L, dilakukan dengan mengambil 1000 mikroliter larutan stok kanamisin untuk 1 liter media dan seterusnya.

2. Membuat media

- a. Membuat media MS satu liter, dengan menimbang media (Caisson) sebanyak 4,33 gram/L, ditambah vitamin B5 1 ml/L dari stok 1000X dan BAP 4 ml/L dari stok 1 ppm. Kemudian ditambahkan sukrosa sebanyak 30 gram/L.
- b. Mengukur pH larutan media MS menggunakan pH-meter. Apabila pH terlalu asam maka perlu ditambahkan NaOH 10% dan bila terlalu basa ditambahkan larutan HCl 10% hingga pH nya 5,8-6.
- c. Larutan dimasak hingga mendidih dan ditambah agar-agar 7 gram/L, kemudian aduk terus sampai homogen.
- d. Sterilisasi media dengan memasukkan erlenmeyer yang sudah berisi media ke dalam autoklaf. Media disterilkan pada suhu 121⁰C dan dipertahankan selama 20 menit.
- e. Membuat larutan kanamisin pada berbagai konsentasi dengan cara melarutkan kanamisin stok dengan pelarut akuades. Kemudian disterilisasi dengan syringe filter dengan ukuran 0,22 mikrometer.
- f. Mengambil media dan memasukkan ke dalam LAF. Didinginkan sampai suhu 50⁰ C. Menambah kanamisin yang sudah disterilkan dengan filter ke dalam media MS sesuai dengan konsentrasi perlakuan.
- g. Menuangkan media ke dalam botol-botol kultur dan menutupnya dengan penutup botol.

3. Sterilisasi eksplan

Biji kedelai direndam dalam larutan alkohol 70% dan dikocok selama 10 menit. Larutan alkohol 70% dibuang dan diganti dengan 5,25% NaClO dan dikocok selama 10 menit. Bilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali dengan cara mengganti 5,25% NaClO dengan akuades steril. Proses sterilisasi eksplan dilakukan di dalam LAF.

4. Penanaman eksplan pada medium

Setelah biji kedelai disterilisasi, biji diimbibisi selama 24 jam. Kemudian biji dikupas kulit arinya dengan menggunakan pinset dan pisau tanam lalu ditiriskan di atas tisu steril. Biji yang sudah ditiriskan, ditanam dengan posisi sisi *abaxial* di bawah dan ujung distal sedikit ditancapkan dalam media kultur. Botol medium ditutup dan di sekitar tutup botol dilapisi plastik sil untuk menghindari kontaminasi. Botol diberi label yang berisi perlakuan, varietas, dan ulangan.

E. Metode Pengumpulan Data

Pengambilan data dilakukan dengan cara mengamati satu per satu *plantlet* yang telah ditanam. Parameter yang diamati antara lain:

- a. Hari muncul tunas, dihitung mulai hari penanaman hingga muncul tunas minimal setinggi 0,5 cm.
- b. Jumlah eksplan yang tumbuh tunas. Eksplan yang tumbuh tunas minimal setinggi 0,5 cm dihitung mulai awal penanaman dan data diambil setiap seminggu sekali selama penelitian.
- c. Jumlah tunas yang tumbuh. Tunas yang tumbuh dalam satu botol kultur dihitung setiap seminggu sekali selama penelitian (satu bulan).
- d. Jumlah eksplan yang hidup. Eksplan yang hidup atau eksplan yang tidak berwarna coklat-kehitaman dihitung sejak awal penanaman selama satu bulan. Eksplan yang hidup merupakan eksplan yang tahan terhadap antibiotik kanamisin, eksplan berwarna kehijauan.

Tabel 5. Pengamatan untuk semua parameter

| Taraf Perlakuan | Jumlah eksplan yang hidup | | | | | Jumlah eksplan yang bertunas | | | | | Jumlah Tunas | | | | | Hari muncul tunas | | | | |
|--------------------|------------------------------|---|---|---|---|---------------------------------|---|---|---|---|--------------|---|---|---|---|----------------------|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| V1K0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V1K1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V1K2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V1K3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V1K4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V1K5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V2K0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V2K1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| V2K2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Dst | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Keterangan:

V (1,2,3,4, dan 5) : Varietas kedelai Gepak kuning, Tanggamus, Gema, Grobogan, dan Burangrang.

K (1,2,3,4,dan 5) : Konsentrasi kanamisin 0, 50, 100, 150, dan 200 mg/L.

F. Analisis Data

Data dianalisis dengan ANAVA dua jalur menggunakan perangkat SPSS versi 21 pada aras probabilitas 0,05 untuk melihat pengaruh perlakuan. Apabila hasil uji ANAVA dari setiap perlakuan signifikan, maka dilakukan uji lanjut menggunakan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan tingkat kepercayaan 95% untuk menganalisis perbedaan pengaruh antar kombinasi taraf perlakuan (Gomez & Gomez 1995).

Tabel 6. Penggunaan uji Anava dua jalan

| Sumber Variasi | Db | JK | KT | Fh | F _{tab} ($\alpha = 5\%$) | F _{tab} ($\alpha = 1\%$) |
|-----------------|----|----|----|----|--|--|
| A | | | | | | |
| B | | | | | | |
| Interaksi A x B | | | | | | |
| Total | | | | | | |

Keterangan:

A = varietas kedelai

B = konsentrasi kanamisin

db = derajat bebas

JK = jumlah kuadrat

KT= kuadrat tengah

Fh = faktorial hitung

Jika nilai F hitung > dari F tabel maka hasilnya signifikan atau berbeda nyata, sebaliknya jika nilai F hitung < F tabel maka hasil tidak signifikan. Bila hasilnya signifikan, diteruskan dengan Uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan tingkat kepercayaan 95% (Gomez & Gomez 1995), untuk mengetahui perbedaan antar kombinasi taraf perlakuan.

Adapun tahapan dalam melakukan uji DMRT adalah sebagai berikut.

1. Menghitung $s_{\bar{d}}$

$$s_{\bar{d}} = \sqrt{\frac{2s^2}{r}}$$

Keterangan:

s^2 = KT galat

r = Banyaknya ulangan

2. Menghitung nilai wilayah jarak ganda Duncan

$$R_p = \frac{(r_p)(s_{\bar{d}})}{\sqrt{2}}$$

Keterangan:

r_p = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Selisih < rerata = tidak berbeda, notasi sama

Selisih > rerata = berbeda nyata, notasi berbeda

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan uraian hasil dan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa setiap varietas memiliki respon dan sensitivitas yang berbeda-beda pada perlakuan berbagai konsentrasi kanamisin. Pada parameter jumlah tunas dan jumlah eksplan yang mampu bertunas, konsentrasi kanamisin yang optimal untuk seleksi *in vitro* kedelai varietas tanah kering masam adalah 100 mg/L. Berdasarkan LD₅₀ (*Lethal Doses 50%*) setiap varietas memiliki sensitivitas yang berbeda, varietas Burangrang sensitif pada konsentrasi 200 mg/L, varietas Gema, Gepak Kuning, dan Tanggamus sensitif pada konsentrasi 150 mg/L, sedangkan varietas Grobogan sensitif pada konsentrasi 100 mg/L.

Respon eksplan kelima varietas kedelai tahan tanah kering masam terhadap meningkatnya konsentrasi kanamisin menunjukkan penundaan munculnya tunas, penurunan jumlah tunas dan jumlah eksplan yang mampu membentuk tunas. Semakin meningkatnya konsentrasi antibiotik kanamisin menyebabkan semakin sedikit eksplan yang mampu bertahan hidup.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang multiplikasi tunas dari hasil seleksi *in vitro* kedelai varietas tahan tanah kering masam eksplan biji setengah menggunakan kanamisin.
2. Posisi eksplan saat penanaman perlu diperhatikan. Posisi eksplan yang benar adalah ujung proksimal sedikit terbenam di dalam media, karena ujung proksimal memiliki sifat membelah yang lebih tinggi dibandingkan ujung distal.

DAFTAR PUSTAKA

- [BALITBANGTAN] Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Kedelai*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- [BALITKABI] Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. 2012. *Teknologi Produksi Kedelai untuk Lahan Sawah, Lahan Kering Masam, dan Lahan Pasang Surut Tipe C dan D – Varietas Unggul Kedelai*. www.bal itkabi.litbang.deptan.go.id
- [BBSDL P] Balai Besar Litbang Sumber Daya Lahan Pertanian. 2013. Model pertanian ramah lingkungan lahan kering masam. www.litbang.deptan.go.id [diakses tanggal 18 November 2013].
- [BPS] Badan Pusat Statistik No.43/07/Th.XV, 2 Juli 2012. Produksi padi, jagung, dan kedelai (Angka Tetap 2011 dan Angka Ramalan 2012). www.deptan.go.id. [diakses tanggal 10 Maret 2013]
- [BPTPI] Bank Pengetahuan Tanaman Pangan Indonesia. 2010. Varietas unggul kedelai adaptif lahan sawah, lahan kering masam dan lahan rawa pasang surut. www.deptan.go.id [diakses tanggal 6 Agustus 2012].
- Abdul RAS, Muhammad SM, Hau KC, Ee DC, Wan ZW, Raskitar N. 2011. An illustrated review about aminoglycosides. *J Webmed Central Pharm Sci*. 2(12):2744-2760
- Acquaah G. 2007. *Principle of Plant Genetic and Breeding*. Australia: Blackwell hal: 236-237
- Agustina S. 1990. *Nutrisi Tanaman*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Altman A. 1998. *Agricultural Biotechnology*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Anita R, Verma K & Saini R. 2012. Recovery of fertile transgenic plants via *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation in India soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivar JS335. *Indian J Gene Plant Breeding*. 72 (3): 325-331.
- Anuradha TS, Jami SK, Datla RS. & Kirti PB. 2006. Genetic transformation of peanut (*Arachis hypogea* L.) using cotyledonary node as explant and a promoterless fusion gene based vector. *J. Biosci*. 31(2):235-246.
- Arencibia AD. 2000. *Plant Genetic Engineering Toward The Third Millennium*. Cuba: Elseveir.

