

Perakitan Padi Tipe Baru Melalui Seleksi Silang Berulang dan Kultur Anter

Buang Abdullah¹, Iswari S. Dewi², Sularjo¹, Heni Safitri¹, dan A.P. Lestari¹

¹Balai Besar Penelitian Tanaman Padi

Jl. Raya 9 Sukamandi, Jawa Barat

²Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian

Jl. Tentara Pelajar 3A Bogor, Jawa Barat

ABSTRACT. Development of New Plant Type Variety of Rice Using Recurrent Selection and Anther Culture. Varietal development is based on the genetic recombination through the incorporation of numbers of characters from two or more parents. Recurrent selection (RS) is a systematic selection of desirable genotypes from a population followed by recombination of selected individuals to form an improved population. Anther culture (AC) is a method of developing double haploid lines derived from plant pollen, and therefore, this method could be used to develop homogeneous plant in a shorter time. RS and AC had been used since 2004, in new plant type development. One hundred eighteen elite populations were developed from RS consisted of RS cycle 1, RS cycle 2 and RS cycle 3. More than 500 lines having high yielding potential were selected. Out of those lines, 24 showed homogeneity and 21 lines were early maturity (95-105 days) and were selected and are available for observation trial for yield potential. The success of anther culture depended on several factors, such as genotype of population, physiological of plant and media composition. The percentage of callus induction, plant regeneration and green plants formed from this study were 1-30; 10-15; and 6-18 percents, respectively. A number of double haploid lines were produced from segregating and elite population of RS. Ten double haploid lines having NPT characters were selected and will be evaluated for yield potential in observation trials. Combination of RS and AC applied on rice breeding program could increase the speed of formations of new plant type lines, and hence improve the efficiency of breeding program.

Keywords: New plant type, recurrent selection, anther culture, double haploid

ABSTRAK. Perakitan varietas adalah menggabungkan banyak sifat dari dua atau lebih tetua ke dalam satu varietas. Metode pemuliaan seleksi silang berulang (SSB) atau *recurrent selection* (RS), adalah metode seleksi dan penyilangan tanaman terpilih dari suatu populasi secara sistematis untuk membentuk populasi yang lebih baik. Kultur anter (KA) merupakan salah satu metode kultur *in-vitro* yang dapat menghasilkan galur murni haploid ganda. Mulai tahun 2004 metode seleksi silang berulang dan kultur anter telah digunakan untuk lebih mempercepat pembentukan galur padi tipe baru (PTB) dengan sifat-sifat yang diharapkan dari sejumlah tetuanya. Seratus delapan belas populasi elit telah dihasilkan dari seleksi silang berulang yang terdiri dari populasi siklus pertama, kedua, dan ketiga. Lebih dari 500 galur yang mempunyai potensi hasil tinggi telah dihasilkan dari seleksi silang berulang dan dievaluasi pada pertanaman pedigree. Dua puluh empat galur telah menunjukkan keseragaman dan 21 di antaranya berumur genjah (95-105 hari) dan dipilih untuk dievaluasi daya hasilnya pada pertanaman observasi. Keberhasilan kultur anter bergantung pada banyak hal, seperti populasi/genotipe, dan fisiologis tanaman. Jumlah induksi kalus, regenerasi tanaman, dan tanaman hijau berturut-turut adalah 1-30%; 10-15%; dan 6-18%. Sejumlah galur haploid ganda telah dihasilkan dari populasi segregasi dan populasi elit hasil seleksi silang berulang. Penggunaan kombinasi

seleksi silang berulang dan kultur anter dalam program pemuliaan dapat mempercepat pembentukan galur PTB, sehingga dapat meningkatkan efisiensi program pemuliaan padi.

Kata kunci: Padi tipe baru, seleksi silang berulang, kultur anter, haploid ganda

Teknik pemuliaan dengan metode seleksi silang berulang (SSB) atau *recurrent selection* (RS) telah diterapkan pada tanaman menyerbuk silang dengan hasil yang positif seperti pada jagung (Darrah *et al.* 1972), namun masih kurang efektif untuk tanaman menyerbuk sendiri seperti kedelai (Sumarno and Fehr 1982). SSB telah digunakan pula dalam pemuliaan padi sawah di Brasil, dan padi ladang di Columbia menggunakan tanaman mandul jantan (Chatel and Guimaraes 1997; Taellebois and Guimaraes 1989). Pada kedelai dengan SSB setiap siklusnya dapat meningkatkan hasil (Sumarno and Fehr 1982).

