

DAYA REGENERASI DUA GENOTIPE PADI HASIL KULTUR ANTERA

Sri Romaito Dalimunthe¹, Indrastuti Apri Rumanti², Estria Furry P.², dan Angelita Puji Lestari²

¹BPTP Sumatera Utara, Jl. Jend. Besar A.H. Nasution No. 1B, Medan

²BB Padi, Jl. Raya 9 Cikampek Subang

ABSTRAK

Perakitan varietas padi memerlukan waktu dan dana yang relatif besar. Pembentukan galur homozigot dapat dipercepat dengan teknik kultur anter yang dapat menghasilkan galur-galur murni dalam satu generasi. Kemampuan regenerasi setiap kultivar padi berbeda. Permasalahan dalam penerapan kultur anter pada padi adalah rendahnya regenerasi tanaman hijau, karena terjadinya regenerasi tanaman albino atau tidak terjadinya regenerasi tanaman. Percobaan bertujuan untuk mengetahui ukuran dan tipe kalus yang tepat untuk meningkatkan daya regenerasi kalus dalam menghasilkan tanaman hijau pada dua kombinasi persilangan padi yang berbeda. Percobaan dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan BB Biogen Cimanggu Bogor, mulai bulan Oktober-Desember 2008. Genotipe yang digunakan adalah FM1 dan FM1R, dimana FM1R merupakan hasil persilangan resiprok dari FM1. Percobaan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Perlakuan terdiri atas 4 tipe kalus berbeda, yaitu (P1) kalus berukuran 1 mm dan belum terdiferensiasi, (P2) kalus berukuran 2 mm dan belum terdiferensiasi, (P3) kalus berukuran 3 mm dan belum terdiferensiasi dan (P4) kalus berukuran 2 mm dan sudah berdiferensiasi. Masing-masing perlakuan ditanam 3 kalus. Setiap genotipe di tanam sebanyak 5 botol dan digunakan sebagai ulangan. Efisiensi pembentukan plantlet hijau tertinggi pada genotipe FM1 adalah pada perlakuan P4 (30,77%), yaitu ukuran kalus >2 mm dan sudah mulai terjadi diferensiasi saat di media induksi kalus. Efisiensi pembentukan plantlet tertinggi genotipe FM1R ditunjukkan oleh perlakuan P1, yaitu ukuran kalus 1 mm, yaitu sebesar 37,50%. Pertumbuhan plantlet terbaik pada genotipe FM1 ditunjukkan oleh P4, sedangkan pada genotipe FM1R adalah P1, dengan ukuran kalus yang lebih kecil. Pada percobaan ini, pembentukan plantlet albino lebih banyak daripada plantlet hijau. Secara visual, respon kalus terhadap media regenerasi adalah: pembesaran kalus, perubahan warna kalus menjadi hijau cerah, tumbuhnya tunas dan akar serta pertambahan tinggi tunas yang cepat.

Kata kunci: Kalus, homozigot, regenerasi, albino, diferensiasi.

ABSTRACT

Rice varieties require time and funds are relatively large. Establishment of homozygous strains can be accelerated by anther culture technique that can produce pure strains in a single generation. Regeneration ability of each different rice cultivars. Problems in the application of anther culture in rice is low green plant regeneration, due to the regeneration of albino plants or plant regeneration. The experiment aims to determine the size and type of callus right to increase the yield of callus regeneration of green plants in two different cross combinations of rice. The experiments were conducted in laboratory tissue culture Biogen BB Cimanggu Bogor, starting in October-December 2008. Genotypes used were FM1 and FM1R, which is a hybrid reciprocal FM1R of FM1. The experiments were conducted using a completely randomized design. Treatment consisted of 4 different types of callus that (P1) callus size of 1 mm and yet differentiated, (P2) callus size of 2 mm and yet differentiated, (P3) callus size is 3 mm and not yet

differentiated and (P4) callus size of 2 mm and had differentiated. Each treatment were planted 3 callus. The genotypes at planting as many as 5 bottles and used as replicates. The efficiency of the formation of green plantlets was highest in the treatment of genotype FM1 P4 (30.77%), the callus size >2 mm and has already started to happen when the differentiation in callus induction media . The highest efficiency of formation of plantlets FM1R genotypes are indicated by P1 treatment callus size 1 mm is equal to 37.50%. The growth of plantlets in genotype FM1 best shown by P4, whereas the genotype FM1R is P1, with a smaller callus size. In this experiment, the formation of albino plantlets more than green plantlets. Visually, the response of callus to regeneration medium are: enlargement of callus, callus color changes into a bright green, the growth of shoots and roots and shoots rapid increase in height.

Keywords: Callus , homozygous , regeneration , albino , differentiation.

PENDAHULUAN

Kebutuhan beras senantiasa meningkat seiring pesatnya pertumbuhan penduduk. Berbagai upaya pemuliaan tanaman telah dilakukan untuk memperoleh varietas-varietas padi unggul yang berdaya hasil tinggi, tahan terhadap hama penyakit utama dan berumur genjah. Perakitan varietas memerlukan waktu dan dana yang relatif besar. Pembentukan galur homozigot dapat dipercepat dengan teknik kultur anter yang dapat menghasilkan galur-galur murni dalam satu generasi. Dengan teknik tersebut proses seleksi kemungkinan akan menjadi lebih efisien, karena galur homozigot dapat dibentuk pada musim kedua (Dewi, 2002).

