

Studi Tahap Perkembangan Mikrospora dan Respon Pepaya Hermaprodit Varietas Callina melalui Kultur Antera

Study of Microspore Development and Response of Hermaphrodite Papaya Variety Callina through Anther Culture

Halimah Widyaningrum¹, Darda Efendi^{2*}, Diny Dinarti², dan Megayani Sri Rahayu²

Diterima 10 Juli 2025/ Disetujui 27 Agustus 2025

ABSTRACT

Anther culture is an *in vitro* culture technique that is promising in obtaining haploid plants in one generation. This study aimed to obtain information regarding the stages of microspore development and anther response in three sizes of Callina papaya hermaphroditic flower buds on a callus induction medium. The research was conducted at the Microtechnics and Tissue Culture Laboratory 3, IPB- Bogor, from July to November 2022. The planting material used was three sizes of hermaphrodite flowers of the papaya variety Callina including small (10-15 mm), medium (16-20 mm) and large (21-25 mm). The culture medium used was MS medium with six PGR treatments, namely four combination treatments of (0.005, 0.01, 0.1 and 0.5 mg L⁻¹) CPPU and (0.1 mg L⁻¹) NAA; 0.1 mg L⁻¹ BAP and 0.1 mg L⁻¹ NAA; and 1.0 mg L⁻¹ BAP and 2.0 mg L⁻¹ NAA. The experimental design used a Randomized Complete Group Design (RCBD) with one factor (microspore development stage) and 2 factors (callus induction). The results showed that flowers measuring 10-15 mm had the highest percentage of uninucleate microspores (77.95%), a responsive size for inducing callus formation from anthers. Treatments of 0.5 mg L⁻¹ CPPU and 0.1 mg L⁻¹ NAA showed the highest percentage of anthers forming callus (40.4%). At the same time, flower size did not significantly influence the parameters observed, but 10-15 mm flower sizes showed the highest percentage of anthers forming callus (13%).

Keywords: BAP, CPPU, callus induction, flower bud, NAA

ABSTRAK

Kultur antera merupakan teknik kultur *in vitro* yang menjanjikan dalam mendapatkan tanaman haploid dalam satu generasi. Penelitian ini bertujuan mendapatkan informasi mengenai tahap perkembangan mikrospora dan respon antera pada tiga ukuran bunga hermaprodit pepaya Callina pada medium induksi kalus. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikroteknik dan Kultur Jaringan 3, IPB- Bogor, dari Juli hingga November 2022. Bahan tanam yang digunakan adalah antera dari tiga ukuran bunga hermaprodit pepaya varietas Callina meliputi kecil (10-15 mm), sedang (16-20 mm) dan besar (21-25 mm). Medium kultur yang digunakan adalah medium MS dengan enam perlakuan ZPT yaitu empat perlakuan kombinasi (0.005, 0.01, 0,1 dan 0.5 mg L⁻¹) CPPU dan (0.1 mg L⁻¹) NAA; 0.1 mg L⁻¹ BAP dan 0.1 mg L⁻¹ NAA; serta 1.0 mg L⁻¹ BAP dan 2.0 mg L⁻¹ NAA. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) satu faktor (stadia perkembangan mikrospora) dan 2 faktor (induksi kalus). Hasil penelitian menunjukkan bahwa bunga berukuran 10-15 mm memiliki persentase mikrospora *uninucleate* tertinggi (77.95%), merupakan ukuran yang responsif untuk menginduksi terbentuknya kalus dari antera. Perlakuan 0.5 mg L⁻¹ CPPU dan 0.1 mg L⁻¹ NAA menunjukkan persentase antera membentuk kalus tertinggi (40.4%). Sementara itu, ukuran bunga tidak berpengaruh nyata terhadap parameter yang diamati, tetapi pada ukuran bunga 10-15 mm menunjukkan persentase antera membentuk kalus paling banyak (13%).

Kata kunci: BAP, CPPU, induksi kalus, kuncup bunga, NAA

¹Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Bogor Agricultural University, Jl. Meranti, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Bogor Agricultural University, Jl. Meranti, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

³E-mail: darda@apps.ipb.ac.id (*penulis korespondensi)

