

Bidang Ilmu: Pertanian

**ABSTRAK DAN EXECUTIVE SUMMARY**  
**PENELITIAN HIBAH BERSAING**



**APLIKASI BIOTEKNOLOGI BAKTERI FOTOSINTETIK  
DALAM MENINGKATKAN MUTU GIZI BIJI KEDELAI**

**TIM PENGUSUL**

**Dr. Ir. Anang Syamsunihar, MP. NIDN: 0026066603**

**Ir. R. Soedradjad, MT. NIDN: 0018075702**

**Ir. Giyarto, MSc. NIDN: 0018076602**

**UNIVERSITAS JEMBER**

November, 2014

## **Aplikasi Bioteknologi Bakteri Fotosintetik dalam Meningkatkan Mutu Gizi Biji Kedelai**

Peneliti : Anang Syamsunihar<sup>1)</sup>, R. Soedradjad<sup>1)</sup>, Giyarto<sup>2)</sup>

Mahasiswa terlibat : Ari Wahyudi<sup>1)</sup>

Sumber Dana : Dirlitabmas Kementerian Ristek Dikti Tahun 2015

<sup>1)</sup> Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Jember

<sup>2)</sup> Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

### **ABSTRAK**

Penelitian ini memiliki tujuan jangka panjang untuk menghasilkan biji kedelai dan berbagai jenis tanaman pangan guna memenuhi kebutuhan sebagai *functional food* melalui pemanfaatan teknologi tepat guna dan ramah lingkungan. Tujuan tahun ke-3 yaitu memperoleh biji kedelai dengan kandungan isoflavonoid tinggi, kandungan gula reduksi dan non-reduksi yang berimbang serta asam lemak tak jenuh majemuk yang tinggi melalui aplikasi bioteknologi ramah lingkungan dari bahan lokal dikombinasikan dengan ZPT. Penelitian ini mengikuti pola rancangan acak kelompok faktorial. Faktor pertama adalah inokulasi bakteri *Synechococcus* sp dengan dua aras, yaitu tanpa disemprot *Synechococcus* sp sebagai kontrol (B0) dan disemprot *Synechococcus* sp 2 kali, pada saat inisiasi bunga dan pembentukan polong (B1). Faktor kedua adalah konsentrasi sitokinin yang terdiri dari 4 taraf, yaitu tanpa sitokinin (S0), 2 ppm (S1), 4 ppm (S2) dan 6 ppm (S3), masing-masing diulang 5 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *Synechococcus* sp bersama dengan pemberian sitokinin memberikan hasil kandungan isoflavonoid dan asam lemak biji yang lebih rendah dibandingkan perlakuan tunggal. Inokulasi bakteri *Synechococcus* sp. meningkatkan kandungan isoflavonoid sebesar 1,31 mg/g dan lemak total sebesar 0,4% dibanding tanaman kontrol. Konsentrasi sitokinin 4 ppm terbaik untuk hasil biji, asam lemak tak jenuh dan lemak total biji kedelai.

**Kata kunci:** biji kedelai, gula reduksi, isoflavanoids, lemak tak jenuh,

*Synechococcus* sp

## **Aplikasi Bioteknologi Bakteri Fotosintetik dalam Meningkatkan Mutu Gizi Biji Kedelai**

Peneliti : Anang Syamsunihar<sup>1)</sup>, R. Soedradjad<sup>1)</sup>, Giyarto<sup>2)</sup>  
Mahasiswa terlibat : Ari Wahyudi<sup>1)</sup>  
Sumber Dana : Dirlitabmas Kementerian Ristek Dikti Tahun 2015  
Kontak email : asyamsunihar.faperta@unej.ac.id  
Diseminasi : --

<sup>1)</sup> Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Jember

<sup>2)</sup> Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

### **EXECUTIVE SUMMARY**

#### **Latar Belakang dan Tujuan Penelitian**

Pemanfaatan kedelai sebagai diet khusus di kalangan masyarakat Indonesia telah berkembang dengan pesat. Dalam diet tersebut, dikehendaki kedelai dengan kandungan antioksidan tinggi, khususnya isoflavon. Upaya penyediaan diet ini telah banyak dilakukan melalui rekayasa teknologi produksi, yang membawa konsekuensi terhadap tingginya harga jual produk tersebut. Akibatnya, tidak semua lapisan masyarakat yang membutuhkan, mampu mendapatkannya.

Upaya peningkatan kandungan antioksidan sangat terbuka, khususnya melalui teknik rekayasa budidaya. Teknik ini merupakan alternatif dengan memanfaatkan bioteknologi bakteri fotosintetik *Synechococcus* sp, suatu bakteri autotrof yang telah diketahui mampu hidup dan membentuk asosiasi dengan daun tanaman kedelai. Keunikan dari asosiasi ini adalah, kehadiran bakteri *Synechococcus* sp mampu meningkatkan kandungan protein biji meskipun kandungan N jaringan relatif tidak berbeda dengan tanaman tanpa asosiasi, serta menurunkan rasio asam lemak jenuh/asam lemak tak jenuh. Hal ini membawa kepada dugaan bahwa sumbangan asosiasi bersifat istimewa karena konversi N ke protein biji lebih tinggi daripada pada tanaman tanpa asosiasi (Syamsunihar, dkk., 2010).

