Perbaikan Varietas Padi melalui Kultur Anter

Ida H. Somantri, A. Dinar Ambarwati, dan Aniversari Apriana

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Kultur anter telah digunakan dalam rangka perbaikan varietas padi. Kultur anter mempunyai kelebihan, yaitu dapat mempersingkat waktu dalam memperoleh homozigositas. Namun demikian, terdapat kelemahan, antara lain produksinya regenerasi albino dan tidak semua genotipe responsif terhadap kultur anter. Hasil penelitian ini adalah (1) setiap genotipe memiliki respon yang berlainan terhadap kultur anter, (2) penambahan putresin dalam medium induksi kalus dan medium regenerasi dapat meningkatkan persentase regenerasi tanaman total, baik tanaman hijau maupun tanaman albino, (3) genotipe IR66160-121-4-5-3/Memberamo dan IR66738-18-2-2/Cabacu menghasilkan persentase induksi kalus dan persentase planlet dan tanaman hijau yang lebih tinggi daripada genotipe Turanta/IR64//IR64//Memberamo/IR59552. Di antara 3 genotipe yang digunakan dalam kultur anter, genotipe IR66160-121-4-5-3/Memberamo adalah genotipe yang paling responsif terhadap induksi kalus dan produksi tanaman total (tanaman hijau dan tanaman albino). Sehingga jumlah materi yang akan digunakan sebagai populasi untuk seleksi dipandang yang paling memadai. Saran yang dapat diajukan adalah penelitian perlu dilanjutkan dengan seleksi tanaman hasil regenerasi kultur anter.

Kata kunci: Padi, kultur anter, genetika

ABSTRACT

Anther culture has been used in rice improvement programs. It is well known that the obvious advantage of anther culture is the quick route to achieve homozygotes, however one of the problems arise in anther culture is that the production of albino plants and the dependence of culturability on genotypes. The result showed that each genotype has the different response to anther culture, the addition of putresine to callus induction and regeneration medium could increase the percentage of plant regeneration, both green plants and albino plants, the genotype of IR66160-121-4-5-3/Memberamo and IR66738-18-2-2/Cabacu gave the higher percentage of callus induction, total plants production and green plants production than Turanta/IR64//IR64//Memberamo/ IR59552. Among three genotypes used in anther culture, IR66738-18-2-2/ Cabacu had the highest response to callus induction and total plants production (green plants and albino plants). The experiment should be continued to select the plants produced from anther culture.

Key words: Rice, anther culture, genetic

PENDAHULUAN

Beras merupakan bahan makanan pokok bagi sebagian besar penduduk Indonesia. Swasembada beras pernah dicapai pada tahun 1984, namun untuk mempertahankannya bukan pekerjaan yang mudah, terbukti saat ini Indonesia belum dapat memenuhi permintaan dalam negeri. Oleh sebab itu, usaha untuk mendapatkan tipe tanaman baru yang lebih menjanjikan daripada varietas unggul periode 1990-an perlu dilakukan.

Peningkatan potensi hasil merupakan hal yang sulit, sehingga diharapkan melalui pembentukan tipe tanaman baru (tipe ideal) dapat mendukung usaha tersebut. Sifat penting dari varietas padi dengan tipe tanaman ideal antara lain ber-batang besar dan kuat, anakan sedikit dengan malai panjang, berbiji banyak, dan bernas. Faktor penting lain yang berpengaruh terhadap potensi hasil adalah kandungan protein atau N dalam daun (Dingkhun *et al.*, 1993; Krypt *et al.*, 1993).

Selain itu, perlu dicoba metode baru yang diharapkan dapat mempercepat perolehan varietas unggul. Kultur anter adalah salah satu cara yang dapat digunakan untuk mendapatkan galur dengan tipe tanaman baru (tipe ideal).

Perkembangan bioteknologi di negara maju mendorong Indonesia untuk ikut memanfaatkannya dalam pembangunan pertanian. Salah satu yang dapat ditangani adalah perbaikan kultivar padi. Dari beberapa cara yang tersedia, aplikasi kultur anter tampaknya memberi harapan untuk membantu program pemuliaan padi.

Secara teoritis, kultur anter memiliki beberapa keuntungan, yaitu (a) memperpendek siklus pemuliaan dengan diperoleh homozygositas secara cepat, (b) menambah efisiensi seleksi, (c) memperluas variabilitas genetik melalui produksi variasi gametoklonal, dan (d) gen resesif terekspresi lebih cepat (Zapata, 1990).