SSB adalah suatu metode seleksi dan penyilangan tanaman terpilih dari suatu populasi secara sistematis untuk membentuk populasi baru yang lebih baik (Fehr 1987). Dengan kata lain, metode ini merupakan prosedur pengumpulan sifat-sifat yang diharapkan dari suatu kombinasi persilangan dengan menyilangkan antara segrekan-segrekan terpilih secara terus-menerus sehingga diperoleh populasi yang lebih baik dari populasi sebelumnya, karena terdiri dari tanaman-tanaman yang memiliki kombinasi sifat-sifat yang diharapkan. Cara ini telah banyak dilakukan dan berhasil dengan baik dalam pemuliaan beberapa tanaman, seperti jagung dan tanaman pakan (Fehr 1987). Pada kanola, melalui seleksi tersebut telah didapatkan tanaman dengan kadar minyak tinggi (Poehlman 1986).

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; Chung 1992). Teknik kultur anter telah lama diaplikasikan untuk perakitan varietas unggul dan berhasil di Cina dan Korea (Li 1992, Chung 1992).

Perakitan varietas padi merupakan proses pengumpulan sifat-sifat atau gen-gen baik dari tetua yang berasal dari berbagai varietas/subspesies padi, seperti potensi hasil dan mutu beras yang tinggi yang dikontrol oleh banyak gen dan ketahanan terhadap hama dan penyakit yang biasanya dikontrol oleh gen tunggal. Karena itu, metode SSB diharapkan lebih tepat digunakan untuk mempercepat terbentuknya individu rekombinan yang memiliki sifat-sifat yang dikehendaki, karena adanya proses akumulasi sifat/gen yang dikehendaki yang berasal dari proses penyilangan kembali dari tanaman terpilih. Untuk mempercepat perakitan varietas dapat diterapkan kombinasi prosedur pemuliaan konvensional dengan prosedur bioteknologi. Salah satu prosedur alternatif yang dianjurkan adalah membuat galur haploid ganda (*doubled haploid*) atau galur murni homozigot hasil dari penggandaan tanaman haploid.

Seleksi silang berulang dapat mengakumulasi sifat-sifat baik dari tanaman-tanaman segregat ke dalam populasi tanaman. Kultur anter berperan penting dalam mempercepat pembentukan tanaman haploid ganda yang homozigot dari tanaman heterozigot. Karena itu, metode seleksi silang berulang dan kultur anter telah digunakan untuk mempercepat perakitan padi tipe baru (PTB).

Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi efektivitas silang berulang yang dikombinasikan dengan kultur anter dalam pembentukan padi tipe baru.

BAHAN DAN METODE

Materi yang digunakan dalam seleksi silang berulang dan kultur anter adalah populasi segregasi keturunan persilangan silang balik (*back cross*), silang puncak (*top cross*), silang ganda (*double cross*) dan silang campuran (*multi cross*) seperti terlihat pada Tabel 1. Seleksi-silang berulang dan kultur anter untuk pembentukan varietas unggul padi tipe baru (VUTB) telah dimulai sejak 2004.

Seleksi Silang Berulang untuk Membentuk Populasi Elite PTB

Kegiatan ini terdiri dari penanaman bahan seleksi di lapang dan pembentukan populasi baru dengan pembuatan persilangan tanaman terpilih di rumah kawat.

Pertanaman Populasi Bahan Seleksi Berulang

Dua puluh enam populasi terpilih hasil persilangan ditanam di lapang untuk pembentukan populasi elite. Setiap populasi ditanam dalam petak dengan minimum 1.000 tanaman, jarak tanam 25 cm x 25 cm antartanaman dan 50 cm antarpetak/populasi, satu bibit per lubang, umur bibit 15-21 hari. Penanaman diulang dua kali dengan interval 2 minggu untuk memungkinkan penyilangan tanaman terpilih yang mempunyai umur berbeda. Penampilan tanaman diamati sebelum disilangkan, didasarkan pada vigor tanaman dan penampilan daun, umur berbunga dan panen, tinggi tanaman, jumlah anakan produktif dan nonproduktif, jumlah gabah per malai, dan keadaan leher malai.

Tabel 1. Populasi bahan seleksi silang berulang dan kultur anter untuk pembentukan PTB.