- Arya DP. 2007. *Aminoglycoside Antibiotics from Chemical Biology to Drug Discovery*. America: Wiley.
- Australian Government. 2012. *Risk Assessment Reference: Marker Genes in GM Plants*. Australia: Department of Health and Ageing Office of the Gene Technology Regulator.
- Bahrampour S, Majid S, Bahram B. 2012. Assessment and determination of optimum concentration of streptomycin and kanamycin as selective agents in peppermint (*Mentha piperita* L.) transformation. *Agro Plant Prod.* 3(6) 196-201.
- Bardhan SK, Sharma C, & Srivastava DK. 2012. Effect of kanamycin on growth of hypocotyl tissue of brinjal (*Solanum melongena* L. Cv. Pusa Purple Long). *Cell Tissue Res.* 12(3) 3383-3386.
- Barus J. 2013. Potensi pengembangan dan budidaya kedelai pada lahan suboptimal di Lampung. Dalam: *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. Palembang 20-21 September 2013.
- Bhojwani SS & Razdan MK. 1996. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice, a Revised Editor*. Amsterdam: Elsevier.
- Bos I & Caligari P. 2008. *Selection in Plant Breeding*. Netherland. Springer.
- Chen W, Song K, Cai Y, Li W, Liu B & Liu L. 2011. Genetic modification of soybean with a novel grafting technique: downregulating the *FAD2-1* gene increases oleic acid content. *Plant Mol Biol Rep.* 29: 866-874.
- Chi-Manzanero BH, POM Acereto-Escoffie, E Castano, LC Rodriguez-Zapata. 2010. Optimal concentration of kanamycin as a selective agent for the transformation of *Musa* cv "Grand Nain". *Univ Y Ciencia Trop Humedo* 26(1): 115-119.
- Cho H & Jack MW. 2002. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of the legume *Astragalus sinicus* using kanamycin resistance selection and green fluorescent protein expression. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 69: 251-258.
- Christou P. 1994. The biotechnology of crop legumes. *Euphytica.* 74: 165-185.
- Dong C, Wensheng H, Shikui S, Hongbo S, Cunxiang W, Yongsheng G, Tianfu H. 2009. Assessment of conditions affecting *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of soybean. *Plant Cell Tissue Organ Cult* . 96: 45-52.
- Duque ASRLA, Susana DSA, Dulce MMFDS & Manuel PSF. 2004. Optimisation of a selection scheme using kanamycin to improve transformation of

- Medicago truncula* cv. Jemalong. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 78: 277-280.
- Eyidogan MTOZ, Yucel M, & Oktem HA. 2009. Optimized selection and regeneration conditions of *Agrobacterium*-mediated transformation of Chickpea cotyledonary nodes. *Pak J Bot.* 41 (4): 2043-2054.
- Fitter HA dan Hay RKM. 1992. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Yogyakarta: Gajah Mada Press.
- Garcia-Almodofar RC, Petri C, Padilla IMG & Burgos. 2013. Combination of site-specific recombination and a conditional selective marker gene allows for the production of marker-free tobacco plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* Original Paper.
- Ghosh G, Purohit A, Ganguly S, Chaudhuri RK, & Chakraborti D. 2014. *In vitro* shoot grafting on rootstock: An effective tool for *Agrobacterium*-mediated transformation of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). *Plant Biotechnol.* 31(1): 301-308.
- Gomez KA dan AA Gomez. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian* Ed.2. Terjemahan Endang S. & Justika S. B. Jakarta: UI Press.
- Harsono A. 2008. Strategi pencapaian swasembada kedelai melalui perluasan areal tanam di lahan kering masam. *Iptek Tanaman Pangan.* 3 (2): 244-257.
- Hoa TTC, Hai TV & Thang LC. 2008. Transformation efficiencies of the soybean variety PC 19 [*Glycine max* (L.) Merrill] using *Agrobacterium tumefaciens* and the cotyledonary node method. *Omonrice* 16: 1-8.
- Hock B. & Elstner EF. 2005. *Plant Toxicology*. New York: Marcel Dekker.
- Kementerian Pertanian. 2012. Statistik Makro Sektor Pertanian. Jakarta: Kementerian Pertanian. http://pusdatin.setjen.deptan.go.id/tinymcpuk/gambar/file/Statistik_Makro_2012.pdf. [25 November 2013].
- Kestell D, Lai S, Liang G, Waters S, Wladichuk A. 2012. Effects of kanamycin and streptomycin on the macromolecular composition of streptomycin-sensitive and resistant *Escherichia coli* strains. *J Exp Microbio Immunol (JEMI)*. 2:103-108.
- Kristin B, Millind BR, & Chittaranjan K. 2010. *Genetics, Genomics and Breeding of Soybean*. USA: Science publisher.
- Kumar T, Khan MR, Jan SA, Ahmad N, Ali N, Zia MA, Bahadur A, dan Ali GM. 2014. Optimization of factors affecting *Agrobacterium* mediated

transformation in sugarcane through axillary buds with *AVPI* gene against drought and salinity. *Europ Acad Res*. 11 (2):2308-2327.

- Kutsokon N, Libantova J, Rudas V, Rashydov N, Grodzinsky D, Durechova D. 2013. Advancing protocols for poplars *in vitro* propagation, regeneration, and selection of transformants. *J Microbiol, Biotechnol Food Sci* 2 (1): 1447-1454.
- Laine E, Lamblin F, Lacaoux F, Dupre P, Roger D, Shikachakr D. & David A. 2000. Gelling agent influences the detrimental effect of kanamycin on adventitious budding in flax. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 63: 77-80.
- Loomis TA. 1978. *Essentials of Toxicology*. Henry Kimpton Publisher. London.
- Mamidala P & Nanna RS. 2009. Influence of antibiotics on regeneration efficiency in tomato. *Plant Omics J*. 2(4): 135-140.
- Mariska I, Sjamsudin E, Sopandie D, Hutami S, Husni A, Kosmiatin M, & Vivi NA. 2004. Peningkatan ketahanan tanaman kedelai terhadap aluminium melalui kultur *in vitro*. *J. Litbang Pertanian*. 23 (2): 46-52.
- Maxwell JE. 2011. *Soybean Cultivation, Uses and Nutrition*. New York: Nova Science Publisher.
- Miki B & Mchugh S. 2004. Selectable marker genes in transgenic plants: application, alternatives and biosafety. *J. Biotech Rev*. 107: 193-232.
- Mineo L. 1990. Plant tissue culture technique. Dalam: *Prosiding Workshop kesebelas Assocoation for Biology Laboratory Education*. 11: 151-174.
- Mulwa RSM, Norton MA, Farrand SK & Skirvin RM. 2007. *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration of transgenic 'Chancellor' wine grape plants expressing the *tfdA* gene. *Vitis* 46(3): 110-115.
- Mulyani, A. 2006. *Perkembangan Potensi Lahan Kering Masam*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Sinar Tani Edisi 24-30 Mei 2006.
- Pardal S. 2002. Perkembangan penelitian regenerasi dan transformasi pada tanaman kedelai. *Buletin Agrobio*. 5(2): 37-44.
- Park J & Thimann KV. 1990. Senescence and stomatal aperture as affected by antibiotics in darkness and light. *Plant Physiol* 92: 696-702.
- Paz MM, Juan CM., Andrea BK, Tina MF, & Kan W. 2005. Improved cotyledonary node method using an alternative explants derived from mature seed for efficient *Agobacterium*-mediated soybean transformation. *Plant Cell Rep* 25: 206-213.

- Pereira PA, FV Sousa & JD Becker. 2012. Decision-Making in the Plant Cell Cycle. *Canal BQ* 9: 48-62
- Puchta H. 2003. Marker-free transgenic plants. *Plant Cell Tissue and Organ Cult.* 74: 123-134.
- Rukmana R. & Yuniarsih Y. 2009. *Kedelai, Budidaya, dan Pasca Panen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Salisbury FB and Ross CW. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 1. Terjemahan Diah R. L & Sunaryono. Bandung: Penerbit ITB, Bandung.
- Savitri E.S. 2010. Pengujian *in vitro* beberapa varietas kedelai (*Glycine max* L. Merr) toleran kekeringan menggunakan polyethylene glikol (PEG) 6000 pada media padat dan cair. *El-Hayah* 1(2): 9-13.
- Scanlan C. 2013. *Managing crop nutrition profit*. Department of Agriculture and Food WA. Northam.
- Shuzhen Z, Xu P, Zhang D, Lin S, Li W, Han Y, Yang C. 2006. Screening of transgenic soybean transformed by means of pollen-tube using kanamycin. *J Northeast Agricultural Univ.* 13(1):7-10.
- Silva JATD. 2012. Is BA (6-Benzyladenine) BAP (6-Benzylaminopurine)?. *The Asian and Australasian J Plant Sci Biotechnol.* 6(1): 121-124.
- Singh G. 2010. *The Soybean Botany, Production and Uses*. London: Cabi.
- Suharsono. 2005. Eksplorasi gen-gen toleran cekaman abiotik pada tanaman. *Makalah* dalam Seminar Nasional Pemanfaatan Bioteknologi untuk Mengatasi Cekaman Abiotik pada Tanaman. Bogor 22 September 2005.
- Sumarjo D. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Sundhar IK, Sakhtivel N. 2008. Advances in selectable marker genes for plant transformation. *J Plant Physiol* 165:1698-1716.
- Taiz L & E Zeiger. 2010. *Plant Physiology*. Massachusetts: Sinauer Associates Ink.
- The European Agency for the Evaluation of Medicinal Product. 2003. *Committee for Veterinary Medicinal Products: Kanamycin*. London: EMEA.
- Van LB. 2009. Plant tissue culture (review). *Plant Biotechnology Vietnam OpenCourseWare*. April 2009.