Keistimewaan tersebut diduga berasal dari komposisi gula reduksi dan gula non-reduksi yang diproduksi dalam fotosintesis, baik oleh tanaman kedelai maupun oleh bakteri *Synechococcus* sp (Syamsunihar, dkk., 2013). Apabila benar, bahwa rangka C yang disumbangkan dari fotosintesis kedua individu yang berasosiasi ini penyebabnya, bukan tidak mungkin bahwa komposisi kandungan antioksidan di dalam biji juga bisa mengalami perubahan. Penelitian ini difokuskan kepada kandungan senyawa isoflavonoid tinggi, kandungan gula reduksi dan non-reduksi yang berimbang serta asam lemak tak jenuh majemuk karena biji kedelai merupakan sumber protein nabati pada diet manusia (Tepavčević et al., 2011).

Keberhasilan mendapatkan kedelai dengan kandungan isoflavonoids dan asam lemak tak jenuh yang tinggi melalui bioteknologi bakteri fotosintetik ini akan berdampak pada tersedianya *functional food* yang sehat, rendah residu bahan kimia yang berasal dari pupuk atau pun pestisida. Selain itu, pemanfaatan sumberdaya alam lokal akan berdampak nyata kepada pemeliharaan keragaman hayati oleh masyarakat petani secara sukarela.

Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah menghasilkan produk berbagai jenis tanaman pangan dalam memenuhi kebutuhan *functional food* melalui teknologi tepat guna dan ramah lingkungan.

Untuk mencapai tujuan tersebut, maka dirancang satu set penelitian multi tahun dengan tujuan tahun ke-3 yaitu memperoleh biji kedelai dengan kandungan isoflavonoid tinggi, kandungan gula reduksi dan non-reduksi yang berimbang serta asam lemak tak jenuh majemuk yang tinggi melalui aplikasi bioteknologi ramah lingkungan dari bahan lokal dikombinasikan dengan ZPT.

### **Metodologi Penelitian**

Penelitian dilakukan di area hutan untuk rakyat Dusun Sragi Tengah, Desa Sragi, Kecamatan Songgon, Kabupaten Banyuwangi, sedangkan analisis kandungan flavonoid, asam lemak dan gula biji kedelai dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Laboratorium Analisis Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan *Synechococcus* sp strain Situbondo, benih kedelai unggul varietas Baluran, dan Sitokinin (Aldrich cat. 13151).

Penelitian ini mengikuti pola rancangan acak kelompok lengkap faktorial. Faktor pertama adalah inokulasi bakteri *Synechococcus* sp dengan dua aras, yaitu tanpa disemprot *Synechococcus* sp sebagai kontrol (B0) dan disemprot *Synechococcus* sp 2 kali, pada saat inisiasi bunga dan pembentukan polong (B1). Faktor kedua adalah konsentrasi sitokinin yang terdiri dari 4 taraf, yaitu tanpa sitokinin (S0), 2 ppm (S1), 4 ppm (S2) dan 6 ppm (S3), masing-masing diulang 5 kali. Pemberian dilakukan pada saat tanaman berumur 28 hst, yaitu fase awal pembentukan bunga.

Data diperoleh dengan melakukan analisis kandungan isoflavonoids dalam biji kedelai mengikuti prosedur Huang *et. al.*, (2013) dan Zhishen *et. al.*, (1999); kandungan asam lemak menggunakan GC Hitachi 263-50; dan kandungan gula menggunakan larutan Luff-Schoorl (Justice Services, 2005). Data pendukung diperoleh dengan melakukan pengukuran persentase polong isi, berat biji per tanaman, dan berat 100 biji.

