

## Kultur Antera untuk Mendukung Program Pemuliaan Tanaman Padi

### *Anther Culture to Support Rice Breeding Program*

Iswari S. Dewi<sup>1)</sup> dan Bambang S. Purwoko<sup>2)</sup>

#### ABSTRACT

*The Objectives of rice breeding program in Indonesia is to obtain high yielding varieties, tolerant, resistant to abiotic and biotic stress and appropriate to planting system in specific area. To accelerate the obtainment of the varieties, a combination of conventional and no conventional breeding method can be used. One alternative procedure is anther culture. Doubled haploid lines can be obtained through colchicine treatment or ratooning of haploid plants. Plants with high heterozygosity (F1 or F2) can be used as anther source to obtain genetic variability of doubled haploid plants. High degree of homozygosity can be obtained at the first (DHO) generation of doubled haploid plants less than on year. Evaluation of agronomic characters follows in DHI and DH2 generations. Compared to conventional methods, the use of anther culture in rice breeding program has several advantages including efficiency of selection process, reduction of cost, time and labor. Effort to optimize anther culture method and its rize in rice breeding program in Indonesia is discussed.*

*Key words : Anther culture, Rice*

#### PENDAHULUAN

Dengan menyusutnya lahan subur di Pulau Jawa, peningkatan produksi pangan dilakukan antara lain dengan cara perluasan areal berupa lahan kering, lahan salin atau lahan pasang surut. Varietas unggul merupakan teknologi yang murah, mudah dan ramah lingkungan untuk menjamin pertanian yang berkelanjutan. Oleh karena itu, program pemuliaan padi di Indonesia ditujukan pada perakitan varietas padi yang lebih baik yaitu selain berdaya hasil tinggi dan mempunyai umur panen yang cocok dengan pola pertanaman di daerah tertentu juga toleran atau resisten terhadap cekaman abiotik atau biotik (Hanarida, 1989).

Secara konvensional, untuk menghasilkan suatu varietas unggul dengan sifat-sifat yang diinginkan perlu ditempuh prosedur penelitian yang sistematis, mulai dari pemilihan tetua, persilangan, seleksi galur, pengujian daya hasil dan perbanyakan benih, diakhiri dengan pelepasan varietas unggul, sehingga memerlukan waktu 7-10 tahun (Fehr, 1987). Untuk mempercepat perakitan varietas unggul harus diterapkan suatu kombinasi prosedur pemuliaan konvensional dengan prosedur bioteknologi. Salah satu prosedur alternatif yang dianjurkan dalam perakitan varietas baru adalah penggunaan sistem haploid, yaitu dengan terlebih dahulu membuat galur diploid homozigos atau galur murni dengan jalan menggandakan kromosom dari individu haploid (Croughan, 1995).

Pemuliaan pada tanaman menyerbuk sendiri ditujukan untuk mendapatkan galur-galur murni yang hampir mendekati 100 % homozigot dengan sifat-sifat

yang unggul. Umumnya galur-galur murni tersebut diperoleh dengan cara persilangan yang diikuti oleh serangkaian proses seleksi pada tiap generasi, misalnya pada metode pedigree. Pada pemuliaan padi, proses menyilangkan dan seleksi tersebut dapat berlangsung dalam 5 sampai 10 generasi (Oono, 1997; Dewi *et al.*, 1996).

Dengan menggunakan sistem haploid, proses pemuliaan untuk memperoleh galur-galur murni yang lama tersebut dapat lebih singkat melalui satu sampai dua generasi saja. Pada pemuliaan dengan cara menyilangkan (*cross-breeding*) dimana sejumlah [n] gen independen (*unlinked*) terlibat, kemungkinan untuk memperoleh individu homozigot yang spesifik pada generasi F2 adalah  $(1/2)^n$  untuk sistem haploid dan  $(1/4)^n$  untuk sistem diploid. Oleh karena itu pada sistem haploid, efisiensi seleksi meningkat secara nyata jika n meningkat (Oono, 1997; Chung, 1992; Sun dan Zhao, 1992). Galur murni dapat diseleksi dari populasi haploid ganda yang homogen dan homozigot. Jadi, hasil rekombinasi dari persilangan difiksasi sebagai galur-galur homozigot dan galur-galur harapan diseleksi berdasarkan keunggulan sifat-sifat agronominya. Populasi tanaman yang diseleksi juga akan lebih sedikit. Populasi haploid ganda minimum yang diperlukan untuk evaluasi bervariasi tergantung dari jumlah gen untuk seleksi. Jika perbedaan pada tetua persilangan adalah sejumlah n gen dan diasumsikan tidak terpaut, maka minimum sebanyak  $2^n$  tanaman harus ditanam agar semua genotipe homozigot dapat terwakili, sementara dengan pemuliaan konvensional diperlukan sebanyak  $4^n$  tanaman. Selain itu tanaman haploid ganda

