

## Penggunaan Spermin dalam Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera Beberapa Aksesori Padi Gogo

### *Use of Spermidine in Plant Regeneration of Upland Rice Anther Culture*

Bambang S. Purwoko<sup>1\*</sup>

Diterima 27 Januari 2004/Disetujui 29 Juli 2004

#### ABSTRACT

*The objective of the research was to determine anther culture ability of 7 rice accessions in an improved media supplemented with spermine. The seven accessions were Hawara Bunar, Grogol, Sigundil, Krowal, CT-650-24-1-3, Lembayau, dan Mendali. Media N6 was used for callus induction and MS was used for regeneration. Both media was supplemented with spermine at  $10^{-4}$  M. Result of the experiment showed that Grogol, Sigundil, and Lembayau gave green plantlet. Sigundil and Mendali possessed highest anther culture ability and therefore best suited for parent in rice breeding involving anther culture technique.*

*Key words: Anther culture, Spermine, Upland rice, Green plant*

#### PENDAHULUAN

Haploid ganda mempunyai potensi besar dalam memperpendek waktu yang diperlukan untuk mendapatkan galur homozigos dibandingkan metode pemuliaan konvensional (Dewi dan Purwoko, 2001). Kultur antera yang dapat menghasilkan tanaman haploid dari mikrospora lewat androgenesis sejauh ini merupakan teknik yang paling efisien untuk memproduksi tanaman haploid ganda di berbagai spesies terutama anggota famili *Gramineae*, *Brassicaceae*, dan *Solanaceae* (Logue, 1996). Tanaman haploid pada padi dapat terinduksi menjadi haploid ganda secara spontan atau diinduksi dengan kolkisin dan pemangkasan/*rattooning*. Teknik kultur antera telah dipakai secara rutin dalam pemuliaan padi di Cina dan Korea.

Permasalahan yang dihadapi dalam kultur antera padi subspecies *indica* ialah sedikitnya tanaman hijau dan banyaknya tanaman albino yang diregenerasikan. Baru-baru ini Purwoko *et al.* (2001a) melaporkan poliamin dapat meningkatkan jumlah tanaman hijau yang dapat diregenerasikan pada kultur antera padi tanaman model. Pada percobaan tersebut  $10^{-4}$  M spermin merupakan poliamin terbaik dalam meningkatkan regenerasi tanaman hijau. Pemberian poliamin pada tahap induksi dan regenerasi merupakan metode terbaik dalam meningkatkan regenerasi tanaman hijau (Purwoko, 2001; Purwoko *et al.*, 2001b).

Dalam pemuliaan tanaman melalui kultur antera, daya kultur tanaman tetua akan menentukan keberhasilan regenerasi tanaman hijau pada F1 yang anteranya biasa digunakan sebagai eksplan (Dewi dan Purwoko, 2001). Oleh karena itu informasi tentang daya kultur aksesori atau landras perlu diketahui sebagai informasi dalam pemilihan tetua.

Produksi padi dalam beberapa tahun terakhir ini mengalami stagnasi dan fluktuasi. Kenaikan produksi tidak lagi secepat yang terjadi pada periode 1970-1990. Disamping itu, pengurangan lahan subur di pantai utara Jawa mencapai tahap yang mengkhawatirkan. Alternatif peningkatan produksi padi dihadapkan pada tanah yang kurang subur dan berupa lahan kering. Permasalahan pada lahan tersebut terutama ialah kekeringan, tanah masam, dan tingkat Al yang tinggi. Institut Pertanian Bogor (IPB), Balitpa, dan Balitbiogen telah melakukan karakterisasi aksesori yang toleran tanah masam dan keracunan Al. Sejauh ini, aksesori tersebut belum banyak diketahui daya kultur anteranya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya kultur antera beberapa aksesori padi toleran tanah masam/Al pada media kultur antera yang diberi zat pengatur tumbuh spermin. Hasil percobaan ini diharapkan bermanfaat bagi pemilihan tetua dalam pemuliaan padi melalui kultur antera.