Populasi	Kombinasi persilangan	Tujuan ¹⁾
B11730	Cimelati/IR71218-39-3-2-MR-11/Cimelati	Hasil, mutu beras, tahan HDB, WBC
B11738	Gilirang/BP342F-MR-1-3//Gilirang	Hasil, mutu beras, aroma, tahan HDB
B11742	BP360E-MR-79-PN-2/IR71218-31-2-MR-14//BP360E-MR-79-PN-2	HDB, mutu beras
B11767	IR71218-39-3-2-MR-11/BP140F-MR-1-KN-1//IR71218/BP360E	Hasil, tahan HDB, WBC, mutu beras
B11957	Cimelati/IR71218-31-2-MR-14//Cimelati//Gilirang/BP342F-MR-1-3//Gilirang	Hasil, mutu beras, aroma, tahan HDB, WBC
B11963	Ciapus/B10384//Ciapus//BP140F/Angke//IR71218//B10386/T.Petanu//Ciapus	Hasil, tahan HDB, mutu beras, tungro
B12002	Fatmawati*2///Klemas///Lampung Kuning/IR71190	Hasil, tahan Blas, WBC, mutu beras
B11962	BP140F//BP140F/Pucuk//BP140F//BP140//BP140F/T. Unda//BP140F	Hasil, mutu beras, tahan tungro
B12002	Fatmawati*2/Klemas///Lampung Kuning/IR71190-45-2-1-BT-1	Hasil, mutu beras, tahan blas, WBC
B12003	Fatmawati*2/Klemas///Lampung Putih/IR71190-45-2-1-BT-1	Hasil, mutu beras, tahan blas, WBC
B12004	Fatmawati*2/Klemas//Pandan Putri/Barumun	Hasil, mutu beras, tahan blas, WBC
B12005	Fatmawati*2/IR73432-75-2//BP140F-MR-1*3/Pucuk//BP140F-MR-1*2/Tukad Unda	Hasil, mutu beras, tahan HDB, tungro
B12006	Fatmawati*2/IR73432-75-2//Ciapus*2/B10384//BP140F/Angke//IR71218//B10386E//Tukad patanu/Ciapus	Hasil, mutu beras, tahan HDB, tungro
B12007	BP140F-MR-1*3/Pucuk//BP140E-MR-1*2/Tukad Unda//Ciapus//B10384//Ciapus/BP140F/Angke/IR71218//B10386E/Tukad Patanu//Ciapus	Hasil, mutu beras, tahan tungro, HDB

¹⁾ HDB = hawar daun baktri; WBC = wereng batang coklat.

Pembentukan Populasi Baru

Tanaman terpilih dari populasi elit disilangkan dengan tanaman terpilih lainnya yang berasal dari satu populasi yang sama maupun populasi berbeda. Tanaman-tanaman terpilih yang digunakan sebagai tetua betina diambil dari lapang dengan menggunakan ember plastik dan dipindahkan ke dalam rumah kawat pada pagi hari. Malai-malai dari tanaman tersebut dipilih untuk dikastrasi dan disilangkan pada hari berikutnya. Malai-malai yang dikastrasi ditutup dengan kertas amplop transparan untuk mencegah penyerbukan polen dari tanaman yang tidak dikehendaki. Bunga tanaman terpilih sebagai tetua jantan diambil dari lapang untuk menyerbuki bunga tetua betina yang telah dikastrasi. Penylangan atau penyerbukan dilakukan di ruang persilangan yang bersuhu 30-35°C. Jumlah bunga yang disilangkan minimum 300 bunga (2-4 malai), sehingga dapat menghasilkan minimum 100 biji setiap pasangan. Panen gabah hasil persilangan dilakukan 2-3 minggu setelah penylangan. Benih dari persilangan ini digunakan sebagai bahan seleksi dan persilangan pada musim berikutnya.

Pengamatan secara visual dilakukan terhadap vigor tanaman, tinggi tanaman, umur, jumlah anakan, kepadatan, dan panjang malai.

Kultur Anter untuk Membentuk Galur Haploid Ganda

Kegiatan ini meliputi kultur anter yang terdiri dari induksi kalus dan regenerasi tanaman yang dilakukan di laboratorium dan evaluasi tanaman regenerasi yang dilakukan di rumah kaca dan rumah kawat/lapang. Kegiatan kultur anter dilakukan di laboratorium Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian pada tahun 2004 dan 2005, sedang mulai tahun 2006 dilakukan di Laboratorium Kultur Anter Balai Besar Penelitian Padi di Muara, Bogor.

Pembuatan Media

Media dasar yang digunakan adalah media N6 (Chu 1978) untuk induksi kalus dan media MS (Murashige and Skoog 1962) untuk regenerasi dan pengakaran tanaman. Media induksi kalus adalah media N6 yang diberi 2,0 mg/l NAA dan 0,5 mg/l kinetin, sedangkan media regenerasi adalah media MS yang diberi 0,5 mg/l NAA dan 2,0 mg/l kinetin. Ke dalam media induksi dan regenerasi berturut-turut ditambahkan sukrosa sebanyak 60 g/l dan 40 g/l. Media perakaran adalah media MS + 0,5 mg/l IBA, 40 g/l maltosa, dan putresin 10^{-3} M (Purwoko *et al.* 2001). Sebelum diberi pematat 3,0 g/l gelrite™ (phytagel™ produk Sigma-Aldrich), pH

ditetapkan 5,8 dan selanjutnya media disterilasi dengan menggunakan otoklaf selama 20 menit pada suhu 120°C dan tekanan 18-20 psi.

Persiapan Eksplan

Sumber eksplan (anter) adalah tanaman terpilih dari populasi, yang mempunyai sifat-sifat menunjang potensi hasil tinggi dan sifat-sifat baik lainnya. Pada saat tanaman mencapai fase bunting, malai yang masih dibungkus selubung mulai dikoleksi dan selanjutnya dicuci bersih, kemudian dibungkus dengan aluminium foil yang telah dilapisi dengan kertas tisu untuk menyerap kelebihan air. Selanjutnya eksplan diinkubasi selama 8-10 hari dalam ruang dingin bersuhu 5°C.