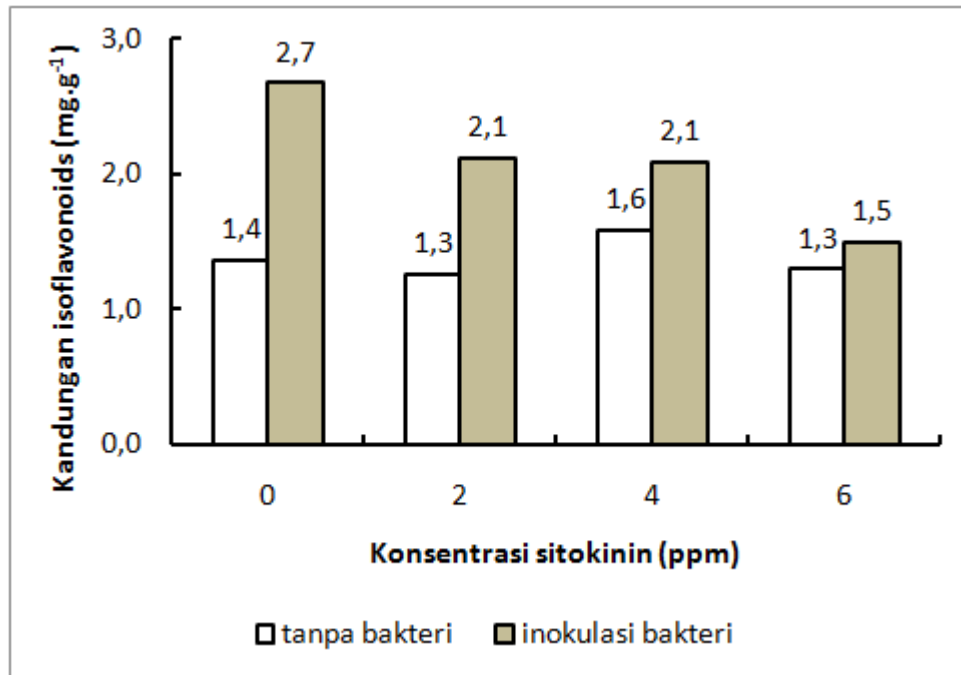
Tanaman uji (kedelai) di tanam di petak unit percobaan dengan ukuran 1,5 x 1,5 m menggunakan rancangan acak kelompok terbagi dengan lima kali ulangan. Guludan dibuat dengan ketinggian 50 cm untuk menghindari akibat buruk apabila curah hujan terlalu tinggi. Pengolahan tanah dilakukan sejak 24 April sampai dengan 4 Mei 2015. Analisis statistik dilakukan dengan tingkat kesalahan 10%, dengan asumsi kondisi suhu dan kelembaban di lahan berfluktuasi mengikuti kondisi musim.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan sidik ragam  $\alpha=0,10$  dan dilanjutkan dengan uji post-hoc LSD dengan tanaman tanpa disemprot *Synechococcus* sp dan tanpa pemberian sitokinin sebagai pembanding.

## **Hasil dan Diskusi**

Hasil analisis kandungan isoflavonoid menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *Synechococcus* sp meningkatkan kandungan isoflavanoid pada semua tingkat

konsentrasi sitokinin, namun hasil tertinggi dicapai pada saat tanpa dibarengi aplikasi sitokinin (Gambar 1).



Gambar 1. Kandungan isoflavonoid biji kedelai dengan berbagai perlakuan

Isoflavonoid merupakan salah satu senyawa penting di dalam biji kedelai. Kandungan isoflavonoid dapat ditingkatkan melalui pemberian konsentrasi sitokinin, apalagi jika dikombinasikan dengan rhizobacteria sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Taie, *et.al.*, 2008). Peningkatan kandungan isoflavanoid ini berkaitan dengan ketersediaan peningkatan fotosintesis serta kehadiran mikroorganisme seperti *Synechococcus* sp yang dapat memicu peningkatan sintesis senyawa-senyawa sekunder.

Adanya bakteri *Synechococcus* sp. dapat meningkatkan kandungan isoflavonoid sebesar 2,68 mg.g<sup>-1</sup>. Hal ini dikarenakan bahan baku pembentukan isoflvonoids adalah glukosida yang merupakan senyawa gula (Jokela, 2011). Gula merupakan produk utama fotosintesis, dimana proses ini meningkat pada tanaman kedelai yang berasosiasi dengan *Synechococcus* sp. (Syamsunihar, dkk., 2010). Peningkatan konsentrasi sitokinin di atas 4 ppm membuat kandungan isoflavonoid dalam kedelai semakin menurun dikarenakan kehadiran sitokinin tanpa dibarengi dengan morphactin justeru menurunkan kandungan isoflavonoids (Goyal & Ramawat, 2008).

Di lain hal, adanya bakteri *Synechococcus* sp. meningkatkan substansi pertumbuhan tanaman khususnya sukrosa sebagai bahan utama penyusun berbagai senyawa lain (Syamsunihar, dkk., 2008). Ketersediaan rangka C yang cukup memungkinkan sintesis protein, enzim dan senyawa-senyawa sekunder meningkat (Taie *et.al.*, 2008). Selain itu, bakteri *Synechococcus* sp. mampu meningkatkan kandungan auksin (Syamsunihar, dkk., 2008) yang merangsang enzim dalam aktivasi metabolisme sel dimana salah satunya sintesis metabolit sekunder.

Hasil analisis kandungan asam lemak biji kedelai ditunjukkan pada Tabel 1 di bawah ini. Terlihat secara umum perlakuan inokulasi bakteri *Synechococcus* sp menurunkan kandungan lemak pada semua aras sitokinin.