Padi (*Oryza sativa*) L. memiliki 3 jenis subspecies, yaitu Indica, Japonica, dan Javanica. Masing-masing jenis memiliki kelebihan dan kekurangan. Teknik kultur anter pertama kali berhasil dilakukan pada jenis Japonica (Niizeki dan Ono, 1968). Selanjutnya penelitian diperluas untuk jenis Indica (Reddy *et al.*, 1985; Zapata *et al.*, 1982). Sedangkan untuk jenis Javanica belum mendapat perhatian.

Keberhasilan kultur anter dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu komposisi media, praperlakuan, genotipe tanaman, dan lingkungan (Chu, 1978). Beberapa kelemahan kultur anter adalah kecilnya persentase regenerasi, albino, dan tidak semua genotipe responsif terhadap kultur anter. Walaupun demikian, kultur anter telah mulai dilakukan di Balitbio Bogor yang mempelajari silangan Javanica dengan Indica (Hanarida dan Rianawati, 1992).

Seiring dengan berkembangnya teknik ini diharapkan kelemahan kultur anter dapat ditekan dengan beberapa modifikasi medium atau praperlakuan sehingga dapat diperoleh material yang cukup untuk melakukan seleksi.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan adalah benih padi tipe baru hasil persilangan IR661160-121-4-5-3/Memberamo, IR66738-18-2-2/Cabacu, dan Turanta/IR64//IR64///Memberamo/IR59552.

Bahan tanaman ditanam di rumah kaca dalam ember plastik 10 l. Pada saat tanaman mencapai fase bunting, malai yang masih terbungkus (pada saat jarak antara aurikel daun bendera dengan daun di bawahnya antara 7-12 cm) dikoleksi sebagai sumber eksplan. Selanjutnya malai dicuci bersih, dibungkus dengan aluminium foil yang telah dilapisi tisu basah, dan disimpan pada suhu 10°C selama 8-10 hari. Setelah itu, malai disterilkan dalam laminar air flow, diambil anternya untuk dikulturkan pada media induksi kalus (Chu, 1982) dengan penambahan hormon auksin, sitokinin atau poliamin (putresin). Kalus yang terbentuk diregenerasikan pada media regenerasi (Murashige dan Skoog, 1962). Media induksi kalus yang digunakan adalah A1 (N6 + 2 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin + 60 g sukrosa + 0,16 g/l putresin) dan A2 (N6 + 2 mg/l 2,4 D + 50 g/l sukrosa). Sedangkan media regenerasi A1R (MS + 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l kinetin + 40 g sukrosa + 0,16 g/l putresin) dan A2R (MS + 2 mg/l kinetin + 1 mg/l NAA + 30 g sukrosa).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian perbaikan varietas padi melalui kultur anter disajikan pada Tabel 1, 2, dan 3. Tiga macam genotipe hasil persilangan dari tetua yang memiliki sifat-sifat yang mendukung terbentuknya varietas padi sawah tipe baru digunakan sebagai sumber eksplan untuk melakukan kultur anter.

Pada Tabel 1 dapat dilihat jumlah anter yang ditanam dan jumlah kalus yang terbentuk. Tampaknya tidak ada pengaruh macam medium (A1 dan A2) terhadap induksi kalus pada suatu varietas, tetapi respon induksi kalus antar varietas memperlihatkan perbedaan yang sangat berarti. Persentase rata-rata ketiga persilangan disajikan pada Tabel 1. Perbedaan yang menyolok adalah hasil persilangan Turanta/IR64//IR64///Memberamo/IR59552 adalah 0,9%. Sedangkan 2 persilangan lain, yaitu IR66160-121-4-53/Memberamo sebesar 7% dan IR66738-18-2-2/Cabacu sebesar 7,4% memperlihatkan hasil yang tidak terlalu berbeda. Timbul dugaan apakah hal ini disebabkan oleh latar belakang genetik yang sangat bervariasi dari eksplan. Hal ini belum dapat diterangkan secara ilmiah karena memerlukan data-data pendukung.

Hasil regenerasi kalus dari 3 persilangan disajikan pada Tabel 2, sedangkan persentase hasil induksi kalus dan regenerasinya disajikan pada

Tabel 1. Induksi kalus kultur anter untuk perbaikan padi sawah tipe baru, Laboratorium Kultur Jaringan Balitbio, MT 2001

Silangan	Media induksi	Jumlah anter	Jumlah kalus (%)	Rata-rata (%)
IR66160-121-4-5-3/Memberamo	A1	20.370	1.334 (6,6)	7,0
	A2	17.850	1.325 (7,4)	
IR66738-18-2-2/Cabacu	A1	7.350	486 (6,6)	7,4
	A2	6.720	550 (8,2)	
Turanta/IR64//IR64///Memberamo/IR59552	A1	14.700	146 (1,0)	0,9
	A2	17.430	141 (0,8)	