Kultur Anter

Sterilisasi eksplan

Selubung malai dibuka dan malai yang berwarna kuning cerah kehijauan dipilih untuk mendapatkan antera yang mengandung tahap mikrospora, atau tahap uninukleat. Malai yang terpilih kemudian disterilkan dengan 20% bayclin, yaitu larutan pemutih yang mengandung 5,24% NaOCl selama 20 menit sebelum dicuci dengan air steril 2 x 5 menit. Sterilisasi eksplan dilakukan di dalam meja kultur yang steril (*laminar air flow cabinet*).

Induksi kalus

Spikelet yang sudah steril dipotong 1/3 dari pangkalnya dan dikumpulkan pada cawan petri steril. Masing-masing spikelet kemudian dijepit dengan pinset dan diletakkan pada tepi cawan petri yang sudah berisi 25 ml media induksi kalus, sampai antera keluar dan jatuh ke atas media Kultur diinkubasi di ruang gelap bersuhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$ untuk menginduksi keluarnya kalus yang berasal dari butir sari di dalam antera.

Regenerasi tanaman dari kalus

Kalus bertekstur kompak yang berukuran 1-2 mm langsung dipindahkan ke dalam botol kultur yang sudah berisi 25 ml media regenerasi (Sasmita *et al.* 2001). Tanaman hijau mini (*plantlet*) yang tumbuh dari kalus pada media regenerasi dan sudah mencapai tinggi 3-5 cm dipindahkan ke dalam tabung kultur berisi 15 ml media perakaran. Gerombolan (*cluster*) tanaman yang tumbuh dari satu kalus tidak dipisahkan. Setelah akar tumbuh sempurna, tanaman siap untuk diaklimatisasi.

Aklimatisasi

Aklimatisasi pertama dilakukan dengan menanam tanaman mini hasil kultur anter tersebut di dalam tabung reaksi berisi air steril setelah sebelumnya akar dipotong

sedikit untuk merangsang munculnya akar baru. Satu minggu kemudian dilakukan aklimatisasi kedua, yaitu dengan memindahkan tanaman ke bak persemaian berisi tanah lumpur. Tanaman yang berasal dari kalus yang sama dipisahkan setelah ditandai. Cahaya diberikan secara berangsur-angsur agar tanaman dapat menyesuaikan diri untuk tumbuh pada kondisi lapang. Satu minggu setelah aklimatisasi, tanaman dipindahkan ke ember dan ditanam di rumah kaca untuk dievaluasi lebih lanjut.

Evaluasi Tanaman Hasil Kultur Anter

Tanaman regenerasi (HG0) hijau dan sehat diaklimatisasi dan kemudian ditanam pada pot-pot di rumah kaca. Tanaman-tanaman tersebut diobservasi pertumbuhan dan sifat-sifatnya. Tanaman yang normal dan mempunyai sifat-sifat yang diharapkan dievaluasi keturunannya pada generasi berikutnya (HG1, 2) di rumah kaca dan lapang.

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah antera yang diinokulasi, jumlah calon tanaman, jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino, jumlah plantlet yang dapat menjadi tanaman, jumlah tanaman yang haploid (tanaman abnormal, kerdil, kehampaan tinggi), dan

jumlah tanaman haploid ganda/diploid (tanaman normal, fertil, dll).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Silang Berulang (SSB)

Dari program seleksi silang berulang pada tahun 2006 telah terpilih beberapa populasi untuk bahan seleksi silang berulang berikutnya (Tabel 1). Populasi tersebut memiliki keseragaman yang tinggi untuk sifat-sifat PTB yang dikehendaki, seperti batang kuat, malai panjang dan padat, daun tegak, tebal dan berwarna hijau tua. Dari populasi elit hasil SSB tersebut dihasilkan beberapa galur yang telah masuk pada pertanaman pedigree dan di antaranya menunjukkan keunggulan sifat dan sudah cukup seragam sehingga dipilih dan dipanen secara bulk untuk dievaluasi daya hasilnya pada pertanaman observasi (Tabel 2). Dari 24 galur terpilih, 21 di antaranya berumur genjah (100-105 hari).

Hal tersebut menunjukkan bahwa populasi seleksi silang berulang siklus kedua telah menghasilkan tanaman yang seragam dibanding siklus pertama. Hal ini terjadi karena siklus kedua merupakan hasil

Tabel 2. Galur SSB terpilih dari pertanaman pedigree PTB di Pusakanegara MT1, 2007.