Tabel 1. Hasil analisis kandungan asam lemak dalam biji kedelai

Perlakuan		Kandungan Asam Lemak (%)			
Inokulasi	Sitokinin (ppm)	Asam stearat (C18:0)	Asam Oleat (C18:1)	Asam Arakidat (C20:0)	Asam Lemak Total
Non asosiasi	0	19,09	1,13	1,69	21,91
	2	-	1,62	0,14	1,76
	4	-	1,70	0,22	1,92
	6	-	1,56	1,18	2,74
Bakteri <i>Synechococcus</i> sp.	0	5,90	-	-	5,90
	2	-	1,52	1,50	3,02
	4	-	1,41	-	1,41
	6	0,20	1,20	-	1,40

Asam lemak pada biji kedelai secara garis besar dibedakan menjadi 2, yaitu asam lemak jenuh (*saturated fatty acid*) dan asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*). Asam lemak jenuh tidak memiliki ikatan rangkap pada atom-atom C penyusunnya, sebaliknya ditemukan pada asam lemak tak jenuh. Kehadiran ikatan rangkap pada atom C asam lemak tak jenuh, menjadikan senyawa ini dibedakan menjadi 2 golongan yaitu *monounsaturated fatty acids (MUFA)* dan *polyunsaturated fatty acids (PUFA)*. MUFA hanya mengandung 1 ikatan ganda, misalnya asam oleat, sedangkan

PUFA mengandung lebih dari 1 ikatan ganda, contohnya asam linoleat (asam lemak omega 6) dan asam linolenat (asam lemak omega 3) (Setyawardhani *et al*, 2012).

Hasil ini menunjukkan bahwa adanya perlakuan konsentrasi sitokinin dan bakteri *Synechococcus* sp. secara umum menurunkan kandungan asam lemak. Hal ini terjadi kemungkinan disebabkan oleh konversi rangka C hasil fotosintesis lebih besar untuk penyusunan protein (Syamsunihar, dkk., 20010).

Pemakaian bakteri *Synechococcus* sp. saja tanpa adanya konsentrasi sitokinin menghasilkan asam stearat sebanyak 5,90 % artinya 14% lebih rendah dari kandungan asam stearat pada tanaman kontrol, sedangkan asam lemak oleat dan asam arakidat tidak terdeteksi pada tanaman yang diberi bakteri *Synechococcus* sp. Patut diduga bahwa kehadiran bakteri fotosintetik ini meningkatkan aktivitas enzim *fatty acid saturase* sehingga kandungan asam lemak tak jenuh lebih rendah dibanding tanaman yang tidak dinokulasi *Synechococcus* sp.

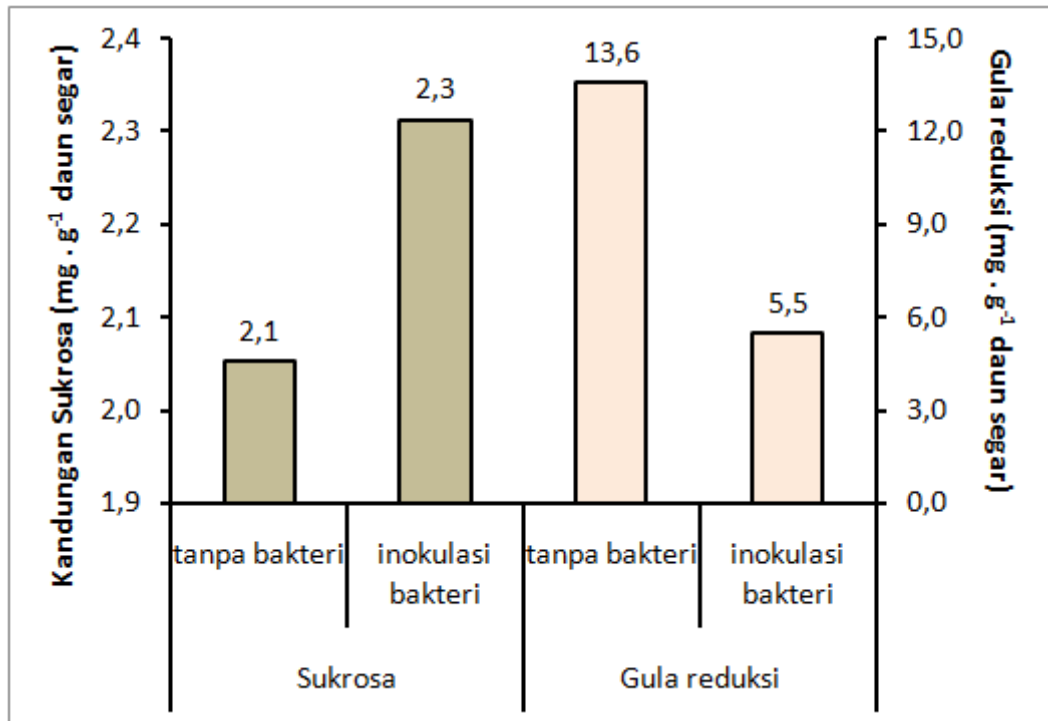
Pemberian konsentrasi sitokinin pada tanaman yang berasosiasi dengan bakteri *Synechococcus* sp. menunjukkan hasil terbaik pada 2 ppm yang menghasilkan asam lemak total sebesar 3,02%. Peningkatan konsentrasi semakin menurunkan kandungan senyawa ini. Disisi lain, perlakuan sitokinin saja tanpa adanya bakteri *Synechococcus* sp. menunjukkan semakin tinggi konsentrasi akan mengakibatkan kandungan asam lemak semakin tinggi pula.