Teknik kultur antera merupakan teknik kultur *in vitro* untuk memperoleh galur homozigot melalui pembentukan galur haploid ganda yang homozigot. Pada tanaman padi pemulia tanaman memanfaatkan teknik kultur anter untuk mempersingkat proses inbridisasi karena teknik ini memberi peluang untuk mendapatkan tanaman homosigot dalam 2-3 generasi. Selain itu penerapan teknik ini dapat meningkatkan efisiensi seleksi program pemuliaan padi apabila karakter target yang dikendalikan oleh gen resesif dapat terekspresi. Jika tanaman hijau dapat diperoleh secara efisien dan jumlah kromosom dapat diatur, teknik kultur antera dapat digunakan untuk lebih cepat mendapatkan galur-galur murni pada padi (Yoshida, 1995) sehingga mempercepat pelepasan varietas baru (Sengsai *et al.*, 2007). Teknik kultur antera telah banyak diaplikasikan pada tanaman padi dengan berbagai tujuan, diantaranya mencari galur tahan terhadap hama penyakit, pembentukan VUB, galur bermutu beras baik, toleran terhadap suhu dingin, serta perbaikan varietas toleran keracunan Fe (Abdullah *et al.*, 2003; Oono, 1981; Chu *et al.*, 2000; Kim, 1986; Suhartini, 2004).

Respon kalus dalam meregenerasikan tanaman dinyatakan dalam jumlah kalus menghasilkan tanaman hijau maupun albino (Dewi *et al.*, 2004). Kemampuan regenerasi setiap kultivar padi berbeda. Permasalahan dalam penerapan kultur anter pada padi adalah rendahnya regenerasi tanaman hijau, karena terjadinya regenerasi tanaman albino atau tidak terjadinya regenerasi tanaman (Dewi *et al.*, 2006; Dewi *et al.*, 2007), sehingga sulit untuk memperoleh keragaman genetik yang diinginkan (Masyhudi *et al.*, 1997). Fenomena ini muncul karena keberhasilan kultur anter dipengaruhi beberapa faktor, yaitu: genetik, lingkungan pada saat pengambilan sampel malai, kondisi tumbuh tanaman yang akan diambil anternya, fase pembentukan mikrospora pada saat anter diambil, pra-perlakuan anter sebelum dikultur, komposisi media, dan kondisi lingkungan kultur (Raina and Zapata, 1997; Sasmita *et al.*, 2001;

Munarso *et al.*, 2008). Penggunaan zat pengatur tumbuh poliamin putresin (butan-1, 4 diamin) dengan konsentrasi 10^{-3} M pada media dilaporkan dapat meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur anter padi varietas Taipei 309 (Dewi *et al.*, 2004).

Pengaruh genetik menyebabkan ukuran kalus untuk regenerasi juga bersifat *genotipe dependent*. Oleh karena itu, perlu dilakukan percobaan mengenai ukuran kalus yang tepat untuk disubkultur agar terjadi regenerasi tanaman menjadi tanaman hijau yang sempurna.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui ukuran dan tipe kalus yang tepat untuk meningkatkan daya regenerasi kalus dalam menghasilkan tanaman hijau pada dua kombinasi persilangan padi yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Percobaan dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan BB Biogen Cimanggu Bogor, mulai bulan Oktober-Desember 2008.

Metode

Genotipe yang digunakan adalah FM1 dan FM1R, dimana FM1R merupakan hasil persilangan resiprok dari FM1. Percobaan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Perlakuan terdiri atas 4 tipe kalus berbeda yaitu (P1) kalus berukuran 1 mm dan belum terdiferensiasi, (P2) kalus berukuran 2 mm dan belum terdiferensiasi, (P3) kalus berukuran 3 mm dan belum terdiferensiasi dan (P4) kalus berukuran 2 mm dan sudah terdiferensiasi. Masing-masing perlakuan ditanam 3 kalus. Setiap genotipe di tanam sebanyak 5 botol dan digunakan sebagai ulangan, sehingga jumlah satuan percobaan adalah 20 unit.

Prosedur Pelaksanaan

1. Pembuatan Media

Media regenerasi kalus yang digunakan adalah media MS yang telah dimodifikasi dengan putresin (Purwoko *et al.*, 2001; Somantri *et al.*, 2002). Media regenerasi adalah media MS yang diberi 0,5 mg/l NAA, 2,0 mg/l Kinetin dan 164,4 mg/l putresin 10^{-3} M. Kemudian ke dalam media regenerasi ditambahkan sukrosa sebanyak 60 g/l dan 40 g/l. Sebelum diberi pematat 3,0 g/l gelriteTM (phytagelTM produk Sigma-Aldrich), pH ditetapkan sebesar 5,8 dengan pH meter dan selanjutnya media disterilisasi dengan menggunakan otoklaf selama 20 menit pada suhu 120°C dan tekanan 18-20 psi. Komposisi media regenerasi kalus secara lengkap disajikan pada Tabel 1 (terlampir).

2. Pemindahan kalus ke media regenerasi

Kalus hasil kultur antera yang bertekstur kompak dan berukuran sesuai kriteria masing-masing perlakuan dipindahkan ke dalam botol kultur yang sudah berisi 25 ml media regenerasi. Setiap satu botol media dibagi 4 untuk menempatkan 4 perlakuan yang berbeda dan masing-masing bagian ditanam sebanyak 3 kalus. Selanjutnya, botol yang berisi kalus tersebut disimpan di ruang terang dengan suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sampai tumbuh planlet. Planlet dipelihara dan diamati sampai siap untuk dipindah ke media pengakaran.