- Verma D, Mohammad WA, Ganesh KA, Randeep R, Alok S. & Narendra T. 2013. In vitro selection and field responses of somaclonal variant plant of rice cv pr113 for drought tolerant. *Plant Signal Behav* 8(4): e23519.
- Yang Z, Idupulalati M.R. Walter J. H. 2012. Interaction of aluminum and drought stress on root growth and crop yield on acid soils. *Plant Soil*. 6 (4): 423-446.
- Yi X & Denyu Y. 2006. Transformation of multiple soybean cultivars by infecting cotyledonary-node with *Agrobacterium tumefaciens*. *African J Biotechnol*. 5 (20): 1989-1993.
- Yong W, Abdullah JO & Mahmood M. 2006. Minimal inhibitory concentrations of kanamycin on *Melastoma malabathricum* dan *Tibouchina semidecandra*. *Malay J Biochem Mol Biol*. 13, 27-31.
- Yu TA, Shyi-Dong Y. & Jiu-Sherg Y. 2003. Comparison of the effects of kanamycin and geneticin on regeneration of papaya from root tissue. *Plant Cell, Tissue Organ Cult* 74: 169–178.
- Yuwono T. 2006. *Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta: Gadjah Mada Univ Press.
- Zhang BH, Fang L, Zhi-Hong L, Hong-Mei W. & Chang-Bing Y. 2001. Effects of kanamycin on tissue culture and somatic embryogenesis in cotton. *Plant Growth Regul* 33: 137–149.
- Zia M, Bushra M, Salman AM, Muhammad FC. 2010. Expression of rol genes in transgenic soybean (*Glycine max* L.) leads to change in plant phenotype, leaf morphology, and flowering time. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 103:227-236.
- Zia M, Rizvi ZF, Riaz-Ur-Rehman & Chaudhary MF. 2010. *Agrobacterium* mediated transformation of soybean (*Glycine max* L.): Some conditions standardization. *Pak J Bot*, 42(4): 2269-2279.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rekap pengambilan data pengaruh pemberian kanamisin terhadap hari munculnya tunas kedelai varietas tahan tanah kering masam

| Perlakuan | Ulangan (hst) | | |
|-----------|---------------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 |
| K0GM | 11 | 5,5 | 8 |
| K1GM | 13 | 7 | 12,5 |
| K2GM | 9,6 | 11 | 12,5 |
| K3GM | 17 | 9 | 15 |
| K4GM | - | 11 | - |
| K0GK | 20 | 11 | - |
| K1GK | 6,5 | 9 | 14 |
| K2GK | 5 | 10 | 9 |
| K3GK | - | - | 12 |
| K4GK | - | - | - |
| K0GB | 8,5 | 11 | - |
| K1GB | - | - | 13 |
| K2GB | 14 | - | - |
| K3GB | 18 | - | - |
| K4GB | - | - | - |
| K0TG | 11 | 7,5 | 13 |
| K1TG | 11 | 16 | 21 |
| K2TG | 10 | 7 | 11,3 |
| K3TG | 15 | 11 | - |
| K4TG | - | 12 | - |
| K0BR | 10 | 8 | 13 |
| K1BR | - | 12 | 7 |
| K2BR | 6,3 | 10,5 | 11 |
| K3BR | - | - | 11 |
| K4BR | - | 10 | - |

Keterangan:

- K (0,1,2,3,4) : konsentrasi kanamisin 0, 50, 100, 150, 200 mg/L
 GM : kedelai varietas Gema
 GK : kedelai varietas Gepak kuning
 GB : kedelai varietas Grobogan
 TG : kedelai varietas Tanggamus
 BR : kedelai varietas Burangrang

Lampiran 2 Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter waktu munculnya tunas kedelai varietas tahan tanah kering masam

Tabel Waktu Munculnya Kecambah dan Reratanya untuk Setiap Taraf Perlakuan

| Varietas | U | Konsentrasi kanamisin (mg/L) | | | | | Σ | Rerata | Rerata varietas |
|-------------------------|---|------------------------------|-------------|-------------|-------------|-----------|--------------|--------|------------------------|
| | | 0 | 50 | 100 | 150 | 200 | | | |
| Gema | 1 | 11 | 13 | 9,6 | 17 | - | 50,6 | 10,1 | 10,9 |
| | 2 | 5,5 | 7 | 11 | 9 | 11 | 43,5 | 8,7 | |
| | 3 | 8 | 12,5 | 12,5 | 15 | - | 48 | 9,6 | |
| Σ (T) | | 24,5 | 32,5 | 33,1 | 41 | 11 | 142,1 | | |
| Rerata | | 8,1 | 10,8 | 11 | 13,6 | 11 | | | |
| Gepak | 1 | 20 | 6,5 | 5 | - | - | 31,5 | 10,5 | 10,7 |
| Kuning | 2 | 11 | 9 | 10 | - | - | 30 | 10 | |
| | 3 | - | 14 | 9 | 12 | - | 35 | 11,6 | |
| Σ (T) | | 31 | 29,5 | 24 | 12 | - | 96,5 | | |
| Rerata | | 15,5 | 9,8 | 8 | 12 | - | | | |
| Grobogan | 1 | 8,5 | - | 14 | 18 | - | 40,5 | 13,5 | 12,9 |
| | 2 | 11 | - | - | - | - | 11 | 11 | |
| | 3 | - | 13 | - | - | - | 13 | 13 | |
| Σ (T) | | 19,5 | 13 | 14 | 18 | - | 64,5 | | |
| Rerata | | 9,7 | 13 | 14 | 18 | | | | |
| Tanggamus | 1 | 11 | 11 | 10 | 15 | - | 47 | 11,7 | 11,1 |
| | 2 | 7,5 | 16 | 7 | 11 | 12 | 53,5 | 8,3 | |
| | 3 | 13 | 21 | 11,3 | - | - | 45,3 | 15 | |
| Σ (T) | | 31,5 | 48 | 28,3 | 26 | 12 | 145,8 | | |
| Rerata | | 10,5 | 16 | 9,4 | 13 | 12 | | | |
| Burangrang | 1 | 10 | - | 6,3 | - | - | 16,3 | 8,1 | 9,8 |
| | 2 | 8 | 12 | 10,5 | - | 10 | 40,5 | 10,1 | |
| | 3 | 13 | 7 | 11 | 11 | - | 42 | 10,5 | |
| Σ (T) | | 31 | 19 | 27,8 | 11 | 10 | 98,8 | | |
| Rerata | | 10,3 | 9,5 | 9,2 | 11 | 10 | | | |
| Rerata Kanamisin | | 10,5 | 11,8 | 9,7 | 13,5 | 11 | 547,7 | | |

Keterangan :

U (1, 2, 3) : ulangan 1, 2, 3

Σ : jumlah

$$Fk = \frac{G^2}{rxSxT} = \frac{(548)^2}{3x5x5} = \frac{300304}{75} = 4004,05$$

$$\begin{aligned} \text{JK umum} &= \sum X^2 - FK \\ &= (11)^2 + (5,5)^2 + (8)^2 + (13)^2 + (7)^2 + (12,5)^2 + (9,6)^2 + (11)^2 + \\ &\quad (12,5)^2 + (17)^2 + (9)^2 + (15)^2 + (11)^2 + (20)^2 + (11)^2 + (6,5)^2 + (9)^2 \\ &\quad + (14)^2 + (5)^2 + (10)^2 + (9)^2 + (12)^2 + (8,5)^2 + (11)^2 + (13)^2 + \\ &\quad (14)^2 + (18)^2 + (11)^2 + (7,5)^2 + (13)^2 + (11)^2 + (16)^2 + (21)^2 + \\ &\quad (10)^2 + (7)^2 + (11,3)^2 + (15)^2 + (11)^2 + (12)^2 + (10)^2 + (8)^2 + (13)^2 \\ &\quad + (12)^2 + (7)^2 + (6,3)^2 + (10,5)^2 + (11)^2 + (11)^2 + (10)^2 - 4004,05 \\ &= 6696,29 - 4004,05 \\ &= 2692,24 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK ulangan} &= \frac{\sum R^2}{VxK} - FK \\ &= \frac{(186)^2 + (178,5)^2 + (183)^2}{5x5} - 4004,05 \\ &= \frac{34596 + 31862,25 + 33489}{25} - 4004,05 \\ &= \frac{99947,25}{25} - 4004,05 \\ &= 3997,89 - 4004,05 \\ &= -6,16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \frac{\sum T^2}{r} - FK \\ &= \frac{(24,5)^2 + (32,5)^2 + (33,1)^2 + (41)^2 + (11)^2 + (31)^2 + (29,5)^2 + (24)^2 + (12)^2 + (19,5)^2 \\ &\quad + (13)^2 + (14)^2 + (18)^2 + (31,5)^2 + (48)^2 + (28,3)^2 + (26)^2 + (12)^2 + (31)^2 + (19)^2 \\ &\quad + (27,8)^2 + (11)^2 + (10)^2}{3} - 4004,05 \\ &= \frac{15407,59}{3} - 4004,05 \\ &= 5135,86 - 4004,05 \\ &= 1131,81 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK umum} - \text{JK ulangan} - \text{JK perlakuan} \\ &= 2692,24 - (-6,16) - 1131,81 \\ &= 1836,59 \end{aligned}$$