Enzim *SuSy* (*Sucrose Synthase*) bersama-sama dengan *Sucrose Phosphate Synthase* (SPS) merupakan enzim terpenting dalam konversi gula ke sukrosa. Senyawa ini merupakan bentuk fotosintat yang melimpah di dalam tubuh tanaman agar bisa ditranslokasikan dari source menuju sink (Salisbury & Ross, 1992). Aktivitas enzim *SuSy* pada tanaman kedelai yang berasosiasi dengan bakteri *Synechococcus* sp lebih tinggi daripada tanaman kontrol (Syamsunihar, dkk., 2008).

Peningkatan aktivitas *SuSy* pada tanaman yang berasosiasi dengan bakteri *Synechococcus* sp meningkatkan kandungan sukrosa daun tetapi menurunkan kandungan gula reduksinya dibandingkan tanaman kontrol (Gambar 2). Hal ini terjadi karena gula reduksi yang merupakan produk primer dari proses fotosintesis



tanaman kemudian dikonversi menjadi bentuk gula stabil yang paling sederhana, yaitu sukrosa, oleh enzim *SuSy* tersebut untuk keperluan transportasi produk fotosintesis ke seluruh bagian tanaman.

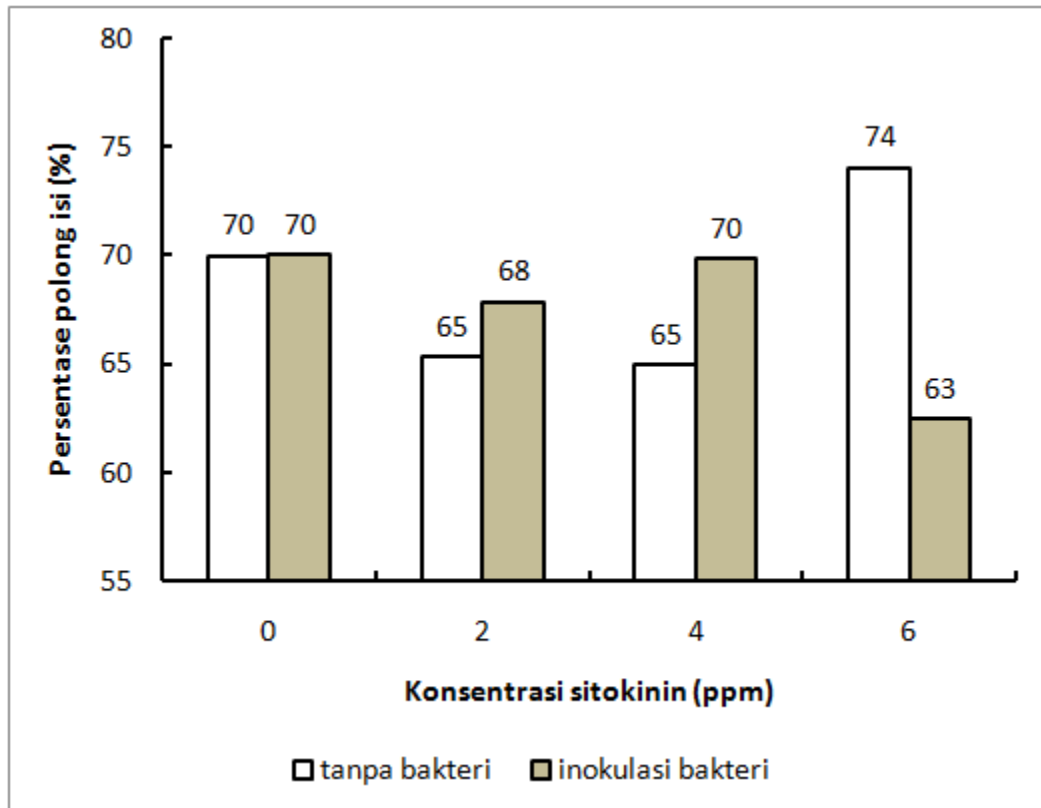


Gambar 2. Kandungan sukrosa dan gula reduksi pada tanaman kedelai akibat inokulasi bakteri *Synechococcus* sp.