Peubah Yang Diukur

Peubah-peubah yang diamati meliputi sebagai berikut: jenis organ hasil diferensiasi, jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino, tinggi plantlet dan jumlah kontaminasi/browning. Data yang diperoleh pada percobaan ini dibahas secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Kalus

Seleksi dilakukan terhadap kalus-kalus yang muncul pada media induksi kalus, untuk memilih ukuran dan jenis kalus yang sesuai dengan perlakuan yang akan diaplikasikan pada dua genotipe yang berbeda, yaitu FM1 dan FM1R (hasil resiprok dari FM1). Kalus dipilih yang berbentuk kompak dan berwarna putih atau putih kekuningan. Selanjutnya, kalus terpilih disub kultur ke dalam media regenerasi berupa media MS yang diberi 0,5 mg/l NAA dan 2,0 mg/l kinetin.

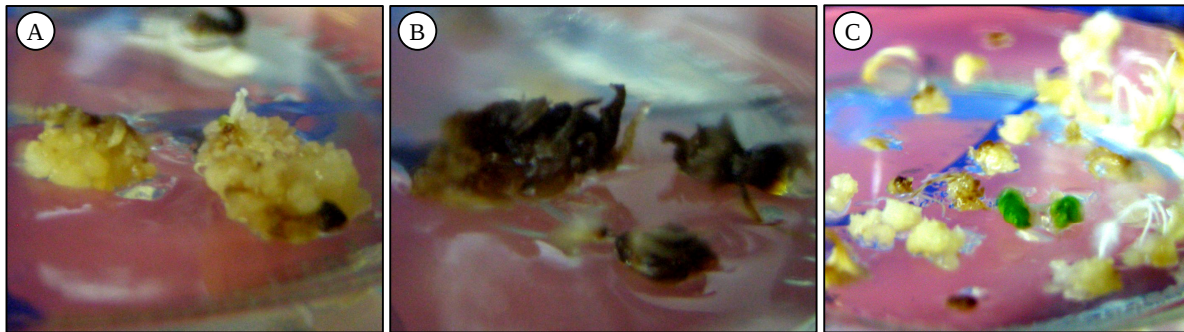
Secara umum, kondisi kalus pada beberapa hari setelah subkultur, tetap baik. Perubahan pertama yang terjadi berupa pembesaran kalus sampai mencapai 2-3 kali lipat dari ukuran semula dan selanjutnya terjadi diferensiasi. Diferensiasi kalus terjadi setelah satu minggu subkultur dan bervariasi pada kalus-kalus yang digunakan, ada yang berdiferensiasi menjadi tunas terlebih dahulu dan ada juga yang menjadi akar terlebih dahulu. Arah diferensiasi pada percobaan ini tampaknya terjadi secara acak dan tidak tergantung pada genotipe ataupun jenis perlakuan. Diferensiasi ke arah akar terlebih dahulu cenderung menginduksi tanaman (plantlet) albino. Kebanyakan plantlet hijau muncul dari kalus-kalus yang arah diferensiasinya adalah tunas dan kadang disertai akar. Namun, ada juga beberapa kalus yang memperlihatkan stagnasi atau tidak ada perubahan sama sekali baik berupa pembesaran, tumbuhnya tunas maupun akar.

Dua minggu setelah subkultur mulai terlihat adanya beberapa reaksi kalus ke arah negatif, seperti browning (Tabel 1, Gambar 1). Selain itu juga terlihat adanya kontaminasi berupa jamur, yaitu botol perlakuan P3 dan P4, keduanya terjadi pada ulangan 5. Browning menandakan adanya kerusakan sel yang bisa saja terjadi karena gangguan fisik maupun kimia. Sel-sel yang sensitif akan lebih cepat rusak dan mati ketika terekspose pada media dengan auksin atau sitokinin tinggi. Sel-sel yang stagnan tetap bersifat kompak dan putih mungkin terjadi karena kegagalan pembelahan dan pembesaran sel, sebaliknya pembesaran kalus yang terjadi pada kalus yang berwarna kekuningan, terjadi karena sel-sel aktif membelah dan

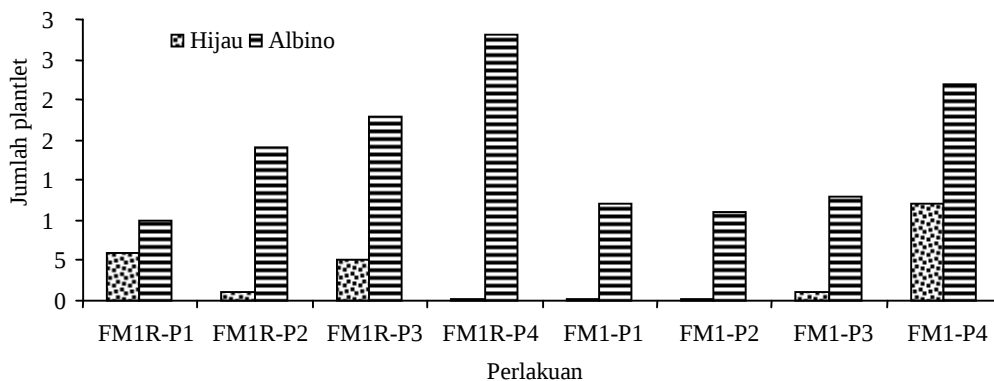
Tabel 1. Kondisi kalus selama berada di media regenerasi.