Tabel Jumlah Hasil Varietas x Kanamisin

| Kanamisin | Jumlah Hasil (V x K) | | | | | Jumlah Kanamisin (K) |
|---------------------|----------------------|------|------|-------|------|----------------------|
| | GM | GK | GB | TG | BR | |
| 0 | 24,5 | 31 | 19,5 | 31,5 | 31 | 137,5 |
| 50 | 32,5 | 29,5 | 13 | 48 | 19 | 142 |
| 100 | 33,1 | 24 | 14 | 28,3 | 27,8 | 127,2 |
| 150 | 41 | 12 | 18 | 26 | 11 | 108 |
| 200 | 11 | 0 | 0 | 12 | 10 | 33 |
| Jumlah Varietas (V) | 142,1 | 96,5 | 64,5 | 145,8 | 98,8 | |

$$\begin{aligned}
 \text{JK V (Varietas)} &= \frac{\sum Y^2}{rxK} - \text{FK} \\
 &= \frac{(142,1)^2 + (96,5)^2 + (64,5)^2 + (145,8)^2 + (98,8)^2}{3 \times 5} - 4004,05 \\
 &= \frac{64683,99}{15} - 4004,05 \\
 &= 4312,27 - 4004,05 \\
 &= 308,21
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK K (Kanamisin)} &= \frac{\sum K^2}{rxV} - \text{FK} \\
 &= \frac{(137,5)^2 + (142)^2 + (127,2)^2 + (108)^2 + (33)^2}{3 \times 5} - 4004,05 \\
 &= \frac{68003,09}{15} - 4004,05 \\
 &= 4533,53 - 4004,05 \\
 &= 529,48
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK V x K} &= \text{JK perlakuan} - \text{JK V (Varietas)} - \text{JK K (Kanamisin)} \\
 &= 1131,81 - 308,21 - 529,48 \\
 &= 294,12
 \end{aligned}$$

$$\text{KT V} = \frac{JK V}{v-1} = \frac{308,21}{5-1} = 77,05$$

$$\text{KT K} = \frac{JK K}{k-1} = \frac{529,48}{5-1} = 132,37$$

$$\text{KT V x K} = \frac{JK VxK}{(v-1)(k-1)} = \frac{294,12}{(5-1)(5-1)} = 18,38$$

$$\text{KT galat} = \frac{JK galat}{(r-1)(vk-1)} = \frac{1836,59}{(3-1)(5 \times 5 - 1)} = \frac{1836,59}{48} = 38,26$$

$$\text{F (V)} = \frac{KT V}{KT galat} = \frac{77,05}{38,26} = 2,01$$

$$\text{F (K)} = \frac{KT K}{KT galat} = \frac{132,37}{38,26} = 3,45$$

$$\text{F (V x K)} = \frac{KT VxK}{KT galat} = \frac{18,38}{38,28} = 0,48$$

Tabel Sidik Ragam Data Hari Munculnya Tunas

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hitung | F tabel | |
|------------------|----|---------|--------|--------------------|---------|------|
| | | | | | 5% | 1% |
| Ulangan | 2 | -6,16 | | | | |
| Perlakuan | 24 | 1131,81 | | | | |
| Varietas (V) | 4 | 308,21 | 77,05 | 2,01 ^{tn} | 2,56 | 3,72 |
| Kanamisin (K) | 4 | 529,48 | 132,37 | 3,45* | 2,56 | 3,72 |
| S x T | 16 | 294,12 | 18,38 | 0,48 ^{tn} | 1,85 | 2,39 |
| Galat | 50 | 1836,59 | 38,26 | | | |
| Umum | 74 | 2692,24 | | | | |

Lampiran 3 Perhitungan hasil uji jarak berganda duncan (UJGD) untuk parameter hari munculnya tunas kedelai varietas tahan tanah kering masam

$$S_{\bar{a}} = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Galat}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 38,26}{3}} = \sqrt{25,50} = 5,05$$

$$Rp = \frac{(rp) (S_{\bar{a}})}{\sqrt{2}}$$

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan kanamisin untuk hari munculnya tunas

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|-------|--------|
| 0 | 10,5 | 3,1 | 11,10 | a |
| 50 | 11,8 | 3,01 | 10,78 | a |
| 100 | 9,7 | 3,17 | 11,35 | a |
| 150 | 13,5 | 2,86 | 10,24 | a |
| 200 | 11 | 3,1 | 11,10 | a |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Lampiran 4 Rekap pengambilan data pengaruh pemberian kanamisin terhadap jumlah tunas kedelai varietas tahan tanah kering masam

| Perlakuan | Ulangan | | |
|-----------|---------|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 |
| K0GM | 2 | 1 | 2,3 |
| K1GM | 1 | 1 | 1,2 |
| K2GM | 2,6 | 1 | 1 |
| K3GM | 1 | 1 | 1 |
| K4GM | 0 | 1 | 0 |
| K0GK | 1 | 1 | 0 |
| K1GK | 3,5 | 2 | 1 |
| K2GK | 1 | 2 | 1 |
| K3GK | 0 | 0 | 1 |
| K4GK | 0 | 0 | 0 |
| K0GB | 2 | 1 | 0 |
| K1GB | 0 | 0 | 2 |
| K2GB | 1 | 0 | 0 |
| K3GB | 1 | 0 | 0 |
| K4GB | 0 | 0 | 0 |
| K0TG | 1 | 1,5 | 2 |
| K1TG | 2 | 1 | 1 |
| K2TG | 1,6 | 2 | 2,6 |
| K3TG | 2 | 1 | 0 |
| K4TG | 0 | 1 | 0 |
| K0BR | 3 | 4,5 | 4 |
| K1BR | 0 | 1 | 1 |
| K2BR | 1,6 | 2,5 | 2,5 |
| K3BR | 0 | 0 | 1 |
| K4BR | 0 | 1 | 0 |

Keterangan:

K (0,1,2,3,4) : konsentrasi kanamisin 0, 50, 100, 150, 200 mg/L

GM : kedelai varietas Gema

GK : kedelai varietas Gepak kuning

GB : kedelai varietas Grobogan

TG : kedelai varietas Tanggamus

BR : kedelai varietas Burangrang

Lampiran 5 Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter jumlah tunas

Tabel Jumlah tunas dan Reratanya untuk Setiap Taraf Perlakuan

| Varietas | U | Konsentrasi kanamisin (mg/L) | | | | | Σ | Rerata | Rerata varietas |
|-------------------------|--------|------------------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|--------|------------------------|
| | | 0 | 50 | 100 | 150 | 200 | | | |
| Gema | 1 | 2 | 1 | 2,6 | 1 | 0 | 6,6 | 1,3 | 1,1 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 1 | |
| | 3 | 2,3 | 1,2 | 1 | 1 | 0 | 5,5 | 1,1 | |
| Σ (T) | | 5,3 | 3,2 | 4,6 | 3 | 1 | 17,1 | | |
| Rerata | | 1,7 | 1,0 | 1,5 | 1 | 0,3 | | | |
| Gepak | 1 | 1 | 3,5 | 1 | 0 | 0 | 5,5 | 1,1 | 0,9 |
| | Kuning | 2 | 1 | 2 | 2 | 0 | 5 | 1 | |
| | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | 0,6 | |
| Σ (T) | | 2 | 6,5 | 4 | 1 | 0 | 13,5 | | |
| Rerata | | 0,6 | 2,1 | 1,3 | 0,3 | 0 | | | |
| Grobogan | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 4 | 0,8 | 0,4 |
| | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,2 | |
| | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0,4 | |
| Σ (T) | | 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 7 | | |
| Rerata | | 1 | 0,6 | 0,3 | 0,3 | 0 | | | |
| Tanggamus | 1 | 1 | 2 | 1,6 | 2 | 0 | 6,6 | 1,3 | 1,2 |
| | 2 | 1,5 | 1 | 2 | 1 | 1 | 6,5 | 1,3 | |
| | 3 | 2 | 1 | 2,6 | 0 | 0 | 5,6 | 1,1 | |
| Σ (T) | | 4,5 | 4 | 6,2 | 3 | 1 | 18,7 | | |
| Rerata | | 1,5 | 1,3 | 2,0 | 1 | 0,3 | | | |
| Burangrang | 1 | 3 | 0 | 1,6 | 0 | 0 | 4,6 | 0,9 | 1,4 |
| | 2 | 4,5 | 1 | 2,5 | 0 | 1 | 9 | 1,8 | |
| | 3 | 4 | 1 | 2,5 | 1 | 0 | 8,5 | 1,7 | |
| Σ (T) | | 11,5 | 2 | 6,6 | 1 | 1 | 22,1 | | |
| Rerata | | 3,8 | 0,6 | 2,2 | 0,3 | 0,3 | 78,4 | | |
| Rerata Kanamisin | | 1,7 | 1,2 | 1,4 | 0,6 | 0,2 | | | |

Keterangan :