Biji merupakan organ penimbun cadangan makanan berupa karbohidrat, lemak dan protein (Salisbury dan Ross,1995). Penyusunan senyawa karbon pada cadangan makanan diperoleh tanaman melalui proses fotosintesis yang memfiksasi CO<sub>2</sub>. Bakteri *Synechococcus* sp. pada tanaman kedelai mampu meningkatkan laju fiksasi CO<sub>2</sub> yang disertai dengan meningkatnya produksi tanaman kedelai dan nantinya juga akan menghasilkan kualitas biji yang baik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diberikan pada tanaman kedelai tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase polong isi (Gambar 3). Inokulasi bakteri *Synechococcus* sp. dengan konsentrasi sitokinin 4 ppm dapat meningkatkan persentase polong isi sebagai akibat meningkatnya fotosintat yang dihasilkan. Tanaman kedelai yang diberi konsentrasi sitokinin 6 ppm tanpa inokulasi bakteri menghasilkan persentase polong isi lebih banyak dibandingkan dengan yang diinokulasi bakteri *Synechococcus* sp.. Hal ini

kemungkinan dipengaruhi oleh status N di dalam jaringan sehingga tanaman tanpa bakteri mengalami gangguan dalam pengisian polong.

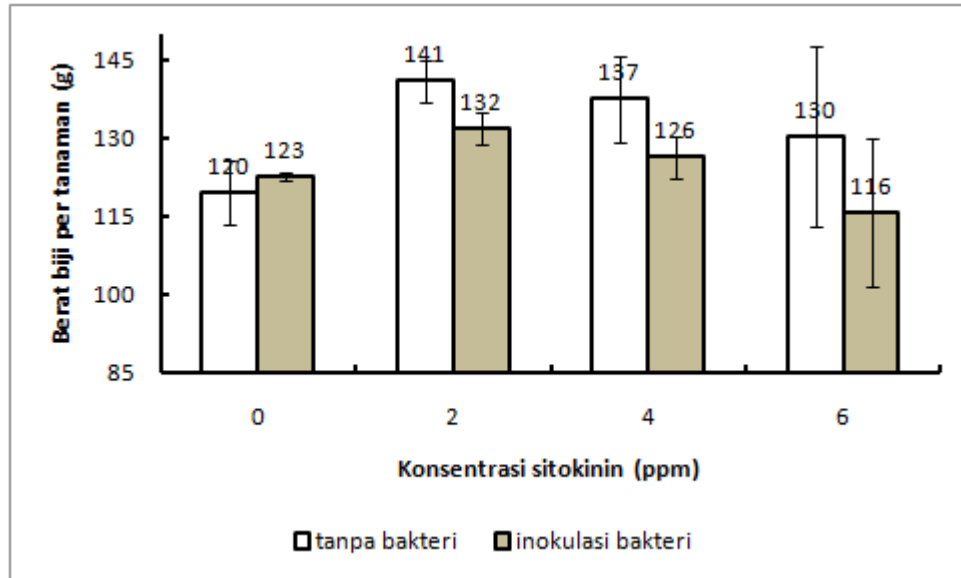


Gambar 3. Pengaruh interaksi bakteri *Synechococcus* sp. dan konsentrasi sitokinin terhadap persentase polong isi tanaman kedelai

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pembentukan polong isi yang lebih banyak, sangat ditunjang oleh terpenuhinya kebutuhan nutrisi atau hara yang diperoleh tanaman dari pupuk maupun unsur hara yang diberikan bakteri *Synechococcus* sp. yang dilepaskan dalam bentuk amonia ( $\text{NH}_3$ ). Amonia yang dilepaskan bakteri diterima melalui sel transfer ultrastruktur (TCU) yang biasanya dibentuk pada tanaman yang bersimbiosis dengan cyanobakter. Meskipun proses pembentukan polong pada tanaman diawali dari pertumbuhan tanaman, pertumbuhan buku dan cabang produktif tanaman yang pada akhirnya menentukan jumlah polong yang terbentuk (Soedradjad dan Avivi, 2005).

Berat biji per tanaman tertinggi diperoleh dari tanaman yang mendapat perlakuan konsentrasi sitokinin 4 ppm (Gambar 4). Inokulasi bakteri *Synechococcus* sp. berpengaruh positif pada tanaman yang tidak diberi konsentrasi sitokinin, sebaliknya

pada tanaman yang diberi konsentrasi sitokinin. Berat biji per tanaman terendah terdapat pada perlakuan konsentrasi sitokinin 6 ppm dengan bakteri *Synechococcus* sp.