Genotipe	Perlakuan	Kalus putih-kompak	Kalus Stagnan	Browning/Mati
FM1	P1	9	0	6
	P2	10	3	2
	P3	9	0	6
	P4	12	0	3
FM1R	P1	11	0	4
	P2	7	0	8
	P3	11	0	4
	P4	10	0	5

P1 = ukuran kalus 1 mm; P2 = ukuran kalus 2 mm; P3 = ukuran kalus >2 mm tetapi belum berdiferensiasi; P4 = ukuran kalus >2 mm dan mulai berdiferensiasi.



Gambar 1. Kondisi kalus pada media regenerasi. A = Pembesaran kalus pada kalus normal, kompak dan putih; B = Kalus yang mengalami browning dan kemudian mati; C = Kalus yang stagnan.



Gambar 2. Jumlah plantlet hijau dan albino pada masing-masing perlakuan dan genotipe yang berbeda. membesar sebagai salah satu bentuk kehidupan sel. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak semua kalus yang tumbuh dapat menjadi kalus embriogenik. Menurut Munarso *et al.* (2008) menyatakan bahwa kalus embriogenik dapat diamati secara visual, yaitu kalus embriogenik akan berwarna agak kuning dan kompak, sedangkan yang bukan embriogenik akan berwarna putih karena mengandung pati.

Regenerasi Kalus

Pada kultur jaringan padi, regenerasi tanaman dari kalus dapat berupa plantlet hijau dan plantlet albino. Menurut Dewi *et al.* (2004), kalus yang berwarna kekuningan umumnya menghasilkan plantlet hijau, sedangkan kalus yang berwarna putih menghasilkan plantlet albino atau tanaman yang tidak mempunyai klorofil. Zapata dan Torrizo (1989) serta Masyhudi (1997) melaporkan bahwa faktor genotipe memegang peranan penting, baik dalam pembentukan kalus maupun regenerasinya.

Plantlet hijau yang dihasilkan dari semua kombinasi persilangan selama biakan rata-rata rendah. Hal ini disebabkan oleh tingginya pertumbuhan plantlet albino dari kalus yang terbentuk pada dua genotipe dan 4 perlakuan (Gambar 2), bervariasi antara 62,5-100% (Tabel 2). Frekuensi pembentukan plantlet albino kemungkinan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan kultur. Untuk induksi kalus diperlukan ruang gelap total dengan tujuan menghindari proses fotosintesis sehingga polen androgenik membelah dan membentuk kalus tanpa adanya cahaya, sedangkan untuk regenerasi kalus diperlukan ruang terang dengan cahaya yang kuat (1.000-3.000 lux). Hal ini dimaksudkan agar kalus dapat tumbuh (sel-sel membelah dan membesar), mengandung klorofil, dan berfotosintesis sehingga mampu berregenerasi menjadi tanaman

seutuhnya (Munarso *et al.*, 2008). Kondisi lingkungan kultur untuk regenerasi kalus pada percobaan ini kadang berubah-ubah, akibat gangguan listrik (turun naiknya tegangan listrik), sehingga cahaya atau temperatur ruangan kurang stabil. Menurut Masyhudi (1997), temperatur yang stabil sekitar 25°C cocok untuk kultur anter tanaman padi. Makin tinggi temperatur ruangan, makin banyak jumlah plantlet albino yang terbentuk (Chen *et al.*, 1986). Pada percobaan ini, semakin besar ukuran kalus yang di subkultur, semakin besar frekuensi pembentukan plantlet albino. Hal ini terjadi mungkin karena kalus terlalu lama di media induksi kalus.

Efisiensi kultur anter yang terkait dengan produksi plantlet hijau, menurut Zhang (1992) dapat diukur dari rasio plantlet hijau terhadap jumlah kalus dalam menghasilkan tanaman. Pada tanaman sereal, persentase tanaman hijau yang dapat diregenerasikan masih merupakan faktor pembatas dalam penggunaan kultur antera untuk pemuliaan (Zhou, 1996). Persentase plantlet hijau terhadap plantlet total yang terbentuk berkisar dari 0-37,50%. Produksi plantlet tertinggi pada FM1 adalah pada perlakuan P4, yaitu ukuran kalus >2 mm dan sudah mulai terjadi diferensiasi saat masih ada di cawan petri berisi media induksi kalus. Namun, efisiensi pembentukan plantlet tertinggi pada FM1R ditunjukkan oleh perlakuan P1 yaitu ukuran kalus 1 mm, yaitu sebesar 37,50%. Pada perlakuan ini, produksi tanaman albino juga rendah. Hasil pengamatan di atas menunjukkan bahwa regenerasi kalus dan pembentukan plantlet hijau sangat ditentukan oleh genotip. Dengan kata lain, genotip yang berbeda dalam satu spesies tanaman yang sama akan mempunyai respon yang berbeda terhadap media regenerasi yang sama.