1) dan 2) Staf Pengajar Jurusan BDP, Fakultas Pertanian IPB, Bogor

yang terseleksi juga dapat digunakan sebagai tetua intermediat untuk disilangkan lebih lanjut sebagai tetua bagi pembentukan hibrida F1 (Oono, 1997; Dewi *et al.*, 1996; Masyhudi, 1994; Chung, 1992; Sun dan Zhao, 1992).

Galur-galur murni dari tanaman haploid yang kromosomnya digandakan dapat diperoleh secara *in-vitro*, antara lain dengan kultur antera. (Dewi *et al.*, 1996; Faroughi-Wehr dan Wenzel, 1993).

**Kultur Antera**

Kultur antera merupakan salah satu teknis kultur jaringan yang dapat mempercepat perolehan tanaman homozigot dari heterozigot tanpa disukarkan oleh hubungan dominan resesif, sehingga siklus pemuliaan dapat lebih singkat karena dapat menghilangkan sebagian besar dari kegiatan seleksi per generasi (6-8 generasi) yang umum pada pemuliaan konvensional (Fehr, 1987; Croughan, 1995; Dewi *et al.*, 1996). Mikrospora (butir sari atau *pollen* muda pada tahap perkembangan awal uninukleat sampai awal binukleat) yang terdapat di dalam antera dapat diinduksi secara *in-vitro* agar memproduksi tanaman atau *plantlet* (Dewi *et al.*, 1996; Masyhudi, 1994; Chung, 1992; Sun dan Zhao, 1992). Pollen muda dapat langsung memproduksi embrio (*androgenesis*) atau secara tak langsung melalui pembentukan kalus (*caulogenesis*) yang kemudian beregenerasi menjadi *plantlet* dengan adanya ZPT pada media kultur. Pollen adalah haploid, sehingga tanaman yang dihasilkan dari pollen atau mikrospora selama kultur juga akan haploid.

Pada kultur antera padi, tanaman haploid umumnya diperoleh melalui dua tahap, yaitu tahap induksi butir tepung sari menjadi kalus atau embrioid dan selanjutnya tahap diferensiasinya menjadi tanaman kecil atau *plantlet*. Tanaman akan diregenerasikan dari kalus dalam 3-6 minggu setelah kalus dipindahkan dari medium induksi ke medium regenerasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur antera padi antara lain genotipe tanaman sumber antera, komposisi media, kondisi fisiologis tanaman donor, tahap perkembangan pollen dan praperlakuan dengan terapi suhu rendah pada *eksplan* (Croughan, 1995; masyhudi, 1994; Faroughi-Wehr dan Wenzel, 1993; Chung, 1992; Sun dan Zhao, 1992).

Tanaman haploid ganda dapat diperoleh secara spontan, atau diinduksi dengan perlakuan kolkisin dan dipangkas atau ratooning pada tanaman haploid. Tanaman-tanaman haploid ganda yang dihasilkan melalui kultur antera ini bersifat homozigot penuh dan *breed tue*, karena kedua kopi informasi genetik pada tanaman-tanaman tersebut identik. Tanaman dengan heterozigositas tinggi (F1 atau F2) dapat digunakan sebagai sumber antera untuk mendapatkan keragaman genetik pada tanaman haploid ganda. Tanaman-tanaman dengan heterozigositas tinggi segera dapat diperoleh pada generasi tanaman haploid ganda pertama (DH0) dalam waktu kurang dari 1 tahun, sedangkan evaluasi karakter agronomi utama dapat dilakukan pada generasi DH1 dan DH2. Dibandingkan dengan sistem pemuliaan konvensional, keuntungan penggunaan kultur antera pada program pemuliaan terutama adalah meningkatkan efisiensi proses seleksi, menghemat biaya, waktu dan tenaga kerja (Gambar 1).

Waktu	Sistem Pedigree	Kulture Antera	
	1	Hibridisasi	Hibridisasi
2	F1	F1 dan Kulture Antera	
3	F2	Perbanyakan benih dan	Skrining dan pengujian-pengujian
4	Pedegree (F3-F9) (Skrining dan pengujian-pengujian)	Uji daya hasil	
5		Uji Adaptasi Regional	Perbanyakan Benih
6		S	
7			
8	Uji Adaptabilitas Regional		
9			
10	Perbanyakan Benih		
11			
12			
13			
14			
15			

Gambar 1. Perbandingan waktu pemuliaan antara sistem pedigree dan kultur antera (modifikasi dari Chung, 1992).