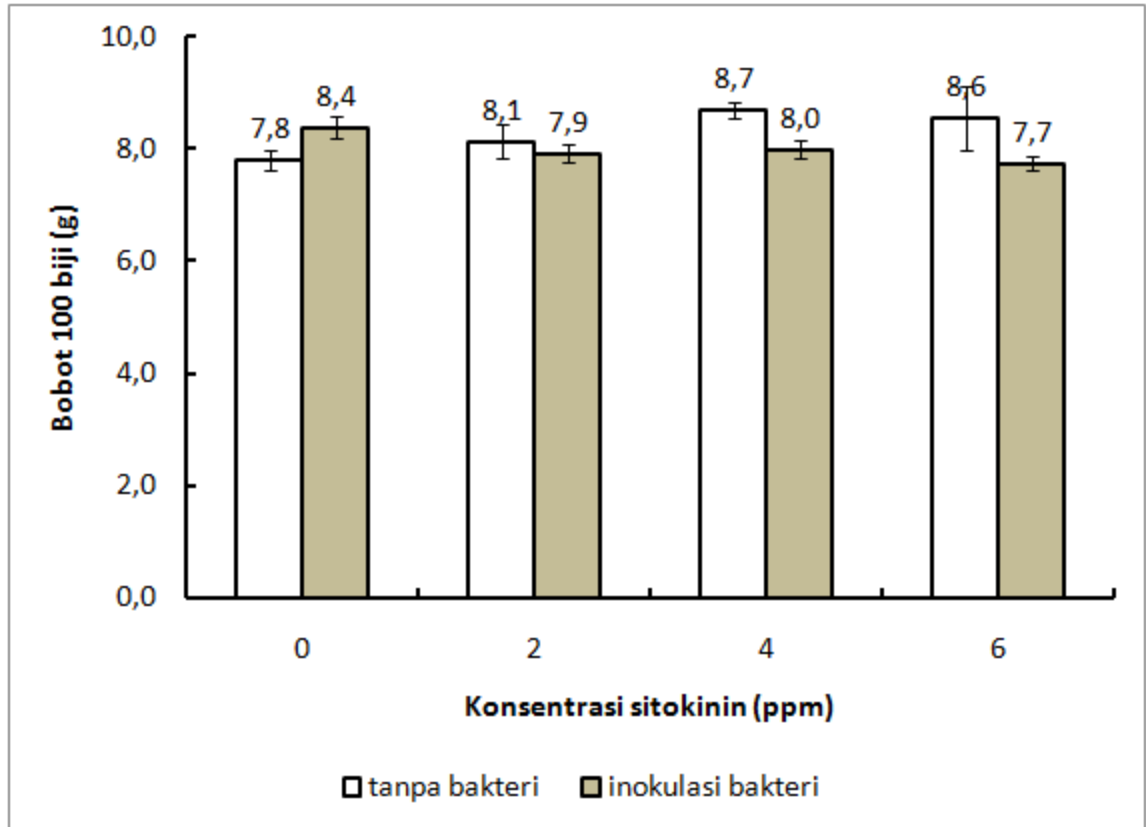


Gambar 4. Pengaruh interaksi bakteri *Synechococcus* sp. dan konsentrasi sitokinin terhadap berat biji kedelai per tanaman

Secara teoritis, salah satu usaha untuk mengatasi ketersediaan hara bagi tanaman adalah dengan memberikan tambahan unsur hara yang diperlukan sesuai dengan yang dibutuhkan. Kedelai menunjukkan respon terhadap pemupukan, terutama pada tanah yang miskin akan hara tanaman (Suprpto, 2002). Kecukupan hara dan tersedianya hormon pengatur pertumbuhan akan mampu meningkatkan jumlah dan bobot biji. Sutejo (2002), mengatakan secara fisik konsentrasi sitokinin dapat memperbaiki pori-pori tanah dan agregat-agregat tanah sehingga drainase dan aerasi tanah menjadi lebih baik dan kemampuan akar dalam menyerap unsur hara meningkat. Pupuk organik secara kimia berperan sebagai sumber N, P dan K serta unsur hara mikro lainnya dan secara biologi mampu menghidupkan jasad renik sehingga menunjang pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Jadi, dengan pemberian konsentrasi sitokinin dapat meningkatkan berat biji tanaman kedelai. Oleh karena itu, tidak bisa dijelaskan fenomena menurunnya berat biji per tanaman yang terjadi pada tanaman dengan aplikasi konsentrasi sitokinin dalam penelitian ini.

Hasil analisis bobot 100 biji menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dari berbagai konsentrasi sitokinin dan inokulasi bakteri *Synechococcus* sp. (Gambar 5).

Bobot 100 biji tertinggi sebesar 8,46 g diperoleh dari tanaman yang diberi perlakuan konsentrasi sitokinin 4 ppm tanpa bakteri. Hasil ini serupa dengan berat biji per tanaman (Gambar 4).