PENDAHULUAN

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang dapat berproduksi sepanjang tahun tanpa mengenal musim di Indonesia, bernilai ekonomis tinggi serta kaya akan gizi (Utami *et al.*, 2022). Perbanyakan pepaya secara konvensional dilakukan dengan cara generatif melalui biji karena lebih mudah dibandingkan dengan perbanyakan lainnya. Salah satu masalah dalam perbanyakan pepaya dengan biji yaitu adanya penyerbukan silang yang menyebabkan terjadinya segregasi sehingga sifat yang diwariskan kepada generasi berikutnya menjadi berbeda dengan tetuanya (Al-Shara *et al.*, 2018). Pepaya (*Carica papaya* L.) termasuk spesies *poligamous* dengan tiga tipe sex yaitu jantan, betina dan hermaphrodit (Yogiraj *et al.*, 2014) yang masing-masing dapat berupa bunga jantan, bunga betina dan empat jenis bunga hermaphrodit yang mana ekspresinya baru dapat diketahui ketika tanaman berbunga (Phuangrat *et al.*, 2013). Perbanyakan melalui biji kurang menguntungkan diterapkan dalam skala besar karena adanya variasi yang cukup besar terhadap kualitas buah dan hasil maupun kerentanan terhadap penyakit (Gyanchand *et al.*, 2015). Pemuliaan konvensional pada pepaya melalui persilangan membutuhkan waktu yang sangat lama, setidaknya 6-8 generasi untuk mendapatkan galur murni yang homozigot (Ming dan Moore, 2014).

Kultur jaringan merupakan alternatif untuk mengatasi masalah dari perbanyakan secara konvensional terkait dengan program pemuliaan untuk perbaikan varietas. Salah satunya dengan pemanfaatan metode kultur haploid. Kultur haploid merupakan salah satu cara untuk menghasilkan tanaman haploid maupun haploid ganda hanya dalam satu generasi (Niazian dan Shariatpanahi, 2020). Telah dilaporkan bahwa metode kultur haploid sudah banyak diaplikasikan pada lebih dari 60 genera tanaman, dengan 90% diantaranya diperoleh melalui kultur antera dan 8% melalui kultur mikrospora (Dewi dan Purwoko, 2012).

Kultur antera adalah salah satu teknik kultur *in vitro* yang menjanjikan dapat memperpendek siklus perkembangbiakan melalui metode haploid (Gyanchand *et al.*, 2015). Keberhasilan kultur antera bergantung pada berbagai faktor meliputi genotipe maupun keadaan fisiologis tanaman donor, stadia perkembangan mikrospora, medium kultur pra-perlakuan pada tanaman donor (Jain *et al.*, 2022). Pada tanaman *family Caricaceae*, pengaplikasian kultur antera masih sangat sedikit (Rimberia *et al.*, 2005; 2006; Gyanchand *et al.*, 2015; Azad *et al.*, 2013; Chong-Pérez *et al.*, 2018), terbatas hanya pada penggunaan antera dari bunga jantan sebagai sumber eksplan. Umumnya, tanaman pepaya jantan kurang bermanfaat secara komersial karena tidak dapat menghasilkan buah, dibandingkan tanaman pepaya hermaphrodit yang lebih diminati di pasaran, salah satunya karena produktivitas yang tinggi dengan setiap pohon menghasilkan buah serta dari bentuk buahnya (Febjislami *et al.*, 2018). Rimberia *et al.* (2018), menyatakan bahwa tanaman yang dihasilkan dari kultur antera bunga jantan

berbeda secara fenotipe dengan hasil buah yang bervariasi, dimana dari penelitian yang telah dilakukan semua tanaman yang dihasilkan adalah betina, oleh karena itu, dari penelitian awal ini dengan penggunaan sumber antera dari tanaman hermaphrodit diharapkan memiliki potensi untuk eksplorasi komersial dalam program pemuliaan. Tujuan umum dari penelitian ini untuk mendapatkan informasi mengenai tahap perkembangan mikrospora dan respon antera pada tiga ukuran kuncup bunga hermaphrodit pepaya Callina pada medium induksi kalus. Dari tujuan umum dijabarkan menjadi dua tujuan khusus yaitu untuk mendapatkan stadia perkembangan mikrospora yang sesuai berdasarkan karakter morfologi dan mikroskopis serta mendapatkan konsentrasi kombinasi zat pengatur tumbuh yang terbaik dalam menginduksi kalus dari antera bunga hermaphrodit pepaya varietas Callina.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikroteknik dan Kultur Jaringan 3, Institut Pertanian Bogor, mulai Juli sampai dengan November 2022. Bahan tanaman yang digunakan bunga pepaya hermaphrodit varietas Callina (10-25 mm) yang diambil dari Kebun Percobaan IPB di Pasir Kuda.

Pengamatan Karakter Morfologi dan Mikroskopis Bunga Hermaphrodit

Percobaan dilakukan pada tiga ukuran bunga meliputi ukuran kecil (10-15 mm), sedang (16-20 mm) dan besar (21-25 mm) (Gambar 1C). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) satu faktor yaitu tiga ukuran bunga. Untuk setiap parameter dimana nilai rerata dihitung dari tiga kuncup bunga, 30 antera dan 30 mikrospora. Karakter morfologi meliputi panjang kuncup bunga, tangkai sari dan kotak sari menggunakan aplikasi ImageJ. Karakter mikroskopis meliputi unit mikrospora, panjang dan diameter mikrospora, indeks P/D, ukuran serta bentuk mikrospora pada mikroskop binokuler pada perbesaran 100x (Halbritter *et al.*, 2018; Gusmalawati *et al.*, 2021).