<sup>1</sup> Staf Pengajar Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jalan Meranti, Kampus Darmaga, Bogor 16680, Telp/Fax : (0251) 629353. Email: agronipb@indo.net.id. (\* Penulis untuk korespondensi)

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan, Kelti Biologi Molekuler, di Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian (Balitbiogen), pada tahun 2001. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah 7 aksesi padi toleran tanah masam/A1, serta media kultur antera yang terdiri dari media induksi kalus N6 (Chu, 1978) + 2.0 mg/l NAA + 0.5 mg/l Kinetin (Alemanno dan Guiderdoni, 1994), media regenerasi MS (Murashige dan Skoog, 1962) + 0.5mg/l NAA +2.0 mg/l Kinetin (Alemanno dan Guiderdoni, 1994), dan media pengakaran MS + 0.5 mg/l IBA (Dewi *et al.*, 1994). Pada media induksi dan regenerasi ditambahkan spermin  $10^{-4}$  M (Purwoko, 2001, Purwoko *et al.*, 2001a.).

Perlakuan meliputi ketujuh aksesi bahan penelitian, yaitu Hawara Bunar, Grogol, Sigundil, Krowal, CT-650-24-1-3, Lembayau, dan Mendali. Setiap perlakuan terdiri atas 15 petri yang masing-masing berisi 25 spikelet ( $\pm$  150 antera). Pengakaran menggunakan media MS (Dewi *et al.*, 1994). Pematang yang digunakan ialah phytage<sup>TM</sup> 3.5 g/l. Sukrosa digunakan sebagai sumber karbohidrat, berturut-turut pada media induksi (N6) 60 g/l, media regenerasi (MS) 40 g/l, dan media pengakaran (MS) 30 g/l.

Penanaman padi dan pengambilan sample antera mengikuti metode Purwoko *et al.* (2001a). Tahapan persiapan dan pengkulturan yang meliputi sterilisasi, inokulasi antera, pemindahan kalus dan aklimatisasi plantlet mengikuti metode Dewi *et al.* (1994). Pengamatan yang dilakukan meliputi jumlah antera, jumlah kalus, jumlah kalus menghasilkan tanaman, jumlah tanaman hijau, albino dan total. Dari data tersebut dihitung persentase antera menghasilkan tanaman, persentase kalus menghasilkan tanaman, persentase tanaman hijau dan albino, persentase tanaman hijau terhadap antera, persentase tanaman hijau terhadap jumlah kalus dan rasio tanaman hijau per kalus menghasilkan tanaman.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah antera yang dikulturkan pada tujuh aksesi berkisar antara 126-149. Antera menghasilkan tanaman bervariasi antara 1.8-35.6, sedangkan persentase antera menghasilkan kalus berkisar antara 1.4-26.0 % (Tabel 1). Terlihat faktor genotipe sangat berpengaruh terhadap kalus yang dihasilkan. Dilihat dari jumlah antera menghasilkan kalus dan persentase antera menghasilkan kalus, Grogol, Sigundil dan Lembayau menunjukkan respon yang terbaik.

Tabel 1. Respon antera menghasilkan kalus pada kultur antera berbagai aksesi padi

Aksesi	Jumlah antera	Antera menghasilkan kalus	% Antera menghasilkan kalus
Hawara Bunar	145.3	3.7	2.5
Grogol	132.0	15.6	11.8
Sigundil	149.8	35.6	24.2
Krowal	144.1	2.9	2.1
CT-650-24-1-3	126.8	1.8	1.4
Lembayau	141.2	36.4	26.0
Mendali	141.4	5.5	3.7

Jumlah kalus yang dihasilkan ketujuh aksesi yang dikulturkan berkisar antara 2.9 sampai 90.0, sedangkan persentase kalus terhadap antera berkisar antara 2.3 sampai 64.4 (Tabel 2). Ketiga aksesi yang mempunyai antera yang berespon baik (Grogol, Sigundil dan Lembayau) juga menunjukkan jumlah kalus dan persen kalus terhadap antera yang terbaik. Tidak setiap kalus menghasilkan tanaman. Pada penelitian ini, jumlah kalus menghasilkan tanaman relatif rendah berkisar antara 0.3-5.5, sementara persentase kalus menghasilkan tanaman berkisar antara 1.9-50.3. Pada variabel jumlah kalus menghasilkan tanaman, Sigundil memberikan respon yang terbaik, namun tidak diikuti dengan persentase kalus menghasilkan tanaman. Persen kalus menghasilkan tanaman tertinggi dicapai oleh Hawara

Bunar dan Mendali, namun kedua aksesi mempunyai jumlah kalus yang menghasilkan tanaman rendah. Variasi jumlah dan persentase kalus antar genotipe juga ditemukan pada kultur antera aksesi padi toleran naungan (Sasmita dan Purwoko, 2002).