Pada percobaan ini, jumlah maupun persentase tanaman albino, tampak selalu lebih banyak dibandingkan tanaman hijau (Tabel 2 dan Gambar 2). Hal ini terjadi karena ternyata penambahan putresin pada media, selain meningkatkan regenerasi tanaman hijau juga meningkatkan regenerasi tanaman albino, sehingga secara keseluruhan meningkatkan jumlah tanaman total (Dewi *et al.*, 2001).

Pertumbuhan Plantlet Hijau

Sukrosa dan zat pengatur tumbuh yang diberikan ke dalam media regenerasi kalus dimaksudkan untuk menginduksi pembentukan plantlet hijau. Menurut Li (1992), penelitian mengenai kemampuan suatu genotipe dalam menghasilkan tanaman hijau perlu dilakukan

Tabel 2. Jumlah dan persentase plantlet hijau dan albino terhadap jumlah plantlet total.

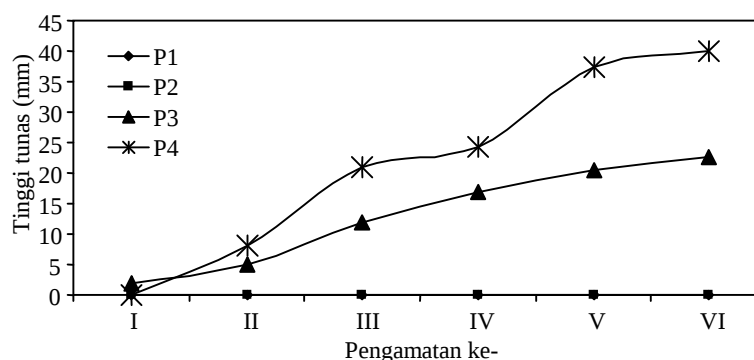
Genotipe	Perlakuan	Plantlet			
		Hijau	Hijau (%)	Albino	Albino (%)
FM1	P1	0	0	12	100
	P2	0	0	11	100
	P3	1	7.14	13	92.86
	P4	12	30.77	27	69.23
FM1R	P1	6	37.50	10	62.50
	P2	1	5	19	95
	P3	5	17.86	23	82.14
	P4	0	0	33	100

P1 = ukuran kalus 1 mm; P2 = ukuran kalus 2 mm; P3 = ukuran kalus >2 mm tetapi belum berdiferensiasi; P4 = ukuran kalus >2 mm dan mulai berdiferensiasi.

untuk menjamin keberhasilan pemuliaan padi melalui kultur antera. Selain tergantung dari genotipe yang digunakan sebagai bahan kultur, daya kultur antera juga dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media (Chung, 1992). Poliamin dilaporkan sebagai zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, mulai dari perkecambahan biji sampai senesen (Kumar *et al.*, 1997). Putresin adalah salah satu jenis zat pengatur tumbuh poliamin yang merupakan prekursor untuk sintesis poliamin lain, yaitu berturut-turut spermidin dan spermin melalui penambahan satu dan dua gugus amino-propil. Dewi *et al.* (2004) melaporkan bahwa putresin lebih efisien dibandingkan dengan spermidin dan spermin dalam meningkatkan induksi kalus dan regenerasi tanaman pada kultur antera model padi Taipei-309 (japonika). Genotipe FM1 dan FM1R merupakan hasil persilangan antara padi javanika dan padi lokal, sehingga pemberian putresin efisien juga diaplikasikan dalam meregenerasikan kalus-kalus dari genotipe tersebut.

Pertumbuhan plantlet hijau pada percobaan ini dapat mencapai rata-rata tinggi tunas 40 mm dan 48,17 mm, berturut-turut untuk FM1 dan FM1R setelah ditumbuhkan selama 30 hari. Grafik pertumbuhan tunas dari genotipe FM1 dan FM1R selama berada di dalam media regenerasi ditampilkan pada Gambar 3 dan 4. Pada FM1 pertumbuhan tunas terbaik ditunjukkan oleh perlakuan P4, mengindikasikan bahwa ukuran kalus yang disubkultur terlihat menentukan induksi plantlet hijau pada genotipe ini. Semakin besar ukuran kalus sampai batas tertentu akan meningkatkan jumlah regenerasi tanaman hijau. Bahkan kalus-kalus yang sudah terlihat pola diferensiasinya saat di media induksi kalus pun, masih memperlihatkan daya regenerasi yang baik. Hal ini mengindikasikan bahwa kisaran waktu subkultur untuk genotipe ini cukup luas, yaitu sejak kalus berukuran ≥ 2 mm sampai kalus mulai berdiferensiasi di media induksi kalus.