U (1, 2, 3) : ulangan 1, 2, 3

Σ : jumlah

$$Fk = \frac{G^2}{rxSxT} = \frac{(78,4)^2}{3x5x5} = \frac{6146,56}{75} = 81,95$$

$$\begin{aligned} \text{JK umum} &= \sum X^2 - FK \\ &= (2)^2 + (1)^2 + (2,3)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1,2)^2 + (2,6)^2 + (1)^2 + (1)^2 + \\ &\quad (1)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (3,5)^2 + (2)^2 + (1)^2 + (1)^2 + \\ &\quad (2)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (2)^2 + (1)^2 + (2)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1,5)^2 + \\ &\quad (2)^2 + (2)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1,6)^2 + (2)^2 + (2,6)^2 + (2)^2 + (1)^2 + (1)^2 \\ &\quad + (3)^2 + (4,5)^2 + (4)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (1,6)^2 + (2,5)^2 + (2,5)^2 + (1)^2 \\ &\quad + (1)^2 - 81,95 \\ &= 160,62 - 81,95 \\ &= 78,67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK ulangan} &= \frac{\sum R^2}{VxK} - FK \\ &= \frac{(27)^2 + (27)^2 + (24,6)^2}{5x5} - 81,95 \\ &= \frac{729 + 729 + 605,16}{25} - 81,95 \\ &= \frac{2063,16}{25} - 81,95 \\ &= 82,53 - 81,95 \\ &= 0,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \frac{\sum T^2}{r} - FK \\ &\quad \frac{(5,3)^2 + (3,2)^2 + (4,6)^2 + (3)^2 + (1)^2 + (2)^2 + (6,5)^2 + (4)^2 + (1)^2 + (3)^2 \\ &\quad + (2)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (4,5)^2 + (4)^2 + (6,2)^2 + (3)^2 + (1)^2 + (11,5)^2 + (2)^2 \\ &\quad + (6,6)^2 + (1)^2 + (1)^2}{3} - 81,95 \\ &= \frac{414,24}{3} - 81,95 \\ &= 138,08 - 81,955 \\ &= 56,13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK umum} - \text{JK ulangan} - \text{JK perlakuan} \\ &= 78,67 - 0,56 - 56,13 \\ &= 21,97 \end{aligned}$$

Tabel Jumlah Hasil Varietas x Kanamisin

| Kanamisin | Jumlah Hasil (V x K) | | | | | Jumlah Kanamisin (K) |
|---------------------|----------------------|------|----|------|------|----------------------|
| | GM | GK | GB | TG | BR | |
| 0 | 5,3 | 2 | 3 | 4,5 | 11,5 | 26,3 |
| 50 | 3,2 | 6,5 | 2 | 4 | 2 | 17,7 |
| 100 | 4,6 | 4 | 1 | 6,2 | 6,6 | 22,4 |
| 150 | 3 | 1 | 1 | 3 | 1 | 9 |
| 200 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| Jumlah Varietas (V) | 17,1 | 13,5 | 7 | 18,7 | 22,1 | |

$$\begin{aligned}
 \text{JK V (Varietas)} &= \frac{\sum Y^2}{rxK} - \text{FK} \\
 &= \frac{(17,1)^2 + (13,5)^2 + (7)^2 + (18,7)^2 + (22,1)^2 + \dots}{3 \times 5} - 81,95 \\
 &= \frac{1361,76}{15} - 81,95 \\
 &= 90,78 - 81,95 \\
 &= 8,83
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK K (Kanamisin)} &= \frac{\sum K^2}{rxV} - \text{FK} \\
 &= \frac{(26,3)^2 + (17,7)^2 + (22,4)^2 + (9)^2 + (3)^2 + \dots}{3 \times 5} - 81,95 \\
 &= \frac{1591,74}{15} - 81,95 \\
 &= 106,11 - 81,95 \\
 &= 24,16
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK V x K} &= \text{JK perlakuan} - \text{JK V (Varietas)} - \text{JK K (Kanamisin)} \\
 &= 56,13 - 24,16 - 8,83 \\
 &= 23,14
 \end{aligned}$$

$$\text{KT V} = \frac{JK V}{v-1} = \frac{8,83}{5-1} = 2,20$$

$$\text{KT K} = \frac{JK K}{k-1} = \frac{24,16}{5-1} = 6,04$$

$$\text{KT V x K} = \frac{JK VxK}{(v-1)(k-1)} = \frac{23,14}{(5-1)(5-1)} = 1,45$$

$$\text{KT galat} = \frac{JK galat}{(r-1)(vk-1)} = \frac{21,97}{(3-1)(5 \times 5 - 1)} = \frac{21,97}{48} = 0,45$$

$$\text{F (V)} = \frac{KT V}{KT galat} = \frac{2,20}{0,45} = 4,88$$

$$\text{F (K)} = \frac{KT K}{KT galat} = \frac{6,04}{0,45} = 13,42$$

$$\text{F (V x K)} = \frac{KT VxK}{KT galat} = \frac{1,45}{0,45} = 3,22$$

Tabel Sidik Ragam Data Jumlah Tunas

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hitung | F tabel | |
|------------------|----|-------|------|----------|---------|------|
| | | | | | 5% | 1% |
| Ulangan | 2 | 0,56 | | | | |
| Perlakuan | 24 | 56,13 | | | | |
| Varietas (V) | 4 | 8,83 | 2,20 | 4,88** | 2,56 | 3,72 |
| Kanamisin (K) | 4 | 24,16 | 6,04 | 13,42** | 2,56 | 3,72 |
| V x K | 16 | 23,14 | 1,45 | 3,22** | 1,85 | 2,39 |
| Galat | 50 | 21,97 | 0,45 | | | |
| Umum | 74 | 78,67 | | | | |

Lampiran 6 Perhitungan hasil uji jarak berganda Duncan (UJGD) untuk parameter jumlah tunas

$$S_{\bar{a}} = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Galat}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,45}{3}} = \sqrt{0,3} = 0,54$$

$$Rp = \frac{(rp) (S_{\bar{a}})}{\sqrt{2}}$$

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan kanamisin untuk jumlah tunas

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| 0 | 1,7 | 2,86 | 1,09 | a |
| 50 | 1,1 | 3,1 | 1,18 | b |
| 100 | 1,4 | 3,01 | 1,15 | ab |
| 150 | 0,6 | 3,17 | 1,21 | c |
| 200 | 0,2 | 3,22 | 1,23 | c |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan varietas untuk jumlah tunas

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| GM | 1,1 | 3,1 | 1,18 | ab |
| GK | 0,9 | 3,17 | 1,21 | bc |
| GB | 0,4 | 3,22 | 1,22 | c |
| TG | 1,2 | 3,01 | 1,15 | ab |
| BR | 1,4 | 2,86 | 1,09 | a |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada interaksi perlakuan untuk jumlah tunas

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| K0GM | 1,77 | 3,22 | 1,23 | bc |
| K1GM | 1,07 | 3,35 | 1,28 | bc |
| K2GM | 1,53 | 3,27 | 1,25 | bc |
| K3GM | 1 | 3,39 | 1,29 | bc |
| K4GM | 0,33 | 3,46 | 1,32 | c |
| K0GK | 0,67 | 3,44 | 1,32 | c |
| K1GK | 2,17 | 3,1 | 1,19 | bc |
| K2GK | 1,33 | 3,33 | 1,27 | bc |
| K3GK | 0,33 | 3,47 | 1,33 | c |
| K4GK | 0 | 3,47 | 1,33 | c |
| K0GB | 1 | 3,39 | 1,29 | bc |
| K1GB | 0,67 | 3,44 | 1,32 | c |
| K2GB | 0,33 | 3,47 | 1,33 | c |
| K3GB | 0,33 | 3,47 | 1,33 | c |
| K4GB | 0 | 3,47 | 1,33 | c |
| K0TG | 1,5 | 3,3 | 1,26 | bc |
| K1TG | 1,33 | 1,35 | 1,28 | bc |
| K2TG | 2,07 | 3,17 | 1,21 | b |
| K3TG | 1 | 3,42 | 1,31 | bc |
| K4TG | 0,33 | 3,47 | 1,33 | c |
| K0BR | 4 | 2,86 | 1,09 | a |
| K1BR | 0,67 | 3,44 | 1,32 | c |
| K2BR | 2,20 | 3,01 | 1,15 | b |
| K3BR | 0,33 | 3,44 | 1,33 | c |
| K4BR | 0,33 | 3,44 | 1,33 | c |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek
rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Lampiran 7 Rekap pengambilan data pengaruh pemberian kanamisin terhadap jumlah eksplan yang bertunas

| Perlakuan | Ulangan | | |
|-----------|---------|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| K0GM | 2 | 2 | 3 |
| K1GM | 1 | 1 | 4 |
| K2GM | 3 | 1 | 4 |
| K3GM | 1 | 1 | 1 |
| K4GM | 0 | 1 | 0 |
| K0GK | 1 | 1 | 0 |
| K1GK | 2 | 2 | 1 |
| K2GK | 1 | 2 | 1 |
| K3GK | 0 | 0 | 2 |
| K4GK | 0 | 0 | 0 |
| K0GB | 2 | 1 | 0 |
| K1GB | 0 | 0 | 1 |
| K2GB | 1 | 0 | 0 |
| K3GB | 1 | 0 | 0 |
| K4GB | 0 | 0 | 0 |
| K0TG | 1 | 2 | 3 |
| K1TG | 1 | 1 | 1 |
| K2TG | 2 | 3 | 2 |
| K3TG | 2 | 1 | 0 |
| K4TG | 0 | 1 | 0 |
| K0BR | 2 | 2 | 1 |
| K1BR | 0 | 1 | 1 |
| K2BR | 3 | 2 | 2 |
| K3BR | 0 | 0 | 1 |
| K4BR | 0 | 1 | 0 |