Tahap Perkembangan Mikrospora

Pengamatan stadia perkembangan mikrospora mengacu pada penelitian Kartal (2015), dimana antera dihidrolisis dengan 1 N HCl selama 10 menit pada suhu 60 °C, dilanjutkan pembilasan dengan aquades steril satu kali. Antera diinkubasi semalam dalam 1% $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dan dibilas dengan aquades steril tiga kali. Antera diletakkan di kaca objek dan ditekan hingga mikrospora keluar. Kemudian ditetesi larutan *aceto orcein* dan diinkubasi pada suhu 18 °C selama dua jam. Preparat diamati di bawah mikroskop binokuler perbesaran 40-100x. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) satu faktor yaitu tiga ukuran kuncup bunga sebagai perlakuan. Setiap perlakuan diulang 3 kali. Setiap satu unit percobaan diamati

lima sampel antera untuk setiap perlakuan. Pengamatan mikrospora setiap fase diamati menggunakan Digital Microscope Keyence VHX-7000 pada perbesaran 500-700x. Perhitungan persentase setiap tahap mikrospora mengacu pada rumus (Pagalla *et al.*, 2020) :

$$\text{Persentase setiap tahap (\%)} = \frac{\text{jumlah mikrospora pada stadia tertentu}}{\text{jumlah total mikrospora}}$$

Induksi Kalus dari Antera Bunga Papaya Hermaprodit

Kuncup bunga dari tiga ukuran bunga disterilisasi permukaan dengan 70% etanol selama 15 menit, Clorox 30% dan 10% berturut-turut selama 10 dan 5 menit, kemudian dibilas sebanyak tiga kali dengan aquades steril untuk masing-masing setelah perendaman larutan. Sterilisasi dilanjutkan dengan mencelupkan kuncup bunga dalam 96% etanol lalu dilewatkan di atas api Bunsen, hal ini dilakukan sebanyak tiga kali. Sebanyak tiga puluh antera dikulturkan per perlakuan dalam botol kaca (diameter 50 mm) yang berisi 25 ml medium Murashige and Skoog yang dimodifikasi dengan enam kombinasi perlakuan ZPT. Setiap medium ditambahkan sukrosa (30 g L⁻¹), pH disesuaikan 5.8 dengan agar 8 g L⁻¹. Kultur diinkubasi di tempat gelap pada suhu 25±2 °C selama 2 bulan.

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKLT) faktorial. Faktor pertama terdiri atas tiga taraf antera pada ukuran bunga hermaphrodit (ukuran kecil = 10-15 mm, sedang = 16-20 mm dan besar = 21-25 mm). Faktor kedua yaitu enam kombinasi perlakuan ZPT, yaitu empat perlakuan kombinasi CPPU (0.005; 0.01; 0.1 dan 0.5 mg L⁻¹) dan NAA (0.1 mg L⁻¹) (Rimberia *et al.*, 2006), satu perlakuan kombinasi 0.1 mg L⁻¹ BAP dan 0.1 mg L⁻¹ NAA (Gyanchand *et al.*, 2015), dan satu perlakuan kombinasi 1.0 mg L⁻¹ BAP dan 2.0 mg L⁻¹ NAA (Azad *et al.*, 2013). Terdapat 18 kombinasi perlakuan yang setiap perlakuan diulang 5 kali sehingga terdapat 90 unit percobaan. Satu unit percobaan adalah satu botol. Tiap botol ditanam sebanyak 30 antera, sehingga ±2700 eksplan antera yang di tanam. Karakter yang diamati meliputi jumlah antera yang hidup per botol, jumlah antera membentuk kalus, persentase antera berkalus (%) dan waktu terbentuk kalus, hari setelah inisiasi (HSI).

Data ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2016. Dilanjutkan dengan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan program SPSS versi 22. Bila terdapat pengaruh nyata dari percobaan, dilakukan uji lanjut dengan Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf $\alpha \leq 0.05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Karakter Morfologi dan Mikroskopis Bunga Hermaphrodit