Dilihat dari tanaman total yang dihasilkan, Sigundil dan Mendali mencapai jumlah yang tertinggi, berturut-turut 20.1 dan 19.0 tanaman (Tabel 3). Hal ini juga diikuti oleh jumlah tanaman hijau yang tinggi, berturut-turut 13.9 dan 13.7 tanaman dan persentase tanaman hijau 73.4 dan 65.6. Satu aksesi lain yang menghasilkan tanaman hijau ialah Grogol. Empat aksesi tidak menghasilkan tanaman hijau (0%) dan hanya menghasilkan tanaman albino (100%).

Tabel 2. Respon pengkalusan dan kalus menghasilkan tanaman pada kultur antera berbagai aksesi padi

Aksesi	Jumlah kalus	Persen kalus terhadap antera	Jumlah kalus menghasilkan tanaman	% Kalus menghasilkan tanaman
Hawara Bunar	4.3	3.0	2.0	50.2
Grogol	26.1	19.6	2.0	8.9
Sigundil	90.0	61.1	5.5	7.8
Krowal	4.2	3.0	1.3	33.9
CT-650-24-1-3	2.9	2.3	0.3	22.2
Lembayau	89.9	64.4	1.5	1.9
Mendali	6.9	4.7	2.1	50.3

Tabel 3. Respon regenerasi tanaman pada kultur antera berbagai aksesi padi

Aksesi	Jumlah tanaman total	Jumlah tanaman hijau	% Tanaman hijau	Jumlah tanaman albino	% Tanaman albino
Hawara Bunar	8.9	0	0	8.9	100
Grogol	4.3	0.2	2.9	4.1	97.1
Sigundil	20.1	13.9	73.4	6.1	26.6
Krowal	3.1	0	0	3.1	100
CT-650-24-1-3	0.7	0	0	0.7	100
Lembayau	4.1	0	0	4.1	100
Mendali	19.0	13.7	65.6	5.3	34.4

Persentase tanaman hijau terhadap kalus menunjukkan tingkat regenerasi tanaman sedangkan persentase tanaman hijau terhadap jumlah antera menunjukkan kemampuan antera menghasilkan tanaman hijau (Sasmita dan Purwoko, 2002) yang sekaligus mencerminkan tingkat efisiensi kultur antera suatu genotype. Berhubung empat aksesi tidak menghasilkan tanaman hijau, hanya tiga aksesi yang secara kuantitatif dapat dibandingkan tingkat efisiensi kulturnya. Sigundil mempunyai persentase tanaman hijau terhadap jumlah kalus sebesar 17.69 (Tabel 4), Mendali 188.65, dan Grogol 0.65. Rasio tanaman hijau terhadap kalus

menghasilkan tanaman terbaik dicapai oleh Mendali (4.61). Persen tanaman hijau terhadap jumlah antera pada Sigundil dan Mendali relatif tinggi yaitu berturut-turut 9.31 dan 9.19 sedangkan pada Grogol relatif rendah yaitu 0.17.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak semua padi subspecies indica memiliki respon kultur antera rendah. Persentase tanaman hijau terhadap jumlah antera pada Sigundil dan Mendali (> 9%) jauh lebih tinggi dibanding hasil penelitian sebelumnya (Ishak dan Dwimahyani, 1997; Masyhudi *et al.*, 1997; Sasmita dan Purwoko, 2002).

Tabel 4. Efisiensi kultur antera pada berbagai aksesi padi

Aksesi	% Tanaman hijau/jumlah kalus	Tanaman hijau/kalus menghasilkan tanaman	% Tanaman hijau/jumlah antera
Hawara Bunar	0	0	0
Grogol	0.65	0.07	0.17
Sigundil	17.69	3.17	9.31
Krowal	0	0	0
CT-650-24-1-3	0	0	0
Lembayau	0	0	0
Mendali	188.65	4.61	9.19

Genotipe dan komposisi media yang digunakan mempengaruhi induksi kalus dan regenerasi tanaman melalui kultur antera (Masyhudi *et al.*, 1997; Niizeki, 1997). Purwoko (2001) melaporkan penambahan

spermin pada media induksi dan regenerasi merupakan metode terbaik dalam meningkatkan tanaman hijau. Dalam penelitian ini, tiga genotipe dapat menghasilkan tanaman hijau. Persentase tanaman hijau terhadap

jumlah tanaman total pada Sigundil dan Mendali termasuk sangat tinggi.