Galur	Kombinasi persilangan	Jumlah galur terpilih		
		Bulk	Tanaman	Genjah
B11738-RS*2	Gilirang / BP342F-MR-1-3 // Gilirang	3	0	3
B11957-RS*1	Gilirang / BP342F-MR-1-3 // Gilirang	0	2	0
B11742-RS*2	BP360E-MR-79-PN-2/IR71218-39-3-2-MR-14/BP360E-MR-79-PN-4	21	1	18

*, RS*1, *2 = *recurrent selection* (seleksi silang berulang) siklus pertama, kedua.

Tabel 3. Populasi elit PTB terpilih untuk program SSB MT1, 2006.

Populasi ¹	Kombinasi persilangan	Jumlah tanaman	Tujuan ²
B11957-1RS*3	Cimelati/IR71218//Cimelati///Gilirang/BP342F-MR-1-3//Gilirang	18	HDB, mutu beras, aroma
B11957-2RS*3	Cimelati/IR71218//Cimelati///Gilirang/BP342F-MR-1-3//Gilirang	13	HDB, mutu beras, aroma
B11957-5RS*3	Cimelati/IR71218//Cimelati///Gilirang/BP342F-MR-1-3//Gilirang	95	HDB, mutu beras, aroma
B11957-6RS*3	Cimelati/IR71218//Cimelati///Gilirang/BP342F-MR-1-3//Gilirang	82	HDB, mutu beras, aroma
Subtotal		218	
B11742-4RS*3	BP360E-MR-79-2 / IR71218-39-2-MR-14 // BP360E-MR-79-2	97	HDB, mutu beras,
B11963-1RS*2	Ciapus / B10384 // Ciapus /// BP140F / Angke // IR71218 /4/ B10386 / T.Petanu / Ciapus	122	HDB, tungro, mutu beras
Subtotal		219	
B11963-1RS*2	Ciapus / B10384 // Ciapus /// BP140F / Angke // IR71218 /4/ B10386 / Tukad Petanu / Ciapus	38	HDB, tungro, mutu beras
Total		475	

¹, RS*1, *2, *3 = *recurrent selection* (seleksi silang berulang) siklus pertama, kedua, dan ketiga; ², HDB = hawar daun bakteri.

persilangan dari tanaman-tanaman terpilih yang relatif sudah lebih seragam dibanding populasi siklus pertama. Penelitian ini menunjukkan bahwa pembentukan galur dapat dipercepat dengan seleksi silang berulang, karena pada generasi ketiga setelah SSB2 atau lima generasi dalam tiga tahun dari persilangan telah didapat galur yang seragam seperti B11738-RS*2-3-MR-7-SI-1 dan B11742-RS*2-5-MR-11-SI-3.

Untuk lebih mempercepat mendapatkan galur homozigot dari tanaman terpilih dari seleksi silang berulang, tujuh populasi elit digunakan sebagai bahan kultur anter untuk pembentukan galur haploid ganda (Tabel 3).

Pada musim tanam kedua tahun 2006 dipilih 118 tanaman dari tiga kombinasi persilangan untuk digalurkan dari populasi persilangan, yang terdiri dari 45 tanaman dari SSB3, 54 tanaman SSB2, dan 19 tanaman dari SSB1 (Tabel 4). Setiap persilangan mempunyai tujuan tertentu (Tabel 3, 4). Dari populasi tanaman pada siklus ketiga dan kedua diharapkan sudah terakumulasi gen-gen baik sesuai tujuan pemuliaan, seperti sifat-sifat yang mendukung potensi hasil tinggi, ketahanan

terhadap hama dan penyakit utama seperti hama wereng batang coklat, penyakit hawar daun bakteri, tungro, dan blas serta mutu beras yang baik. Karena sifat-sifat tersebut dikumpulkan dari beberapa individu tanaman dari tetua yang sama diharapkan variasinya lebih kecil daripada populasi dari pemilihan tanaman pada metode pedigree.

Kultur Anter

Populasi segregasi dari berbagai persilangan digunakan sebagai bahan kultur anter. Namun tidak semua populasi dapat menghasilkan kalus dan atau menghasilkan kalus tapi tidak menghasilkan tanaman regeneran. Dari kultur anter tahun 2004 didapat 1396 tanaman regeneran dari tujuh populasi B11767. Populasi B11730 dapat menghasilkan kalus tetapi tidak menghasilkan tanaman. Dari 1396 tanaman tersebut hanya terdapat 146 tanaman hijau (berklorofil) sedangkan yang lainnya albino (tidak berklorofil). Tanaman regeneran mempunyai keragaan yang bervariasi dalam hal vigor, tinggi tanaman, jumlah anakan, dan fertilitas. Empat belas tanaman mempunyai sifat-sifat PTB dan dipilih untuk dievaluasi lebih lanjut.

Tabel 4. Galur elit hasil seleksi silang berulang siklus 1, 2 dan 3 terpilih pada MT II, 2006.