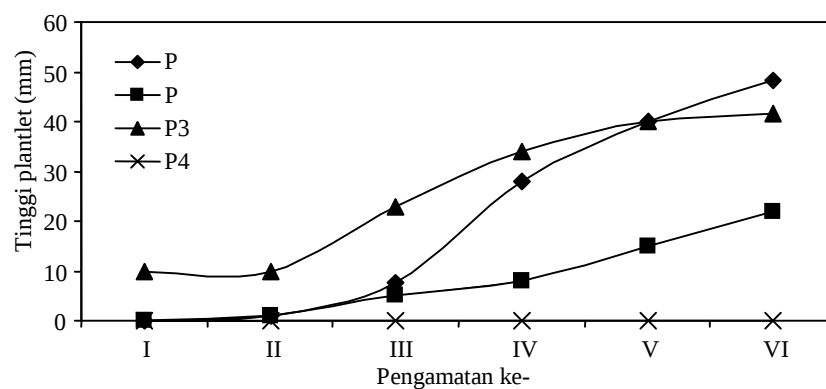
Gambar 4 memperlihatkan pertumbuhan tunas hasil regenerasi kalus dengan perlakuan P1 dan P3 yang baik pada genotipe FM1R. Perlakuan terbaik pada genotipe ini terlihat pada P1, yaitu ukuran kalus 1 mm, sedangkan P3 pertumbuhan kalusnya terlihat terhambat. Perlakuan P2 yaitu ukuran kalus 2 mm mempunyai pertumbuhan yang baik seperti halnya P3, tetapi hanya sampai saat pengamatan ke-5, dan selanjutnya terlihat konstan. Salah satu alasan yang mungkin untuk fenomena ini adalah pemanfaatan sukrosa dan ZPT oleh plantlet yang tumbuh dari kalus P2 lebih tidak efisien sehingga kandungannya dalam larutan lebih cepat tidak tersedia. Menurut Last dan Brettell (1990), pada media, sukrose sangat cepat dipecah menjadi glukosa dan fruktosa, sehingga setelah ± 3 minggu, media menjadi tidak lagi mengandung sukrosa. Pada media kemudian hanya akan mengandung glukosa dan/atau fruktosa,



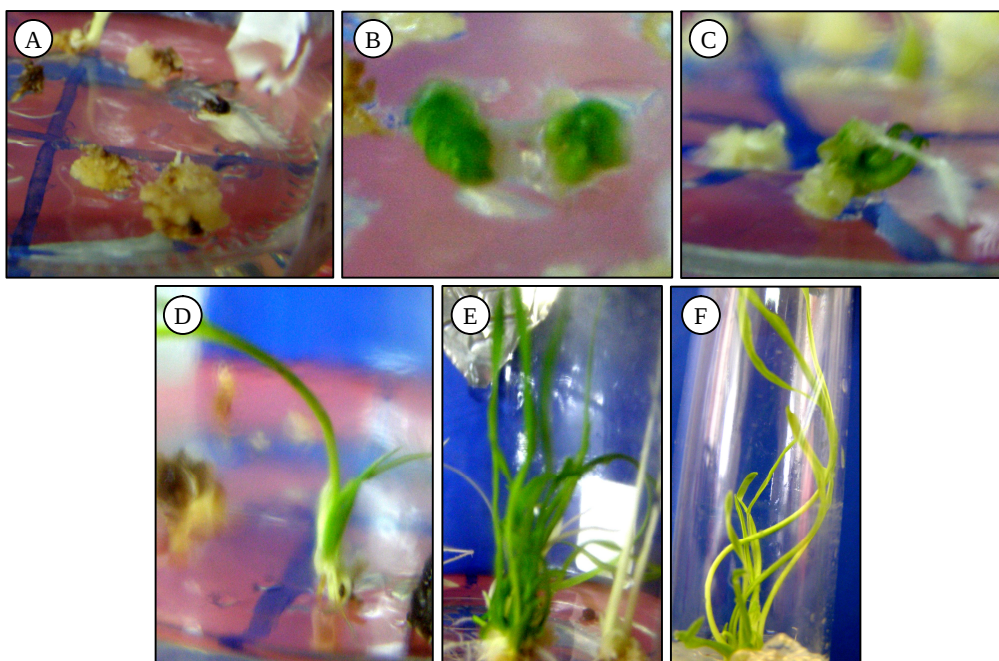
Gambar 3. Grafik pertumbuhan tunas FM1 pada media regenerasi.

sedangkan keberadaan glukosa pada media kultur bersifat inhibitor bagi perkembangan kalus dan eksplan (Bhojwani *et al.*, 2001)

Adapun tahapan pertumbuhan kalus selama di media regenerasi sampai menjadi tanaman hijau ditampilkan pada Gambar 5. Seperti telah di deskripsikan di atas, bahwa respon kalus yang pertama kali setelah di pindahkan ke media regenerasi adalah melakukan pembelahan sel, yang tampak sebagai pembesaran sel sampai mencapai 2-3 kali lipat kalus awal. Selanjutnya beberapa tipe kalus memperlihatkan perubahan warna yang sangat jelas, yaitu menjadi berwarna hijau saat dimulainya tahap diferensiasi, dan biasanya arah diferensiasinya ke arah pembentukan tunas terlebih dahulu, baru kemudian disusul dengan munculnya akar. Akar sangat membantu planlet untuk menyerap nutrisi dengan lebih cepat, sehingga segera diikuti dengan pertumbuhan yang cukup pesat, tetapi bervariasi tergantung genotipe dan ukuran kalus saat subkultur (Gambar 3 dan 4). Satu kalus dapat menghasilkan beberapa planlet



Gambar 4. Grafik pertumbuhan tunas FM1R pada media regenerasi.