A1 = N6 + 2 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin + 60 g sukrosa + 0,16 g/l putresin, A2 = N6 + 2 mg/l 2,4 D + 50 g/l sukrosa, perhitungan persentase mengacu pada jumlah anter yang ditanam

Tabel 2. Regenerasi kultur anter pada perbaikan padi sawah tipe baru, Laboratorium Kultur Jaringan Balitbio, MT 2001

Silangan	Media regenerasi	Jumlah kalus	Jumlah tanaman hijau	Jumlah tanaman albino
IR66160-121-4-5-3/Memberamo	A1R	1.334	345	223
	A2R	1.325	161	117
IR66738-18-2-2/Cabacu	A1R	486	59	27
	A2R	550	15	5
Turanta/IR64//IR64///Memberamo/IR59552	A1R	146	21	19
	A2R	141	13	48

A1R = MS + 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l kinetin + 40 g sukrosa + 0,16 g/l putresin, A2R = MS + 2 mg/l kinetin + 1 mg/l NAA + 30 g sukrosa, perhitungan persentase mengacu pada jumlah kalus yang diregenerasi-kan

Tabel 3. Persentase induksi kalus dan regenerasi pada kultur anter perbaikan padi sawah tipe baru, Laboratorium Kultur Jaringan Balitbio, MT 2001

Silangan	Jumlah anter	Jumlah kalus	Jumlah tanaman hijau	Jumlah tanaman albino
IR66160-121-4-5-3/Memberamo	38220	2659 (7%)	506 (1,3%)	340 (0,9%)
IR66738-18-2-2/Cabacu	14070	1036 (7,4%)	74 (0,5%)	32 (0,2%)
Turanta/IR64//IR64///Memberamo/IR59552	32120	287 (0,9%)	34 (0,1%)	67 (0,2%)

Semua perhitungan persentase mengacu pada jumlah anter yang ditanam

Tabel 3. Persen-tase jumlah kalus yang menghasilkan tanaman hijau pada medium regenerasi yang diberi putresin 0,16 g/l lebih tinggi dibandingkan medium pada putresin, de-mikian juga persentase tanaman hijau (Tabel 2). Namun demikian, jumlah tanam-an albino juga lebih tinggi, kecuali pada persilangan Turanta/IR64//IR64//Membe-ramo/IR59552 (Tabel 2). Dugaan sementara adalah penambahan putresin dapat meningkatkan regenerasi tanaman baik tanaman hijau maupun albino. Apakah terdapat pengaruh genotipe (eksplan) dalam penelitian ini belum dapat diterang-kan karena perlakuan yang lalu kurang memadai.

Purwoko *et al.* (2000) melaporkan bahwa penambahan putresin 10⁻³ M ter-hadap media induksi kalus dan regenerasinya yang digunakan dalam kultur anter padi menghasilkan induksi kalus dan regenerasi yang lebih baik.

Demikian juga Santos *et al.* (1996), menyatakan bahwa poliamin berperan dalam morfogenesis polen jagung pada teknik *in vitro*, sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan mikrospora serta regenerasi tanaman tersebut. Putresin adalah salah satu jenis poliamin dan sering ditemukan pada tanaman (Galston dan Kaur-Sawhney, 1995).

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa persentase total regenerasi tanaman (tanaman hijau + albino), maupun tanaman hijau saja, pada 2 genotipe pertama (IR66160-121-4-5-3/Memberamo dan IR66738-18-2-2/Cabacu) lebih tinggi daripada genotipe ketiga (Turanta/IR64//IR64///Memberamo/IR59552), hal ini memperlihatkan bahwa respon genotipe berbeda (atau disebut *culture ability*) jika diperlakukan secara kultur anter (*in vitro*). Namun demikian, yang terpenting adalah planlet (tanaman hasil regenerasi) dari kultur anter dari setiap genotipe eksplan harus menghasilkan jumlah regenerasi yang memadai untuk melakukan seleksi.

Jumlah tanaman hijau menggambarkan besarnya kemungkinan untuk mendapatkan individu unik yang diinginkan. Dengan kata lain berdasarkan hasil penelitian ini, kemungkinan untuk mendapatkan individu yang diinginkan pada hasil kultur anter IR66160-121-4-5-3/Memberamo lebih tinggi dibandingkan dengan Turanta/ IR64//IR64///Memberamo/IR59552.

Efisiensi penggunaan kultur anter dalam pemuliaan menjadi tidak layak apabila jumlah planlet tanaman hijau yang dapat diregenerasikan tidak mencukupi jumlah materi sebagai suatu populasi yang akan diseleksi. Jumlah populasi yang diperlukan untuk bahan seleksi tergantung kepada tujuan seleksi dalam arti bagaimana kontrol genetik karakter yang diinginkan tersebut. Makin banyak gen yang mengontrol karakter yang diinginkan maka jumlah anggota materi populasi untuk bahan seleksi akan semakin besar.