Populasi	Kombinasi persilangan	Seleksi silang berulang ¹			Tujuan ²
		3	2	1	
B11957	Cimelati*1/IR71218-39-3-2-MR-11//Gilirang*1/ BP342F-MR-1-3	45	23	0	Hasil, mutu beras, aroma, tahan HDB
B11963	Ciapus / B10384 // Ciapus /// BP140F / Angke // IR71218 /4/ B10386 / T.Petanu / Ciapus	0	9	9	Hasil, tahan HDB, Tungro dan mutu beras
B12002	Fatmawati*2/// Klemas /// Lampung Kuning / IR71190	0	22	10	Hasil, genjah, tahan blas, WBC, mutu beras
Total		45	54	19	

¹ 1 = seleksi silang berulang siklus pertama; 2 = seleksi silang berulang siklus ke dua; 3 = seleksi silang berulang siklus ketiga

² HDB = hawar daun bakteri; WBC = wereng batang coklat.

Tabel 5. Galur haploid ganda terpilih pada pertanaman observasi di Kuningan, MT II, 2006.

Galur/varietas ¹	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah anakan (batang)	Umur (hari)	Amilosa (%)	Fisik beras ²		
					P	B	K
B11767-MR-1-4-AC-2-1	81,40	11	141	15,61	M	M	S
B11767-MR-1-4-AC-2-2	80,40	14	141	15,96	L	M	S
B11767-MR-1-4-AC-2-1-1	74,80	10	140	14,98	L	M	S
B11767-MR-1-4-AC-2-1-11	81,80	13	139	13,09	L	M	S
B11767-MR-1-4-AC-2-1-16	75,80	9	139	13,09	L	M	S
Ciherang	88,60	14	142	22,33	L	M	S
Fatmawati	84,60	9	132	22,96	L	M	M

¹ B11767 = IR71218-39-3-2-MR-11/BP140F-MR-1-KN-1//IR71218/BP360E-MR-79-PN-2

² P = panjang (L = panjang, M = sedang, S = pendek) B = bentuk (B = bulat, M = sedang, S = ramping)

K = pengapuran (L = besar, M = sedang, S = kecil).

Tabel 6. Jumlah tanaman, antera, kalus, dan tanaman dari kultur anter populasi seleksi silang berulang, 2005.

Galur	Tanaman	Antera	Kalus ¹	Tanaman mini ²		
				Hijau*	Albino*	Jumlah*
B11738-RS-3-RS	3	12179	145 (1,2)	4 (2,8)	6 (4,1)	10 (6,9)
B11738-RS-6-RS	3	15114	163 (1,1)	0 (0)	34 (20,9)	34 (20,9)
B11738-RS-13-RS	3	8231	77 (0,9)	0 (0)	5 (6,5)	5 (6,5)
B11738-RS-15-RS	10	34689	441 (1,3)	14 (3,2)	49 (11,4)	63 (14,3)
B11738 RS*2	19	70213	826 (1,2)	18 (2,2)	94 (11,4)	112 (13,6)
B11742-RS-1-RS	3	10451	185 (1,8)	31 (16,8)	19 (10,3)	50 (27)
B11742-RS-3-RS	3	13818	199 (1,4)	0 (0)	11 (5,5)	11 (5,5)
B11742-RS-5-RS	3	9522	297 (3,1)	47 (15,8)	5 (1,7)	52 (17,3)
B11742 RS*2	9	33791	681 (2,0)	78 (11,5)	35 (5,1)	113 (16,6)
	28	104004	1507 (1,4)	96 (6,4)	129 (8,6)	225 (14,9)

¹ Angka dalam kurung adalah persentase kalus yang dihasilkan dari antera yang dikultur.

² Angka dalam kurung adalah persentase tanaman hijau dari kalus yang diregenerasikan.

Keturunan pertama dari ke-14 tanaman regeneran sudah menunjukkan keseragaman dan dipilih 258 tanaman yang baik untuk dievaluasi pada galur haploid ganda generasi kedua (HG2). Galur-galur tersebut ditanam pada pertanaman observasi dan galur menunjukkan keragaan yang baik (Tabel 5).

Pada tahun 2005 populasi elit hasil SSB menghasilkan tanaman-tanaman segregan terpilih yang mempunyai banyak sifat-sifat PTB. Dari populasi-populasi tersebut dipilih 28 tanaman yang mempunyai banyak sifat-sifat PTB dan dijadikan sebagai sumber (*explant*) bahan kultur anter untuk menghasilkan kalus dengan menggunakan media buatan. Lebih dari 100.000 antera yang ditanam berasal dari 28 tanaman terpilih dari dua populasi SSB untuk dikulturkan. Dari jumlah tersebut dihasilkan sebanyak 1507 (1,4%) kalus yang kemudian dipindahkan ke media regenerasi untuk menghasilkan tanaman. Kalus yang dapat menghasilkan tanaman sebanyak 225 (14,9%), namun hanya 96 (6,4%) yang berklorofil (hijau), sedangkan 129 lainnya merupakan tanaman albino (Tabel 6).