Keterangan:

K (0,1,2,3,4) : konsentrasi kanamisin 0, 50, 100, 150, 200 mg/L

GM : kedelai varietas Gema

GK : kedelai varietas Gepak kuning

GB : kedelai varietas Grobogan

TG : kedelai varietas Tanggamus

BR : kedelai varietas Burangrang

Lampiran 8 Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter jumlah eksplan yang bertunas

Tabel Jumlah eksplan yang bertunas dan Reratanya untuk Setiap Taraf Perlakuan

| Varietas | U | Konsentrasi kanamisin (mg/L) | | | | | Σ | Rerata | Rerata varietas |
|-------------------------|---|------------------------------|------------|------------|------------|------------|-----------|--------|------------------------|
| | | 0 | 50 | 100 | 150 | 200 | | | |
| Gema | 1 | 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | 7 | 1,4 | 1,6 |
| | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 6 | 1,2 | |
| | 3 | 3 | 4 | 4 | 1 | 0 | 12 | 2,4 | |
| Σ (T) | | 7 | 6 | 8 | 3 | 1 | 25 | | |
| Rerata | | 2,3 | 2 | 2,6 | 1 | 0,3 | | | |
| Gepak Kuning | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 | 0,8 | 0,8 |
| | 2 | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 | 5 | 1 | |
| | 3 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 4 | 0,8 | |
| Σ (T) | | 2 | 5 | 4 | 2 | 0 | 13 | | |
| Rerata | | 0,6 | 1,6 | 1,3 | 0,6 | 0 | | | |
| Grobogan | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 4 | 0,8 | 0,4 |
| | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,2 | |
| | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,2 | |
| Σ (T) | | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 6 | | |
| Rerata | | 1 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0 | | | |
| Tanggamus | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 6 | 1,2 | 1,3 |
| | 2 | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 8 | 1,6 | |
| | 3 | 3 | 1 | 2 | 0 | 0 | 6 | 1,2 | |
| Σ (T) | | 6 | 3 | 7 | 3 | 1 | 20 | | |
| Rerata | | 2 | 1 | 2,3 | 1 | 0,3 | | | |
| Burangrang | 1 | 2 | 0 | 3 | 0 | 0 | 5 | 1 | 1,06 |
| | 2 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 6 | 1,2 | |
| | 3 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 5 | 1 | |
| Σ (T) | | 5 | 2 | 7 | 1 | 1 | 16 | | |
| Rerata | | 1,6 | 0,6 | 2,3 | 0,3 | 0,3 | 80 | | |
| Rerata Kanamisin | | 1,5 | 1,1 | 1,8 | 0,6 | 0,2 | | | |

Keterangan :

U (1, 2, 3) : ulangan 1, 2, 3

Σ : jumlah

$$\begin{aligned}
 \text{JK V (Varietas)} &= \frac{\sum Y^2}{rxK} - \text{FK} \\
 &= \frac{(25)^2 + (13)^2 + (6)^2 + (20)^2 + (16)^2 +}{3 \times 5} - 85,33 \\
 &= \frac{1486}{15} - 85,33 \\
 &= 99,06 - 85,33 \\
 &= 13,73
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK K (Kanamisin)} &= \frac{\sum K^2}{rxV} - \text{FK} \\
 &= \frac{(23)^2 + (17)^2 + (27)^2 + (10)^2 + (3)^2}{3 \times 5} - 85,33 \\
 &= \frac{1656}{15} - 85,33 \\
 &= 110,4 - 85,33 \\
 &= 25,07
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK V x K} &= \text{JK perlakuan} - \text{JK V (Varietas)} - \text{JK K (Kanamisin)} \\
 &= 49,33 - 13,73 - 25,07 \\
 &= 10,53
 \end{aligned}$$

$$\text{KT V} = \frac{JK V}{v-1} = \frac{13,73}{5-1} = 3,43$$

$$\text{KT K} = \frac{JK K}{k-1} = \frac{25,07}{5-1} = 6,26$$

$$\text{KT V x K} = \frac{JK VxK}{(v-1)(k-1)} = \frac{10,53}{(5-1)(5-1)} = 0,65$$

$$\text{KT galat} = \frac{JK galat}{(r-1)(vk-1)} = \frac{37,23}{(3-1)(5 \times 5 - 1)} = \frac{37,23}{48} = 0,77$$

$$\text{F (V)} = \frac{KT V}{KT galat} = \frac{3,43}{0,77} = 4,45$$

$$\text{F (K)} = \frac{KT K}{KT galat} = \frac{6,62}{0,77} = 8,59$$

$$\text{F (V x K)} = \frac{KT VxK}{KT galat} = \frac{0,65}{0,77} = 0,84$$

Tabel Sidik Ragam Data jumlah eksplan yang bertunas

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hitung | F tabel | |
|------------------|----|-------|------|--------------------|---------|------|
| | | | | | 5% | 1% |
| Ulangan | 2 | -7,89 | | | | |
| Perlakuan | 24 | 49,33 | | | | |
| Varietas (V) | 4 | 13,73 | 3,43 | 4,45** | 2,56 | 3,72 |
| Kanamisin (K) | 4 | 25,07 | 6,26 | 8,59** | 2,56 | 3,72 |
| S x T | 16 | 10,53 | 0,65 | 0,84 ^{tn} | 1,85 | 2,39 |
| Galat | 50 | 37,23 | 0,77 | | | |
| Umum | 74 | 78,67 | | | | |

Lampiran 9 Perhitungan hasil uji jarak berganda Duncan (UJGD) untuk parameter jumlah eksplan yang bertunas

$$S_{\bar{a}} = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Galat}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,77}{3}} = \sqrt{25,50} = 5,05$$

$$Rp = \frac{(rp) (S_{\bar{a}})}{\sqrt{2}}$$

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan kanamisin untuk jumlah eksplan yang bertunas

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| 0 | 1,5 | 3,01 | 1,51 | a |
| 50 | 1,1 | 3,1 | 1,56 | ab |
| 100 | 1,8 | 2,86 | 1,44 | a |
| 150 | 0,6 | 3,1 | 1,56 | c |
| 200 | 0,2 | 3,17 | 1,59 | c |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan varietas untuk jumlah eksplan yang bertunas

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| GM | 1,6 | 2,86 | 1,44 | a |
| GK | 0,8 | 3,1 | 1,56 | bc |
| GB | 0,4 | 3,22 | 1,62 | c |
| TG | 1,3 | 3,01 | 1,51 | ab |
| BR | 1,06 | 3,17 | 1,59 | ab |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Lampiran 10 Rekap pengambilan data pengaruh kanamisin terhadap jumlah eksplan hidup

| Perlakuan | Ulangan | | |
|-----------|---------|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| K0GM | 4 | 5 | 4 |
| K1GM | 4 | 4 | 4 |
| K2GM | 3 | 3 | 4 |
| K3GM | 2 | 2 | 4 |
| K4GM | 0 | 1 | 1 |
| K0GK | 5 | 5 | 5 |
| K1GK | 4 | 3 | 4 |
| K2GK | 3 | 3 | 4 |
| K3GK | 1 | 1 | 3 |
| K4GK | 0 | 0 | 1 |
| K0GB | 5 | 5 | 5 |
| K1GB | 3 | 4 | 4 |
| K2GB | 1 | 3 | 3 |
| K3GB | 0 | 0 | 0 |
| K4GB | 0 | 0 | 0 |
| K0TG | 4 | 5 | 5 |
| K1TG | 4 | 4 | 5 |
| K2TG | 4 | 4 | 4 |
| K3TG | 2 | 3 | 2 |
| K4TG | 1 | 3 | 2 |
| K0BR | 5 | 5 | 5 |
| K1BR | 4 | 5 | 4 |
| K2BR | 4 | 3 | 4 |
| K3BR | 3 | 5 | 2 |
| K4BR | 4 | 4 | 1 |

Keterangan:

K (0,1,2,3,4) : konsentrasi kanamisin 0, 50, 100, 150, 200 mg/L

GM : kedelai varietas Gema

GK : kedelai varietas Gepak kuning

GB : kedelai varietas Grobogan

TG : kedelai varietas Tanggamus

BR : kedelai varietas Burangrang

Lampiran 11 Perhitungan analisis varian dua jalan untuk parameter jumlah eksplan hidup