Gambar 5. Pengaruh interaksi bakteri *Synechococcus* sp dan konsentrasi sitokinin terhadap bobot 100 biji kedelai

Bobot 100 biji merupakan indikator kualitas biji. Kualitas biji ditentukan pada tingkat kebernasan. Dengan demikian, kualitas biji akan mempengaruhi beberapa kandungan biokimia di dalam biji kedelai, salah satunya adalah kandungan isoflavonoid.

## Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa:

1. Inokulasi bakteri *Synechococcus* sp yang dibarengi dengan pemberian konsentrasi sitokinin memberikan hasil kandungan isoflavonoid dan asam lemak biji yang lebih rendah dibandingkan perlakuan tunggal.

2. Inokulasi bakteri *Synechococcus* sp. dapat meningkatkan kandungan isoflavonoid sebesar 1,31 mg/g dan lemak total sebesar 0,4%.
3. Konsentrasi sitokinin terbaik untuk hasil biji, asam lemak tak jenuh dan lemak total di dalam biji kedelai adalah 4 ppm.

**Kata kunci:** biji kedelai, gula reduksi, isoflavanoids, lemak tak jenuh, *Synechococcus* sp

#### **Referensi:**

- Goyal, S. & K. G. Ramawat, 2008, Synergistic effect of morphactin on cytokinin-induced production of isoflavonoids in cell cultures of *Pueraria tuberosa* (Roxb. Ex. Willd.), **Plant Growth Regulation** 55(3):175-181.
- Huang, S., E.C. Chen., C. Wu., C. Kuo., and H. Tsay. 2013. Comparative analysis among three Taiwan-specific *Gentiana* species and Chinese medicinal plant *Gentiana scabra*. **Botanical Studies Int'l Journal**.54:54.
- Jokela, T., 2011, Synthesis of Reduced Metabolites of Isoflavonoids, and their Enantiomeric Forms, **Academic Dissertation**, the Faculty of Science of the University of Helsinki. 78 pp.
- Justice Services, 2005, Methods of Analysis for the Official Control of Feeding-Staffs Rules, **Subsidiary Legislation 437.69**, the Ministry for Justice, Culture and Local Government, Malta.
- Salisbury, F.B., dan C.W. Ross. 1995. **Plant Physiology**. Publishing Company. Belmont:Wadsworth. 540 p.
- Setyawardhani, D.A., A.W. Anggraeni., dan I. Wulandari. 2012. Peningkatan Konsentrasi Asam Lemak Tak Jenuh Dalam Minyak Kedelai Dengan Metode Fraksinasi Kompleksasi Urea. **Simposium Nasional RAPI XI FT UMS-2012**. K-1.
- Soedradjad, R. dan S. Avivi. 2005. Efek aplikasi *Synechococcus* sp. Pada daun dan pupuk NPK terhadap parameter agronomis kedelai. **Buletin Agronomi** Vol.: XXXIII, No.: 3: 17-23.
- Suprpto. 2002. **Bertanam Kedelai**. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sutejo. 2002. **Pupuk dan Cara Pemupukan**. PT Rineka Cipta. Jakarta
- Syamsunihar, A., R. Soedradjad, dan Usmani, 2008, Karakterisasi asosiasi bakteri fotosintetik dengan kedelai: II. Aspek fisiologis, **Laporan Penelitian Program Insentif KMNRT**, Lembaga Penelitian Universitas Jember.

- Syamsunihar, A., R. Soedradjad, dan A. Majid, 2010, Aktivitas Nitrogenase Bintil Akar Tanaman Kedelai (*Glycine max* L. Merrill) yang Berasosiasi dengan Bakteri Fotosintetik, *Synechococcus* sp., **Laporan Penelitian Fundamental** DIPA UNEJ tahun 2010, Lembaga Penelitian Universitas Jember.
- Syamsunihar, A., R. Soedradjad, dan Giyarto, 2013, Aplikasi Bioteknologi Bakteri Fotosintetik Dalam Meningkatkan Mutu Gizi Biji Kedelai, **Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun ke-1**, Universitas Jember.
- Taie, H. A. A., R. El-Mergawi, and S. Radwan, 2008, Isoflavonoids, Flavonoids, Phenolic Acids Profiles and Antioxidant Activity of Soybean Seeds as Affected by Organic and Bioorganic Fertilization, **American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.**, 4 (2): 207-213p.
- Tepavcevic, V., J. Cvejic, M. Posa and J. Popovic (2011). Isoflavone Content and Composition in Soybean, Soybean - Biochemistry, Chemistry and Physiology, Tzi-Bun Ng (Ed.), ISBN: 978-953-307-219-7, InTech, DOI: 10.5772/14736. Available from: <http://www.intechopen.com/books/soybean-biochemistry-chemistry-and-physiology/isoflavone-content-and-composition-in-soybean>.
- Zhishen, J., T. Mengcheng., and W. Jianming. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**. 64:555-559.