Gambar 5. Tahapan pertumbuhan kalus sampai menjadi planlet sempurna pada media regenerasi. A = Pembesaran kalus, B = Kalus berwarna hijau sebagai tanda dimulainya diferensiasi, C = Tunas dan akar pertama, D = Pertumbuhan tunas, E = Kalus yang menghasilkan planlet lebih dari satu, F = Penampilan planlet sempurna setelah disubkultur ke media perakaran.

sekaligus seperti terlihat pada Gambar 5E. Selanjutnya, plantlet yang telah berumur ± 30 hari atau berukuran 4-5 cm segera dipindahkan ke tabung reaksi berisi media perakaran supaya akar lateral lebih banyak tumbuh guna mendukung tanaman saat aklimatisasi. Akar lateral sangat penting dalam proses penyerapan nutrisi dan air, dibandingkan akar utama (Taiz and Zeeiger, 2002).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil percobaan ini, disimpulkan beberapa hal, antara lain:

1. Efisiensi pembentukan plantlet hijau tertinggi pada genotipe FM1 adalah pada perlakuan P4 (30,77%), yaitu ukuran kalus > 2 mm dan sudah mulai terjadi diferensiasi saat di media induksi kalus.
2. Efisiensi pembentukan plantlet tertinggi genotipe FM1R ditunjukkan oleh perlakuan P1 yaitu ukuran kalus 1 mm yaitu sebesar 37,50%.
3. Pertumbuhan plantlet terbaik pada genotipe FM1 ditunjukkan oleh P4, sedangkan pada genotipe FM1R adalah P1, dengan ukuran kalus yang lebih kecil.
4. Pada percobaan ini, pembentukan plantlet albino lebih banyak daripada plantlet hijau.
5. Secara visual, respon kalus terhadap media regenerasi adalah: pembesaran kalus, perubahan warna kalus menjadi hijau cerah, tumbuhnya tunas dan akar serta pertambahan tinggi tunas yang cepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, B., Suwarno, B. Kustianto, dan H. Siregar. 2003. Pembentukan galur padi sawah tipe baru. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. hlm. 199-207.
- Bhojwani, SS., H. Pande and A. Raina. 2001. Factors affecting androgenesis in indica rice. Dep. of Botany, Delhi Univ. India.
- Chen, C.C., H.S. Tsay., and C.R. Huang. 1986. Rice (*Oryza sativa* L.): factors affecting androgenesis. In Y.P.S. Bajaj (ed.). *Biotechnology in agriculture and forestry*. vol. 2, crops I. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 123-138.
- Chu, Q.R., S.D. Linscombe, and H.X. Cao. 2000. Rice anther culture breeding strategy to develop elite southern U.S. long-grain lines. *Rice Biotech. Quart.* 41:11-14.
- Chung, G. S. 1992. Anther culture for rice improvement in Korea. In K. Zheng, T. Murashige (eds.). *Anther Culture for Rice Breeder*. Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou. China. p. 8-37.
- Deptan. 2008. Basis Data Pertanian. Departemen Pertanian. http://database.deptan.go.id/bdspweb/bdsp2007/hasil_kom.asp. Diakses tanggal 4 Maret 2008.
- Dewi, I.S. dan B.S. Purwoko. 2001. Kultur antera untuk mendukung program pemuliaan tanaman padi. *Bul. Agron.* 29(2):59-63.
- Dewi, I.S. 2002. Karakterisasi Morfologi dan Agronomi Galur Haploid Ganda Hasil Kultur Antera Padi Hasil Silangan Resiprok Subspesies Indica x Javanica. Laporan Topik Khusus, Program Pascasarjana-IPB, Bogor. 43 hlm.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, dan I.H. Somantri. 2007. Regenerasi tanaman pada kultur antera padi: pengaruh persilangan dan aplikasi putresin. *Bul. Agron.* 35(2):68-74.
- Dewi, I.S., A.D. Ambarwati, M.F. Masyhudi, T. Soewito, dan Suwarno. 1994. Induksi kalus dan regenerasi kultur antera padi (*Oryza sativa* L.). *Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan* 2:136-143.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, dan I. Somantri. 2001. Peningkatan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi Taipei-309 dan persilangan Taipei-309 x Asemendi dengan poliamin. *Prosiding Kongres*