Tabel Jumlah eksplan yang hidup dan Reratanya untuk Setiap Taraf Perlakuan

| Varietas | U | Konsentrasi kanamisin (mg/L) | | | | | Σ | Rerata | Rerata varietas | |
|-------------------------|--------|------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|-----------|----------------------------|-----|
| | | 0 | 50 | 100 | 150 | 200 | | | | |
| Gema | 1 | 4 | 4 | 3 | 2 | 0 | 13 | 2,6 | 3 | |
| | 2 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 15 | 3 | | |
| | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 17 | 3,4 | | |
| Σ (T) | | 13 | 12 | 10 | 8 | 2 | 45 | | | |
| Rerata | | 4,33 | 4 | 3,33 | 2,66 | 0,66 | | | | |
| Gepak | 1 | 5 | 4 | 3 | 1 | 0 | 13 | 2,6 | 2,8 | |
| | Kuning | 2 | 5 | 3 | 3 | 1 | 0 | 12 | | 2,4 |
| | | 3 | 5 | 4 | 4 | 3 | 1 | 17 | | 3,4 |
| Σ (T) | | 15 | 11 | 10 | 5 | 1 | 42 | | | |
| Rerata | | 5 | 3,66 | 3,33 | 1,66 | 0,33 | | | | |
| Grobogan | 1 | 5 | 3 | 1 | 0 | 0 | 9 | 1,8 | 2,2 | |
| | 2 | 5 | 4 | 3 | 0 | 0 | 12 | 2,4 | | |
| | 3 | 5 | 4 | 3 | 0 | 0 | 12 | 2,4 | | |
| Σ (T) | | 15 | 11 | 7 | 0 | 0 | 33 | | | |
| Rerata | | 5 | 3,66 | 2,33 | 0 | 0 | | | | |
| Tanggamus | 1 | 5 | 4 | 4 | 2 | 1 | 16 | 3,2 | 3,5 | |
| | 2 | 5 | 4 | 4 | 3 | 3 | 19 | 3,8 | | |
| | 3 | 5 | 5 | 4 | 2 | 2 | 18 | 3,6 | | |
| Σ (T) | | 15 | 13 | 12 | 7 | 6 | 53 | | | |
| Rerata | | 5 | 4,33 | 4 | 2,33 | 2 | | | | |
| Burangrang | 1 | 5 | 4 | 4 | 3 | 4 | 20 | 4 | 3,8 | |
| | 2 | 5 | 5 | 3 | 5 | 4 | 22 | 4,4 | | |
| | 3 | 5 | 4 | 4 | 2 | 1 | 16 | 3,2 | | |
| Σ (T) | | 15 | 13 | 11 | 10 | 9 | 58 | | | |
| Rerata | | 5 | 4,33 | 3,66 | 3,33 | 3 | 231 | | | |
| Rerata Kanamisin | | 4,8 | 4 | 3,3 | 2 | 1,2 | | | | |

Keterangan :

U (1, 2, 3) : ulangan 1, 2, 3

Σ : jumlah

$$Fk = \frac{G^2}{rxSxT} = \frac{(231)^2}{3x5x5} = \frac{53361}{75} = 711,48$$

$$\begin{aligned} \text{JK umum} &= \sum X^2 - FK \\ &= (4)^2 + (5)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (3)^2 + (3)^2 + (4)^2 + (2)^2 + \\ &\quad (2)^2 + (4)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (4)^2 + (3)^2 + (4)^2 + \\ &\quad (3)^2 + (3)^2 + (4)^2 + (1)^2 + (1)^2 + (3)^2 + (1)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (5)^2 + \\ &\quad (3)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (1)^2 + (3)^2 + (3)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (4)^2 + \\ &\quad (4)^2 + (5)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (2)^2 + (3)^2 + (2)^2 + (1)^2 + (3)^2 + \\ &\quad (2)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (5)^2 + (4)^2 + (5)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (3)^2 + (4)^2 + \\ &\quad (3)^2 + (5)^2 + (2)^2 + (4)^2 + (4)^2 + (1)^2 - 711,48 \\ &= 917 - 711,48 \\ &= 205,52 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK ulangan} &= \frac{\sum R^2}{VxK} - FK \\ &= \frac{(71)^2 + (80)^2 + (80)^2}{5x5} - 711,48 \\ &= \frac{17841}{25} - 711,48 \\ &= 278,64 - 711,48 \\ &= 2,16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \frac{\sum T^2}{r} - FK \\ &= \frac{(13)^2 + (12)^2 + (10)^2 + (8)^2 + (2)^2 + (15)^2 + (11)^2 + (10)^2 + (5)^2 + (1)^2 \\ &\quad + (15)^2 + (13)^2 + (12)^2 + (7)^2 + (6)^2 + (15)^2 + (13)^2 + (11)^2 + (10)^2 + (9)^2}{3} - \\ &\quad 711,48 \\ &= \frac{2667}{3} - 711,48 \\ &= 889 - 711,48 \\ &= 177,52 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK umum} - \text{JK ulangan} - \text{JK perlakuan} \\ &= 205,52 - 2,16 - 177,52 \\ &= 25,84 \end{aligned}$$

Tabel Jumlah Hasil Varietas x Kanamisin

| Kanamisin | Jumlah Hasil (V x K) | | | | | Jumlah Kanamisin (K) |
|--------------|----------------------|----|----|----|----|-------------------------|
| | GM | GK | GB | TG | BR | |
| 0 | 13 | 15 | 15 | 15 | 15 | 73 |
| 50 | 12 | 11 | 11 | 13 | 13 | 60 |
| 100 | 10 | 10 | 7 | 12 | 11 | 50 |
| 150 | 8 | 5 | 0 | 7 | 10 | 30 |
| 200 | 2 | 1 | 0 | 6 | 9 | 18 |
| Jumlah | 45 | 42 | 33 | 53 | 58 | |
| Varietas (V) | | | | | | |

$$\begin{aligned}
 \text{JK V (Varietas)} &= \frac{\sum Y^2}{rxK} - \text{FK} \\
 &= \frac{(45)^2 + (42)^2 + (33)^2 + (53)^2 + (58)^2 + \dots}{3 \times 5} - 711,48 \\
 &= \frac{11051}{15} - 711,48 \\
 &= 763,73 - 711,48 \\
 &= 25,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK K (Kanamisin)} &= \frac{\sum K^2}{rxV} - \text{FK} \\
 &= \frac{(73)^2 + (60)^2 + (50)^2 + (30)^2 + (18)^2 + \dots}{3 \times 5} - 711,48 \\
 &= \frac{12653}{15} - 711,48 \\
 &= 843,53 - 711,48 \\
 &= 132,05
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK V x K} &= \text{JK perlakuan} - \text{JK V (Varietas)} - \text{JK K (Kanamisin)} \\
 &= 177,52 - 25,25 - 132,05 \\
 &= 20,22
 \end{aligned}$$

$$\text{KT V} = \frac{JK V}{v-1} = \frac{25,25}{5-1} = 6,31$$

$$\text{KT K} = \frac{JK K}{k-1} = \frac{132,058}{5-1} = 33,01$$

$$\text{KT V x K} = \frac{JK VxK}{(v-1)(k-1)} = \frac{20,22}{(5-1)(5-1)} = 1,26$$

$$\text{KT galat} = \frac{JK galat}{(r-1)(vk-1)} = \frac{25,84}{(3-1)(5 \times 5 - 1)} = \frac{25,84}{48} = 0,53$$

$$\text{F (V)} = \frac{KT V}{KT galat} = \frac{6,31}{0,54} = 11,90$$

$$\text{F (K)} = \frac{KT K}{KT galat} = \frac{33,01}{0,54} = 62,28$$

$$\text{F (V x K)} = \frac{KT VxK}{KT galat} = \frac{1,26}{0,54} = 2,37$$

Tabel Sidik Ragam Data jumlah eksplan yang hidup

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F hitung | F tabel | |
|------------------|----|--------|-------|----------|---------|------|
| | | | | | 5% | 1% |
| Ulangan | 2 | 2,16 | | | | |
| Perlakuan | 24 | 177,52 | | | | |
| Varietas (V) | 4 | 25,25 | 6,31 | 11,90** | 2,56 | 3,72 |
| Kanamisin (K) | 4 | 132,05 | 33,01 | 62,28** | 2,56 | 3,72 |
| S x T | 16 | 20,22 | 1,26 | 2,37* | 1,85 | 2,39 |
| Galat | 50 | 25,83 | 0,54 | | | |
| Umum | 74 | 205,52 | | | | |

Lampiran 12 Perhitungan hasil uji jarak berganda duncan (UJGD) untuk parameter jumlah eksplan yang hidup

$$S_{\bar{a}} = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Galat}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,53}{3}} = \sqrt{0,35} = 0,59$$

$$Rp = \frac{(rp) (S_{\bar{a}})}{\sqrt{2}}$$

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan kanamisin untuk jumlah eksplan yang hidup

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| 0 | 4,8 | 2,86 | 1,19 | a |
| 50 | 4,0 | 3,01 | 1,25 | ab |
| 100 | 3,3 | 3,10 | 1,29 | bc |
| 150 | 2,0 | 3,17 | 1,32 | cd |
| 200 | 1,2 | 3,22 | 1,34 | d |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan varietas untuk jumlah eksplan yang hidup

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| GM | 3,0 | 3,10 | 1,29 | ab |
| GK | 2,8 | 3,17 | 1,32 | ab |
| GB | 2,2 | 3,22 | 1,34 | b |
| TG | 3,5 | 3,01 | 1,25 | ab |
| BR | 3,8 | 2,86 | 1,19 | a |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Tabel hasil perhitungan uji jarak berganda duncan pada perlakuan varietas untuk jumlah eksplan yang hidup

| Perlakuan | Rerata | rp | Rp | Notasi |
|-----------|--------|------|------|--------|
| K0GM | 4,33 | 3,01 | 1,25 | ab |
| K1GM | 4,00 | 3,10 | 1,29 | ab |
| K2GM | 3,33 | 3,22 | 1,34 | bc |
| K3GM | 2,66 | 3,30 | 1,38 | bc |
| K4GM | 0,66 | 3,39 | 1,41 | cd |
| K0GK | 5,00 | 2,86 | 1,19 | a |
| K1GK | 3,66 | 3,17 | 1,32 | ab |
| K2GK | 3,33 | 3,22 | 1,34 | bc |
| K3GK | 1,66 | 3,35 | 1,40 | bc |
| K4GK | 0,33 | 3,39 | 1,41 | de |
| K0GB | 5,00 | 2,86 | 1,19 | a |
| K1GB | 3,66 | 3,17 | 1,32 | ab |
| K2GB | 2,33 | 3,33 | 1,39 | bc |
| K3GB | 0,00 | 3,42 | 1,43 | e |
| K4GB | 0,00 | 3,42 | 1,43 | e |
| K0TG | 5,00 | 2,86 | 1,19 | a |
| K1TG | 4,33 | 3,01 | 1,25 | ab |
| K2TG | 4,00 | 3,10 | 1,29 | ab |
| K3TG | 2,33 | 3,33 | 1,39 | bc |
| K4TG | 2,00 | 3,35 | 1,40 | bc |
| K0BR | 5,00 | 2,86 | 1,19 | a |
| K1BR | 4,33 | 3,01 | 1,25 | ab |
| K2BR | 3,66 | 3,17 | 1,32 | ab |
| K3BR | 3,33 | 3,22 | 1,34 | bc |
| K4BR | 3,00 | 3,27 | 1,36 | bc |