Dari dua populasi bahan eksplan tersebut populasi B11742 mempunyai daya induksi kalus dan regenerasi tanaman lebih baik dari B11738. Hal ini mungkin karena populasi tersebut mempunyai tetua galur PTB IRRI, IR71218, yang merupakan persilangan antara subspecies japonica yang berasal dari daerah sedang dan daerah tropis. Penelitian pada 2004 juga menunjukkan bahwa tanaman-tanaman dari populasi hasil persilangan dengan IR71218 (subspecies japonica) lebih responsif terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman (Abdullah *et al.* 2006). Kultur anter padi japonica, T-309, mempunyai respon lebih baik dibanding padi indica IR64 dan javanica Rojolele, untuk induksi kalus dan regenerasi tanaman berturut-turut adalah

10%, 1%, dan 0,5%, dan untuk regenerasi tanaman hanya T-309 yang menghasilkan tanaman (Masyhudi *et al.* 1992). Agrawal *et al.* (1994) melaporkan bahwa respon antargenotipe padi japonica terhadap kultur anter pun berbeda. Dewi *et al.* (2005) melaporkan bahwa respon varietas padi indica bervariasi, jumlah antera yang menghasilkan kalus berkisar antara 1,4-26,5% dan kalus menjadi tanaman 4,8-53 %.

Dari 96 tanaman hijau setelah diaklimatisasi dan ditanam di rumah kaca, tujuh di antaranya mati, dan keragaan dari 89 tanaman HG0 yang hidup bervariasi baik dalam hal vigor, tinggi tanaman, daun, malai, gabah, dan sterilitas. Dua puluh enam tanaman fertil, lima setengah steril dan 58 lainnya steril. Benih dari ke-63 tanaman menghasilkan tanaman keturunan ke dua (haploid ganda pertama 1, HG1) yang akan ditanam dan dievaluasi keragaannya di lapang.

Pada tahun 2006 dilakukan kultur anter galur-galur harapan dari pertanaman observasi MT II, 2006 di KP Kuningan dengan tujuan untuk memfiksasi galur-galur tersebut untuk menjadi homosigot dan galur-galur generasi menengah dari pertanaman pedigree MT II 2006 di KP Sukamandi. Sembilan belas galur dari 11 persilangan dari pertanaman observasi tidak dapat menghasilkan kalus. Dari tujuh persilangan yang terdiri dari 34 galur pedigree, enam kombinasi persilangan menghasilkan kalus dan lima persilangan menghasilkan lebih dari 1300 tanaman regeneran (Tabel 7). Namun hanya tiga persilangan yang menghasilkan 73 tanaman hijau, yaitu B12003, B12004, dan B12006.

Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur anter (induksi kalus dan regenerasi tanaman), seperti genotipe atau populasi, media dan sifat fisiologis tanaman. Tanaman yang kurang sehat pertumbuhannya sulit menghasilkan kalus karena pertumbuhan sel-sel

Tabel 7. Hasil kultur anter dari pertanaman pedigree PTB, 2006.

Populasi	Generasi	Jumlah di tanaman		Jumlah kalus	Tanaman regenerasi ¹	
		Galur	Antera		Hijau	Albino
B11962	4	1	1127	48	0	40 (13)
B12002	3	6	2232	516	0	19 (3)
B12003	3	12	5699	1272	11 (3)	436 (135)
B12004	3	3	1205	689	24 (5)	242 (73)
B12005	3	3	837	23	0	0
B12006	3	6	3040	1910	38 (8)	563 (164)
B12007	3	3	673	0	0	0
Total		34	14813	4458	73 (16)	1290 (390)

¹ Angka dalam kurung adalah jumlah kalus yang menghasilkan tanaman.

tanaman tidak normal. Hal ini mungkin yang menyebabkan tanaman dari pertanaman observasi yang diambil dari KP Kuningan tidak menghasilkan plantlet melalui kultur anter. Pertanaman observasi di Kuningan pada fase primordia dan fase bunting mengalami kekeringan sehingga pertumbuhannya kurang normal, berbeda dengan pertumbuhan galur pedigree di KP Sukamandi yang tumbuh baik karena air cukup. Dari tujuh persilangan hanya satu lainnya yang tidak menghasilkan kalus, dan lima di antaranya menghasilkan tanaman regenerasi. Pada penelitian ini persilangan B12006 menghasilkan kalus dan tanaman regenerasi terbanyak, disusul oleh B12004 dan B12003. B12006 merupakan persilangan kompleks yang melibatkan sembilan tetua (Fatmawati*²/IR73432-75-2///Ciapus*²/B10384// // BP140F/Angke//IR71218//B10386E/ /Tukad Petanu/Ciapus), sedang B12003 dan B12004 masing-masing mempunyai empat tetua (Tabel 7). Diharapkan tanaman yang berhasil diregenerasikan mempunyai sifat-sifat yang mendukung hasil tinggi, tahan hama, dan penyakit utama, serta mutu beras tinggi. Tanaman-tanaman tersebut diaklimatisasi dan dipindahkan ke media tanah di rumah kaca KP Muara, untuk dievaluasi pada MT I, 2007.