- IV dan Simposium Nasional Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia, 23-24 Oktober 2001. PERIPI Komda Yogyakarta dan Faperta UGM, Yogyakarta.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, dan I.H. Somantri. 2004. Kultur antera padi pada beberapa formulasi media yang mengandung poliamin. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 9(1):14-19.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, I.H. Somantri, dan M.A. Chozin. 2006. Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera beberapa Aksesori Padi Indica Toleran Alumunium. *Jurnal Agrobiogen* 2(1):30-35.
- Dewi, I.S., I. Somantri, and S. Rianawati. 1996. Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia. *Indon. Agric. Res. And Dev. J.* 18:51-56.
- Fehr, W.R. 1987. *Principles of Cultivar Development*. Vol. 1. McGraw-Hill. Inc. New York.
- Gould, F.W. 1968. *Grass Systematics*. McGraw Hill Book. New York. 382 p.
- Kasryno, F. dan E. Pasandaran. 2003. Reposisi padi dan beras dalam perekonomian nasional. *Dalam F. Kasryno, E. Pasandaran, dan A.M. Fagi (penyunting). Ekonomi Padi dan Beras Indonesia*. hlm. 3-14.
- Kim, K.K. 1986. *Status of Korean biotechnology and its role in improving crop production*. In: Workshop on Biotechnology for Crop Improvement, Potentials, and Limitations. 13-17 October 1986. IRRI, Philippines. 35 p.
- Kumar, A., T. Altabella, M.A. Taylor, and A.F. Tiburcio. 1997. Recent advances in polyamine research. *Trends in Plant Sci.* 2:124-130.
- Last, D.J. and R.I.S. Brettell. 1990. Embryo yield in wheat anther culture is influenced by the choice of sugar in the culture medium. *Plant Cell Rep.* 9:14-16.
- Lee, S.Y., H.S. Kim, and T.O. Kwon. 2004. Variation in anther culture response and fertility of backcrossed hybrid between indica and japonica rice (*Oryza sativa*). *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*. 79:25-30.
- Li, M.F. 1992. Anther culture breeding of rice at the CAAS. In K. Zheng and T. Murashige (eds.). *Anther Culture for Rice Breeders. Proceedings of Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China*. October 1992. p. 75-86.
- Masyhudi, M.F., S. Tjokrowidjojo, S. Rianawati, dan I.S. Dewi. 1997. Regenerasi Kultur Antera Beberapa Varietas Tanaman Padi Sawah di Indonesia. *Jurnal Penelitian Pertanian* 16(2):77-85.
- Masyhudi, M.F., S. Tjokrowidjoyo, S. Rianawati, dan I.S. Dewi. 1997. Regenerasi kultur antera beberapa tanaman padi sawah di Indonesia. *Jurnal Penelitian Pertanian* 16:77-85.
- Munarso, Y.P., I.S. Dewi, dan Suwarno. 2008. Regenerasi tanaman dengan kultur anter beberapa persilangan padi hibrida. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 27(1):13-17.
- Oono. 1981. In vitro methods applied to rice: Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture. In: T.A. Thorpe (eds). *Academic Press Inc. Proc. of a symposium*. London. p. 273-298.
- Purwoko, B.S., A.W. Usman, dan I.S. Dewi 2001. "Poliamina meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi cv. Taipei 309", *J. Biosains Hayati*. 8:117-120.
- Raina, S.K. and F.J. Zapata. 1997. Enhanced anther culture efficiency of indica rice (*Oryza sativa* L.) through modification of the culture media. *Plant Breeding* (116):305-315.
- Santos, M., N. Boget, and J.M. Torne. 1995. Endogenous polyamine content during in vivo maturation and in vitro culture of maize pollen. *Plant Growth Regul.* 16:19-26.
- Sasmita, P. et al. 2006. Evaluasi pertumbuhan dan produksi padi gogo haploid ganda toleran naungan dalam sistem tumpang sari. *Bul. Agron.* 34(2):79-86.
- Sasmita, P., B.S. Purwoko, I.H. Somantri, S. Sujiprihati, dan M.A. Chozin. 2006. Evaluasi Pertumbuhan dan Produksi Padi Gogo Haploid Ganda Toleran Naungan dalam Sistem Tumpangsari. *Bul. Agron.* XXXIV(2):63-67.
- Sasmita, P., I.S. Dewi, dan B.S. Purwoko. 2001. Pengaruh generasi kalus terhadap regenerasi tanaman pada kultur antera padi (*Oryza sativa* L.) kultivar Gajah Mungkur. *Sain Tek.* hlm. 179-188.

- Sengsai, S., S. Peyachoknague, P. Sripichitt, A. Thongpan, and P. Pongtongkam. 2007. Anther culture of BC₁F₁ (KDML 105//IRBB5/KDML 105) hybrid to produce bacterial blight resistance double haploid rice. *Kasetsart. J. (Nat. Sci.)* (41):251-261.
- Somantri, I.H. dan A. Apriana. 2002. Induksi kalus dan regenerasi tanaman melalui kultur anter pada silangan padi tipe baru. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 21(2):20-23.
- Somantri, I.H., A.D. Ambarwati, dan A. Apriana. 2003. Perbaikan varietas padi melalui kultur anter. *Pros. Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. hlm. 208-214.
- Suhartini, T. 2004. Perbaikan varietas padi untuk lahan keracunan Fe. *Buletin Plasma Nutfah* 10(1):1-11.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. 3rd edition. Sinauer Associates, inc. Publisher. USA.
- Yoshida, T. 1995. Relationship between callus size and plant regeneration in rice anther culture. *JARQ* 29:143-147.
- Zapata, F.J. 1990. *Tissue Cultural Techniques*. International Rice Research Institute. Los Banos. Philippines.
- Zapata, F.J. and L.B. Torrizo. 1989. Breeding for rice varieties tolerant to adverse conditions through tissue culture at IRRI. *Strengthening Collaboration in biotechnology: International Agriculture Research and Private Sector*. p. 93-108.
- Zhang, Z.H. 1992. Anther culture for rice breeding at SAAS. *In* Zheng, K. and T. Murashige (eds.). *Anther Culture for Rice Breeders. Proceedings of Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China*. p. 38-74.
- Zhou, H. 1996. Genetics of green plantlet regeneration from anther culture of cereals. *In* Jain, S.M., S.K. Sopory, and R.E. Veilleux (eds.). *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*. Vol. 2. Applications. Kluwer Acad. Publ. Netherlands. p. 169-187.

Lampiran 1. Komposisi media induksi kalus dan regenerasi tanaman dalam kultur anther.

Bahan Kimia	Komposisi media regenerasi kalus (per liter)
	MS
Makro	50 ml
Mikro	5 ml
Putresine (P)	0,1644 g
FeEDTA	5 ml
Myo Inositol	5 ml
Pyridoxine HCl	2 ml
Nicotinic acid	2 ml
Thiamine HCl	2 ml
Glycine	2 ml
NAA	0,5 ml
Kinetine	2 ml
Sukrosa	40 g
IBA	-
Phytigel	3 g
pH	5,8