Keterangan :

Rp = nilai wilayah beda nyata terpendek

rp = diperoleh pada tabel uji Duncan 5%

Lampiran 13. Hasil uji ANAVA dua jalan dan hasil UJGD dengan menggunakan perangkat SPSS 17.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:HARI MUNCUL TUNAS

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------------|-------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 1136.193 ^a | 24 | 47.341 | 1.517 | .107 |
| Intercept | 3999.671 | 1 | 3999.671 | 128.160 | .000 |
| VARIETAS | 312.595 | 4 | 78.149 | 2.504 | .054 |
| KANAMISIN | 533.869 | 4 | 133.467 | 4.277 | .005 |
| VARIETAS * KANAMISIN | 289.729 | 16 | 18.108 | .580 | .884 |
| Error | 1560.427 | 50 | 31.209 | | |
| Total | 6696.290 | 75 | | | |
| Corrected Total | 2696.619 | 74 | | | |

a. R Squared = .421 (Adjusted R Squared = .144)

HARI MUNCUL TUNAS

Duncan^{a,b}

| KANAMISIN | N | Subset | |
|-----------|----|--------|------|
| | | 1 | 2 |
| 200 | 15 | 2.20 | |
| 150 | 15 | | 7.20 |
| 100 | 15 | | 8.48 |
| 0 | 15 | | 9.17 |
| 50 | 15 | | 9.47 |
| Sig. | | 1.000 | .319 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 31.209.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JUMLAH TUNAS

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------------|-------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 56.126 ^a | 24 | 2.339 | 5.188 | .000 |
| Intercept | 81.954 | 1 | 81.954 | 181.797 | .000 |
| VARIETAS | 8.830 | 4 | 2.207 | 4.897 | .002 |
| KANAMISIN | 24.495 | 4 | 6.124 | 13.584 | .000 |
| VARIETAS * KANAMISIN | 22.801 | 16 | 1.425 | 3.161 | .001 |
| Error | 22.540 | 50 | .451 | | |
| Total | 160.620 | 75 | | | |
| Corrected Total | 78.666 | 74 | | | |

a. R Squared = .713 (Adjusted R Squared = .576)

JUMLAH TUNAS

Duncan^{a,b}

| KANAMISIN | N | Subset | | |
|-----------|----|--------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 200 | 15 | .20 | | |
| 150 | 15 | .60 | | |
| 50 | 15 | | 1.18 | |
| 100 | 15 | | 1.49 | 1.49 |
| 0 | 15 | | | 1.75 |
| Sig. | | .109 | .207 | .294 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .451.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

JUMLAH TUNASDuncan^{a,b}

| VARIETAS | N | Subset | | |
|--------------|----|--------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| GROBOGAN | 15 | .47 | | |
| GEPAK KUNING | 15 | .90 | .90 | |
| GEMA | 15 | | 1.14 | 1.14 |
| TANGGAMUS | 15 | | 1.25 | 1.25 |
| BURANGRANG | 15 | | | 1.47 |
| Sig. | | .083 | .189 | .206 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .451.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:JUMLAH EKSPAN BERTUNAS

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------------|-------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model | 48.187 ^a | 24 | 2.008 | 3.204 | .000 |
| Intercept | 87.480 | 1 | 87.480 | 139.596 | .000 |
| VARIETAS | 12.453 | 4 | 3.113 | 4.968 | .002 |
| KANAMISIN | 25.253 | 4 | 6.313 | 10.074 | .000 |
| VARIETAS * KANAMISIN | 10.480 | 16 | .655 | 1.045 | .429 |
| Error | 31.333 | 50 | .627 | | |
| Total | 167.000 | 75 | | | |
| Corrected Total | 79.520 | 74 | | | |

a. R Squared = .606 (Adjusted R Squared = .417)

JUMLAH EKSPAN BERTUNAS

Duncan^{a,b}

| KANAMISIN | N | Subset | | |
|-----------|----|--------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 200 | 15 | .20 | | |
| 150 | 15 | .67 | .67 | |
| 50 | 15 | | 1.20 | 1.20 |
| 0 | 15 | | | 1.53 |
| 100 | 15 | | | 1.80 |
| Sig. | | .113 | .071 | .054 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .627.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

JUMLAH EKSPAN BERTUNAS

Duncan^{a,b}

| VARIETAS | N | Subset | | |
|--------------|----|--------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| GROBOGAN | 15 | .47 | | |
| GEPAK KUNING | 15 | .87 | .87 | |
| BURANGRANG | 15 | 1.07 | 1.07 | 1.07 |
| TANGGAMUS | 15 | | 1.33 | 1.33 |
| GEMA | 15 | | | 1.67 |
| Sig. | | .054 | .133 | .054 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .627.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: jumlah eksplan hidup

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 177.520 ^a | 24 | 7.397 | 13.208 | .000 |
| Intercept | 711.480 | 1 | 711.480 | 1270.500 | .000 |
| VARIETAS | 25.253 | 4 | 6.313 | 11.274 | .000 |
| KANAMISIN | 132.053 | 4 | 33.013 | 58.952 | .000 |
| VARIETAS * KANAMISIN | 20.213 | 16 | 1.263 | 2.256 | .015 |
| Error | 28.000 | 50 | .560 | | |
| Total | 917.000 | 75 | | | |
| Corrected Total | 205.520 | 74 | | | |

a. R Squared = .864 (Adjusted R Squared = .798)

jumlah eksplan hidup

Duncan^{a, b}

| VARIETAS | N | Subset | | | |
|--------------|----|--------|------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GROBOGAN | 15 | 2.20 | | | |
| GEPAK KUNING | 15 | | 2.80 | | |
| GEMA | 15 | | 3.00 | 3.00 | |
| TANGGAMUS | 15 | | | 3.53 | 3.53 |
| BURANGRANG | 15 | | | | 3.87 |
| Sig. | | 1.000 | .468 | .057 | .228 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .560.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

jumlah eksplan hidup

Duncan^{a,b}

| KANAM ISIN | N | Subset | | | | |
|---------------|----|--------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 200 | 15 | 1.20 | | | | |
| 150 | 15 | | 2.00 | | | |
| 100 | 15 | | | 3.33 | | |
| 50 | 15 | | | | 4.00 | |
| 0 | 15 | | | | | 4.87 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .560.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 14. Dokumentasi hasil seleksi kedelai beberapa varietas tahan tanah kering masam pada berbagai konsentrasi kanamisin

A.



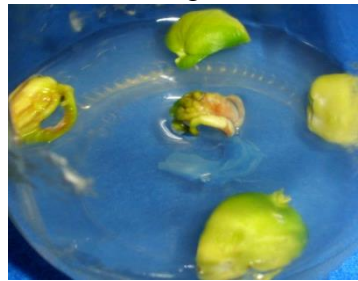
0 mg/L



50 mg/L



100 mg/L



150 mg/L



200 mg/L

B.



0 mg/L



50 mg/L



100 mg/L



150 mg/L



200 mg/L

C.



0 mg/L



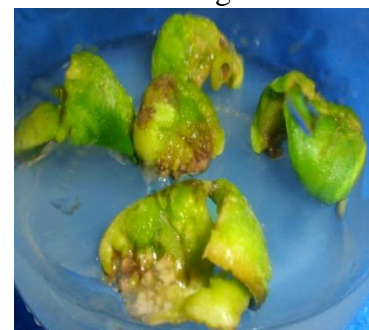
50 mg/L



100 mg/L



150 mg/L



200 mg/L

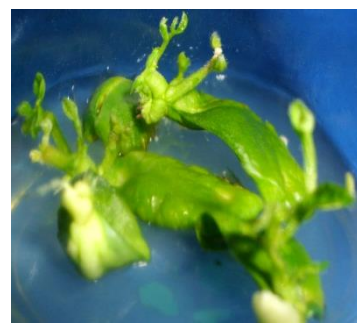
D.



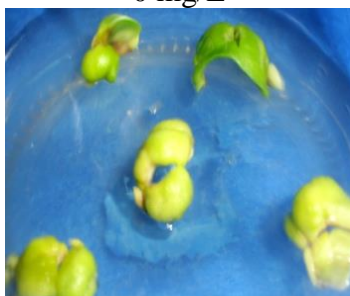
0 mg/L



50 mg/L



100 mg/L



150 mg/L



200 mg/L

E.

0 mg/L



50 mg/L



100 mg/L



150 mg/L



200 mg/L

Gambar. Hasil seleksi berbagai varietas kedelai pada berbagai konsentrasi kanamisin. (A) Varietas Gema, (B) Varietas Gepak Kuning, (C) Varietas Grobogan, (D) Varietas Tanggamus, (E) Varietas Burangrang (dok. Pribadi).