*Penggunaan Kultur Antera dalam Program Pemuliaan Padi*

Penggunaan teknik kultur antera di dalam program pemuliaan padi sudah menghasilkan beberapa varietas unggul baru. Di Cina, pada umumnya varietas yang dilepas adalah varietas-varietas yang berdaya hasil tinggi, kualitas yang baik, resisten terhadap hama dan penyakit utama dan toleran terhadap cekaman kekeringan dan kondisi tanah yang berbeda. Sampai tahun 1985 saja, sebanyak 81 varietas padi unggul telah dilepas (Hu, 1985). Kultivar Hua Yu no. 1 yang dapat menghasilkan 7,5 ton/ha sampai sekarang masih digunakan oleh petani di Cina bagian selatan, khususnya di propinsi Liaoning (Li, 1992). Sementara itu di Korea, pemuliaan padi difokuskan pada perakitan varietas-varietas unggul yang dapat digunakan untuk bermacam kebutuhan pangan dan industri makanan, toleran suhu rendah, dan toleran terhadap mekanisasi dan biaya rendah (Chung, 1992). Empat varietas telah dihasilkan melalui kultur antera dan dilepas kepada petani, yaitu Hwaseongbyeon pada tahun 1985, Hwaseongbyeon pada tahun 1991. Keberhasilan negara-negara tersebut dalam merakit varietas unggul melalui penggunaan kultur antera di dalam program pemuliaan padi menunjukkan bahwa kultur antera merupakan teknik yang secara nyata sangat bernilai di dalam program perbaikan tanaman padi.

Di Indonesia kultur antera padi diintroduksi pada tahun 1991 setelah beberapa peneliti dikirim ke IRRI (*International Rice Research Institute*) di Filipina (Masyhudi, 1992). Penelitian pertama mengenai kultur antera yang dipublikasikan pada tahun 1992 adalah mengenai berbagai media untuk menginduksi dan meregenerasikan kalus (Hanarida dan Rianawati, 1992a dan 1992b; Masyhudi, 1992). Selanjutnya Dewi *et al.* (1994) yang bekerja dalam program perbaikan padi sawah, mendapat media N6 yang diberi 2,4-D, NAA dan kinetin efektif untuk menginduksi dan meregenerasikan kalus pada tanaman F1 hasil silang *indica/indica*, yaitu: IR64/RP1837-15-3-2, IR64/Sipulut dan IR64/Aceh-aceh. Efisiensi metode kultur antera dalam menghasilkan tanaman hijau menentukan

kegunaan teknik ini dalam pemuliaan tanaman dan studi genetik (Dewi *et al.*, 1996; Zhou, 1996; Chung, 1992; Li, 1992; Zapata *et al.*, 1993).

Induksi kalus dan regenerasi tanaman dipengaruhi terutama oleh kultur teknik, walaupun keduanya ada di bawah kontrol genetik. Frekuensi induksi kalus dan pembentukan tanaman hijau dikendalikan oleh banyak gen (gen minor atau poligenik). Oleh karena itu, genotipe tanaman donor mempunyai peran penting dalam menentukan frekuensi produksi tanaman melalui kultur antera (Masyhudi *et al.*, 1997; Masyhudi dan Rianawati, 1995; Razdan, 1995; Chung, 1992). Pada kultur antera padi terdapat perbedaan yang nyata dalam regenerasi tanaman hijau baik diantara genotipe maupun di antara sub species (Zhou, 1996). Penelitian yang dilakukan pada ketiga sub species padi menunjukkan bahwa padi sub species *javanica* mempunyai kemampuan yang tertinggi dalam menghasilkan tanaman hijau (*high anther culturability*) diikuti oleh *javanica* dan *indica* (Dewi *et al.*, 1996). Masalah dan penelitian yang telah dilakukan untuk penggunaan kultur antera dalam program pemuliaan padi disajikan pada Tabel 1.