Penelitian kultur anter ini dapat menghasilkan tanaman galur DH atau homozigot. Dari bahan tanaman yang pertumbuhannya baik, 30% antera menghasilkan kalus, 10% kalus regenerasi menjadi tanaman mini, dan 18% adalah tanaman hijau.

KESIMPULAN

- Galur-galur yang berasal dari program SSB sudah cukup seragam pada generasi ketiga dari siklus kedua SSB atau generasi ke lima atau enam dari dari penyilangan.

- Galur haploid ganda kedua (HG2) yang berasal dari kultur anter sudah cukup seragam dan memiliki sifat-sifat yang diharapkan.
- Keberhasilan kultur anter bergantung pada banyak hal, seperti populasi/genotipe, dan fisiologis tanaman.
- Sejumlah galur homozigot hasil kultur anter tersedia untuk dievaluasi keragaannya bersama galur-galur hasil hibridisasi pada pertanaman observasi daya hasil pada tahun 2007.
- Metode seleksi silang berulang lebih efisien dalam perakitan varietas padi dan kultur anter dapat mempercepat pembentukan galur murni. Kombinasi keduanya akan lebih mempercepat perakitan varietas padi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, B., I.S. Dewi, A. Apriana, A. Sisharmini, and H. Safitri. 2006. Development of new plant type rice lines through anther culture. Proceedings of the 7th ASEAN Science and Technology Week (ASTW). Jakarta, 5-14 August 2005. p.116-122.
- Agrawal, S.K., A.K. Keshari, R.L. Singh, G.K. Agrawal, and V.P. Agrawal. 1994. Plant regeneration from anthers of *Oryza sativa* L. Cv. Jumli Mashi and Chhomrong – Two cold tolerant rice varieties of Nepal. Plant Tissue Cult. 4(1):25-31.
- Chatel, M. and E.P. Guimaraes. 1997. Recurrent selection in rice, using male sterility gene. Calli, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical; Centre de Cooperation Internationale en Recherche Agronomique pour le Developpement; Departement des Cultures Annuelles, 1997. 70p.
- Chu, C.C. 1978. The N6 medium and its applications to anther culture of cereal crops. In Proc. Symp. on Plant Tissue Culture. May, 23-30, 1978. Science Press, Peking, China. p.43-50.
- 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 Cultur at Hangzhou, China. p.8-37.

- Darrah, L.L., S.A. Eberhart, and L.H. Penny. 1972. A maize breeding method study in Kenya. *Crop Sci.* 12:605-608.
- Dewi, I.S. 2002. Karakterisasi morfologi dan agronomi galur haploid ganda hasil kultur anter padi hasil silangan resiprok subspecies Indica x Javanica. *Lap. Topik Khusus. Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.* 43p.
- 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.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinoor, I.H. Somantri, dan M.A. Chozin. 2005. Regenerasi tanaman pada kultur anter beberapa aksesori padi indica toleran aluminium. *Jurnal AgroBiogen* 2(1):30-35.
- Fehr, W.R. 1987. Principles of cultivar development, vol. 1. Theory and technique. McGraw-Hill, Inc. New York St. Louis, USA. p.535.
- Khush, G.S. 2004. Harnessing science and technology for sustainable rice-based production systems. *Proc. of the FAO Rice Conference. International Rice Commission Newsletter Vol. 53:17-23.*
- Masyhudi, M.F., I.H. Somatri, S. Rianawati, and D. Ambarwati. 1992. Recent progress of rice tissue culture at CRIFC. *Proc. a Workshop on Agricultural Biotechnology, Bogor, Indonesia, May 21-24, 1991.* p.117-127.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Pl.* 15:473-479.
- Li M.F. 1992. Anther culture breeding of rice at the CAAS. *In: K. Zheng, T Murashige (Eds.). Anther culture for rice breeders. Proceedings of Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China.* p.75-86.
- Poehlman, J.M. 1985. Breeding field crop. An AviBook van Nostrand Reinhold, New York, Third Edition. p.715.
- Purwoko BS, A.W Usman, dan I.S Dewi. 2001. Poliamina meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi (*Oryza sativa* L.) cv. Taipei 309. *Hayati* 8:117-120.
- Sasmita, P., I.S. Dewi, dan B.S. Purwoko. 2001. Pengaruh generasi kalus terhadap regenerasi tanaman pada kultur anter padi (*Oryza sativa* L.) kultivar Gajah Mungkur. *Sain Teks, edisi khusus.* p.179-188.
- Sumarno and W.R. Fehr. 1982. Response to recurrent selection for yield in Soybeans. *Crop Science* 22:295-299.
- Taillebois, J. and E.P. Guimaraes. 1989. CAN-IRAT 5 upland rice population. *IRRN* 14(3):8-9.
-