Ketiga aksesori sumber toleransi terhadap Al (Sigundil, Mendali, dan Grogol) dapat digunakan sebagai salah satu tetua untuk memperoleh tanaman sumber eksplan bagi keperluan kultur antera karena ketiganya dapat menghasilkan tanaman hijau. Menurut Chung (1992) serta Sopory dan Munshi (1996) tetua yang akan digunakan dalam bahan persilangan untuk menghasilkan eksplan bagi kultur antera sebaiknya dipilih dari tanaman yang dapat menghasilkan tanaman hijau dibandingkan dengan yang dapat menghasilkan kalus yang banyak.

### KESIMPULAN

Sigundil, Mendali, dan Grogol dapat digunakan sebagai tetua dalam pemuliaan tanaman padi dengan teknik kultur antera. Pemberian spermin dapat menghasilkan tanaman hijau pada ketiga genotipe tersebut. Pada padi subspecies indica, genotipe mempunyai pengaruh yang kuat dalam respon terhadap kultur antera.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Bersaing VIII. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditbinlitabmas, Ditjen Pendidikan Tinggi atas pendanaan penelitian ini. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dr. Iswari S. Dewi dan Kelti Biologi Molekuler, Balitbiogen yang memfasilitasi percobaan ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alemanno, L., E. Guiderdoni. 1994. Increased doubled haploid plant regeneration from rice (*Oryza sativa* L.) anther culture on colchicines-supplemented media. *Plant Cell Rep.* 13: 432-436.
- Chu, C.C. 1978. The N6 medium and its applications to anther culture of cereal crops. *In: Proc. Symp. On Plant Tissue Culture.* 23-30 May 1978. Science Press, Peking, China,.
- Chung G.S. 1992. Anther culture for rice improvement in Korea. *In: K. Zheng, T. Murashige (eds). Anther Culture for Rice Breeders. Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China, p. 8 – 37.*
- Dewi, I.S., A.D. Ambarwati, M.F. Masyhudi, T. Soewito, 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. 2001. Kultur antera untuk mendukung program pemuliaan tanaman padi. *Bul. Agron.* 29: 59-63.
- Ishak, I. Dwimahyani. 1997. Induksi kalus dan regenerasi tanaman dari kultur antera padi var Arias. *J. Biotek. Pertan.* 2:44-48.
- Logue, S.J. 1996. Genetic Stability in Microspore-derived Doubled Haploids. *In: SM Jain, S.K. Sopory, R.E. Veilleux (eds). In Vitro Haploid Production in Higher Plants. Vol. 2. Applications. Kluwer Acad. Publ. Netherlands. p. 1-51.*
- Masyhudi, M.F., T. Suwito, S. Rianawati, I.S. Dewi. 1997. Regenerasi kultur antera beberapa varietas tanaman padi sawah. *J. Penel. Pertan.* 16:22-25.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Niizeki, H. 1997. Anther (Pollen) Culture. *In: T. Matsuo, Y. Futsuhara, F. Kikuchi, and H. Yamaguchi (eds). Science of the Rice Plant. Vol 3. Food Agric. Policy Res. Centre, Tokyo. p. 691-704.*
- Purwoko, B.S. 2001. Pengaruh aplikasi spermin pada tahap kultur berbeda terhadap regenerasi tanaman pada kultur antera padi. *J. Biosains* 6: 43-48.
- Purwoko, B.S, A.W. Usman, I.S. Dewi. 2001a. Poliamina meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi (*Oryza sativa* L.) cv. Taipei 309. *Hayati* 8: 117-130.
- Purwoko, B.S, A. Mufida, I.S. Dewi. 2001b. Pengaruh putresin terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman padi (*Oryza sativa* L.) melalui kultur antera. *J. Tanaman Tropika* 4: 88-96.
- Sasmita, P., B.S. Purwoko. 2002. Kultur antera padi gogo (*Oryza sativa* subsp. *Indica*). *J. Agrikultura* 13:137-142.
- Sopory, S.K., M. Munshi. 1996. Anther Culture. *In: S.M. Jain, S.K. Sopory, R.E. Veilleux (eds). In Vitro Haploid Production in Higher Plants. Vol. I. Fundamental Aspects and Methods. Kluwer Acad. Publ. Netherlands. p. 145-176.*