Kultur antera sudah digunakan oleh Balitpa, Sukamandi bekerjasama dengan Balitbio, Bogor dalam program pemuliaan padi untuk perbaikan ketahanan atau toleransinya terhadap cekaman biotik seperti wereng coklat dan hawar daun bakteri (Dewi *et al.*, 1994) dan cekaman abiotik seperti kekeringan, tanah salin, tanah rawa (Suwarno, 1996; Rianawati, Ambarwati dan Dewi, 1995), keracunan besi (Hanarida, 1997; Suhartini *et al.*, 1997) dan keracunan aluminium (Suhartini *et al.*, 1997). IPB bekerjasama dengan Balitbio, sejak 1997 melakukan penelitian kultur antera di bidang perbaikan media kultur dengan menggunakan poliamin dan usaha perakitan padi gogo toleran cekaman intensitas cahaya rendah dan aluminium (Purwoko, 2000). Beberapa hasil penelitian perbaikan tanaman padi melalui kultur antera disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Masalah dan penelitian yang telah dilakukan untuk penggunaan kultur antera dalam program pemuliaan padi.

Masalah yang Dipecahkan	Penelitian/Studi Telah Dilakukan pada :
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metode untuk mendapatkan jumlah tanaman yang cukup (seleksi, evaluasi)</li> </ul>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Media; komposisi media dasar (MS, N6, LS, He, L8, M8)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>• ZPT: 2,4-D, NAA, IAA, Kinetin, BA</li> <li>• Suplemen: CW, ekstrak labu, ekstrak kentang CH, poliamin</li> </ul> </li> <li>2. <i>Anther Culture Ability</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Genotipa (<i>high antherculturability</i>)</li> <li>• Kondisi fisiologi tanaman donor</li> <li>• Tahap perkembangan antera (uninukleat)</li> <li>• Pra perlakuan (suhu rendah 5 – 10<sup>0</sup> C)</li> <li>• Populasi antera</li> <li>• Sub kultur kalus (ukuran 1 –2 mm, jenis embriogenik)</li> <li>• Aklimatisasi (air, lumpur, intensitas cahaya)</li> </ul> </li> </ol>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konfirmasi stabilitas genetik dari prigeni</li> </ul>	<p>Studi generasi DH1-DH5 pada kondisi yang sama dengan hasil : Vigor tidak menurun, karakter morfologi dan agronomi tetap stabil. Jadi seleksi dapat dilakukan pada generasi awal.</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metode pemuliaan yang efisien, karena ada batasan terhadap rekombinasi gen pada kultur antera F1</li> </ul>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Eksplan dari F2 terseleksi</li> <li>2. Eksplan F1 dari metode persilangan <i>multiple crosses</i> (pemuliaan akumulasi)</li> <li>3. Metode seleksi recurrent yang dikombinasikan dengan kultur antera</li> </ol>

Tabel 2. Beberapa tanaman haploid ganda hasil kultur antera untuk diseleksi toleransi atau ketahanannyaterhadap ekaman biotik dan abiotik

Asal Genotipe F1	Biotik			Abiotik				Pasang Surut
	BPH	BLB	Salinitas	Al	Fe	Naungan	Kering	
1. IR64/Aceh-Aceh	x	x	-	-	-	-	-	-
2. IR64/ Sipulut	x	x	-	-	-	-	-	-
3. BW267-3/Mesir	-	-	-	-	-	-	-	x
4. Pucuk/Kapuas	-	-	x	-	-	-	-	-
5. A. Salam/ICOXI-B-66	-	-	-	-	-	-	x	-
6. B/326F-TB-!/ICOXI-B-66	-	-	-	-	-	-	x	-
7. Hawara Bunar/IAC 1246	-	-	-	-	-	-	x	-
8. IRAT 144/Hawara Bunar	-	-	-	-	-	-	x	-
9. IR64/Mahsuri	-	-	-	-	x	-	-	-
10. GM/Jatiluhur	-	-	-	-	-	x	x	-
11. Wayrareme/Jatiluhur	-	-	-	x	x	x	-	-
12. GM/ITA247	-	-	-	-	-	x	x	-
13. GM/Krowal*	-	-	-	x	-	-	x	-
14. GM/Growal*	-	-	-	x	-	-	x	-
15. Jatiluhur/Krowal*	-	-	-	x	-	x	-	-