Hal lain yang mengganggu efisiensi penggunaan kultur anter padi dalam pemuliaan adalah masalah albino dan ploidisitas yang dihasilkan. Hasil penelitian Ruey-Chih Su (1996) memperlihatkan bahwa planlet regenerasi hasil kultur anter padi adalah haploid ganda spontan ($1n = 24$) 11,2%, haploid ($n = 12$) 83,6%, dan aneuploid ($n = 12-24$) 5,2%.

Penelitian masih dilanjutkan untuk melihat persentase ploidisitas dari planlet tanaman hijau yang berhasil diaklimatisasikan. Selanjutnya tanaman yang haploid ganda spontan dapat segera masuk ke program seleksi, sedangkan tanaman yang haploid harus digandakan dulu ploidinya sebelum menjadi material yang dapat diseleksi.

KESIMPULAN

Hal yang dapat disimpulkan dari penelitian ini adalah

1. Setiap genotipe memiliki respon yang berlainan terhadap kultur anter.

2. Penambahan putresin dalam medium induksi kalus dan medium regenerasi dapat meningkatkan persentase regenerasi tanaman total, baik tanaman hijau maupun tanaman albino.
3. Genotipe IR66160-121-4-5-3/Memberamo dan IR66738-18-2-2/Cabacu menghasilkan persentase induksi kalus dan persentase planlet total tanaman dan tanaman hijau yang lebih tinggi daripada genotipe Turanta/IR64//IR64///Membe-ramo/IR59552.
4. Di antara 3 genotipe yang digunakan dalam kultur anter genotipe IR66160-121-121-4-5-3/Memberamo adalah genotipe yang paling responsif terhadap induksi kalus dan produksi tanaman total (tanaman hijau dan tanaman albino), serta produksi tanaman hijau, sehingga jumlah materi yang akan digunakan sebagai populasi untuk seleksi dipandang yang paling memadai.
5. Saran yang dapat diajukan adalah bahwa penelitian perlu dilanjutkan dengan seleksi tanaman hasil regenerasi kultur anter.

DAFTAR PUSTAKA

- Chu, C.C. 1978.** The N6 media and its application to anther culture of cereal crops. Proc. Symp. Plant Tissue Culture. Peking, May 25-30. Science Press. Peking. p. 43-50.
- Chu, C.C. 1982.** Anther culture of rice and its significance in distant hybridization. Rice Tissue Culture Planning Conference. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Dingkhun, M., F.W.T. Penning de Vries, and K.M. Miezán. 1993.** Improvement of rice plant type concept: Systems research openables interaction of physiology and breeding. *In* System Approach for Agricultural Development. Khmer Acad. Publ. Netherland.
- Galston, A.W. and R. Kaur-Sawhney. 1995.** Polyamines as endogenous growth regulators. *In* Davies, P.J. (Ed). Plant Hormones: Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology. Kluwer, Dordrecht.
- Hanarida, I. dan S. Rianawati. 1992.** Induksi kalus dan regenerasi pada kultur anter F1 padi (*Oryza sativa* L.). Makalah disampaikan pada Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Bogor, 29 Februari dan 2 Maret 1992.
- Kropt, M.Y., H.H. Van Laar, and H.F.M. Van Berge. 1993.** Oryza I: A basic model for irrigated lowland rice production.
- Murashige, T. and E. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol. 15:473-493.
- Niizeki H. and K. Ono. 1968.** Induction of haploid rice plants from anther culture. Proc. Japan Acad. 44:554-557.

- Purwoko, B.S., I. Hanarida, I.S. Dewi, dan E. Santosa. 2000.** Penggunaan poliamin untuk meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur anter padi dan aplikasinya dalam program pemuliaan padi. Laporan Penelitian Hibah Bersaing VIII/1. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Reddy, V.S., S. Leelavathi, and S.K. Sen. 1985.** Influence of genotype and culture medium on microspore callus induction and green plantlet regeneration in anthers of *Oryza sativa*. *Physiol. Plant* 63:309-314.
- Ruey-Chih Su. 1996.** Regeneration and transformation of rice (*Oryza sativa* L.) haploid cells. Ph.D. Thesis, Purdue University. 131 p.
- Santos, M., N. Boger, and J.M. Torne. 1996.** Endogenous poliamine content during *in vivo* maturasion and *in vitro* culture of maize pollen. *Plant Growth Regulation* 16:19-26.
- Zapata, F.J. 1990.** Tissue cultural techniques. RBTW 1 October-23 November 1990. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Zapata, F.J., M.H. Heu, and G.S. Khush. 1982.** Anther culture research for rice breeding at IRRI. International Rice Research Conference. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. April 19-23, 1982. 8 p.