Keterangan : \* Pembuatan tanaman haploid ganda sedang dilakukan.  
 No. 1 – 8 : Dilaksanakan atas kerjasama Balitpa, Sukamandi dengan Balitbio, Bogor.  
 No. 9 : Dilakukan oleh Balitro Bogor.  
 No. 10 – 15 : Dilaksanakan atas kerjasama Balitbio dengan IPB Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- Chung, G. S. 1992. Anther culture for rice improvement in Korea. P. 8-37. *In* K. Zheng and T. Murashige (eds.). Anther Culture for Rice Breeders. Seminar and Training for Rice anther Cultur at Hangzhou, China. October 1992.
- Croughan, T. P. 1995. Anther culture for dobled haploid production. P. 134 – 154. *In* O.L. Gambong and G.C. Philips (eds.). Plant, Cell, Tissue and Organ Culture. KLuwer Acad. Publ. Netherlands.
- Dewi, I. S., A. D. Ambarwati, M. F. Masyhudi, T. Soewito, and Suwarno. 1994. Induksi kalus dan regenerasi kultur antera padi (*Oryza sativa* L.). Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan 2:136-143.
- Dewi, I. S., I. Hanarida, and S. Rianawati. 1996. Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia. *Indon. Agric. Res. and Dev. J.* 18 : 51 – 56.
- Faraughi-Wehr and G. Wenzel. 1993. Andro-and parthenogenesis. P. 261-177. *In* M. D. Hayward, N. O. Bosemark and I. Romagasa (eds.). Plant Breeding: Principles and Prospect. Chapman & Hall, London.
- Fehr, W. R. 1987. Principles of Cultivar Development. Vol. I, McGraw-Hill, inc, NY. 536 p.
- Hanarida, I. 1989. Program perbaikan varietas padi di Indonesia. Makalah disampaikan pada Lokakarya Pengawas Benih. Bogor 24 Pebruari – 4 Maret 1989.
- Hanarida, I. 1997. Eksplorasi Marka Molekuler Toleran Keracunan Besi (Fe) pada Tanaman Padi. Laporan Tahunan II RUT. RUT 1995/96. DRN, Bappenas, LIPI, BPPT.
- Hanarida, I. dan S. Rianawati. 1992a. Produksi kalus dan regenerasi kultur anter pada F1 persilangan antara javanica dan indica. *Penel. Pertan.* 12: 67-70.
- Hanarida, I. dan S. Rianawati. 1992b. Induksi kalus dan regenerasi kultur anter padi F1 (*Oryza sativa* L.). Makalah Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan. Bogor, 29 Februari – 2 Maret 1992.
- Masyhudi, M. F. 1992. Plant regeneration by anther culture of javanica x indica rice lines. *Indon. J. Crop. Sci.* 7: 1-18.
- Masyhudi, M. F. 1994. Kultur antera tanaman padi. *Bull. Penel. Puslitbangtan* 9: 18 – 37.
- \_\_\_\_\_, S. Tjokrowidjoyo, S. Rianawati, dan I. S. Dewi. 1997. Regenerasi kultur antera beberapa tanaman padi sawah di Indonesia. *Jurnal penelitian Pertanian* 16: 77 – 85.
- Oono, K. 1997. Haploidy. P. 673 – 677. Subchapt. 2. Haploidy and Heteroploidy. Ahapt. 7. Polyploidy, Haploidy, and Aneuploidy in Div. II. Differentiation of Inheritance Characters. *In* T. Matsuo, Y. Futsuhara, F. Kikuchi, and H. Yamaguchi (eds.). Science of The Rice Plant. Vol. 3. Genetics. Food and Agriculture Policy Research Center. Tkyo. Japan.
- Purwoko, B. S. 2000. Penggunaan poliamin untuk meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi dan aplikasinya dalam program pemuliaan. Laporan Hibah Bersaing VIII/1 Perguruan Tinggi. 23 p.
- Razdan, M. K. 1993. An Introduction to Plant Tissue Culture. Oxford & IBH Publishing Co., Ltd. New Delhi.
- Rianawati, S, A. D. Ambarwati, and I. S. Dewi. 1995. Rice (*Oryza ativa* L.) anther culture research at Biotechnology Division. Cenral Res. Institute for Food Crops. Abstract. 2<sup>nd</sup> Conference on Agricultural Biotechnology, ABSP-AARD-IBS. Jakarta, Indonesia. June 1995.
- Suhartini, T., I. Hanarida, I. S. Dewi, S. Rianawati, Allidaati, dan Suwarno. 1997. Studi kultur antera padi lokal rawa pasang surut. Makalah dipresentasikan pada Simposium III dan Kongres PERIPI. Bandung, 24 – 25 September 1997.
- Sun, Z. and C. Zhao. 1992. Anther culture for enhancing rice breeding. The CNNRI Program. P. 112 – 131. *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.
- Suwarno. 1996. Perbaikan Varietas Padi Rawa Pasang Surut Melalui Kultur Anter. Laporan Tahun Pertama APBN 1996/97. Kelti Sumber Daya Genetik, Balitbio, Bogor.