Polen maupun mikrospora secara umum dapat diklasifikasikan berdasarkan morfologinya. Karakter utama

dari mikrospora yang dapat digunakan untuk determinasi dan identifikasi meliputi unit, *aperture*, ukuran, bentuk maupun ornamentasi pada bagian luar/eksin (Nugroho, 2014). Berdasarkan pengamatan mikroskopis pada ketiga ukuran bunga terdapat karakteristik morfologi yang sama yaitu tipe unit monad (Gambar 2A, B). Tipe unit monad merupakan mikrospora yang berbentuk tunggal atau saling bebas antara satu dan lainnya (Gusmalawati *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa ukuran bunga berpengaruh secara signifikan terhadap panjang kuncup bunga, tangkai sari, kotak sari serta panjang dan diameter mikrospora (Tabel 1). Penentuan ukuran mikrospora diketahui berdasarkan nilai panjang mikrospora berdasarkan penampakan polar mikrospora. Berdasarkan nilai panjang mikrospora (9.77-10.44 µm), mikrospora pepaya callina hermaphrodit dikategorikan berukuran kecil dan termasuk tipe *perminuta*. Ukuran mikrospora dikategorikan tiga tipe yaitu *perminuta* (<10 µm), *minuta* (10.9 - <17.5 µm) dan *magna* (50 - >100 µm) (Gusmalawati *et al.*, 2021).

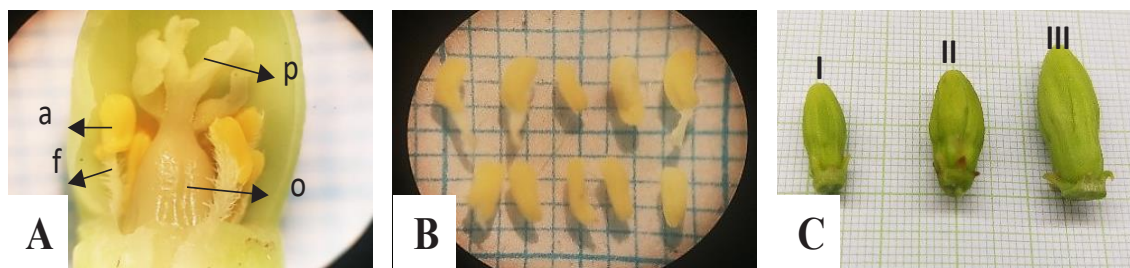
Mikrospora tanaman pepaya memiliki nilai indeks P/D berkisar 0.95-1.05 µm yang termasuk dalam kategori bentuk mikrospora yaitu *subspheroidal*. Menurut Halbritter *et al.*, (2018) bahwa bentuk mikropora dibagi menjadi lima kategori berdasarkan nilai indeks P/D yaitu: tipe *perprolate* (>2.0 µm), *prolate* (1.33-2.0 µm), *subspheroidal* (0.75-1.33 µm), *oblate* (0.5-0.75 µm) dan *peroblate* (<0.5 µm).

Diameter mikrospora berdasarkan penampakan equator mikrospora. Diameter mikrospora pada tiga ukuran bunga berkisar 9.28 - 10.76 µm, dimana fase *binucleate* ditemukan pada ukuran kuncup bunga 16-20 mm dan 21-25 mm. Menurut Kurtar *et al.*, (2023) bahwa mikrospora *binucleate* mengandung inti vegetatif, vakuola besar dan inti generatif yang kecil, sehingga ukuran diameter mikrospora tampak lebih besar pada ukuran bunga 21-25 mm dibandingkan pada ukuran bunga 10-15 mm.

Tahap Perkembangan Mikrospora

Tahap perkembangan mikrospora merupakan salah satu tahapan penting dalam keberhasilan kultur antera. Penentuan stadia mikrospora dapat dilakukan berdasarkan umur maupun kondisi fisiologis tanaman. Ukuran bunga berkorelasi dengan umur bunga, yang mana berpengaruh terhadap penentuan fase atau stadia perkembangan mikrospora sebagai donor antera yang akan digunakan (Azad *et al.*, 2013). Uji stadia perkembangan mikrospora menunjukkan bahwa bunga ukuran kecil (10-25 mm) dan sedang (16-20 mm) mengandung lebih dari 70% mikrospora *uninucleate*, sedangkan pada bunga ukuran besar (21-25 mm) sebagian besar didominasi oleh mikrospora *binucleate* (Gambar 3).

Pada beberapa kasus, tahap *uninucleate* (tahap mikrospora berinti tunggal) hingga *binucleate* awal (tahap awal inti tunggal mikrospora membelah menjadi dua) merupakan tahap paling responsif untuk menginduksi mikrospora (Suaib *et al.*, 2014). Pada ukuran kisaran 10-14 mm mengandung campuran 48.4% mikrospora *uninucleate*



Gambar 1. Keragaan kuncup bunga pepaya hermaphrodit varietas Callina. (A) morfologi bunga setengah terbuka pada perbesaran 40x, (B) antera pada perbesaran mikroskop 20x dan (C) tiga ukuran kuncup bunga: kecil (10-15 mm), sedang (16-20 mm) dan besar (21-25 mm). a: anter/kepala sari, f: filament/tangkai sari, p: kepala putik, o: ovarium.

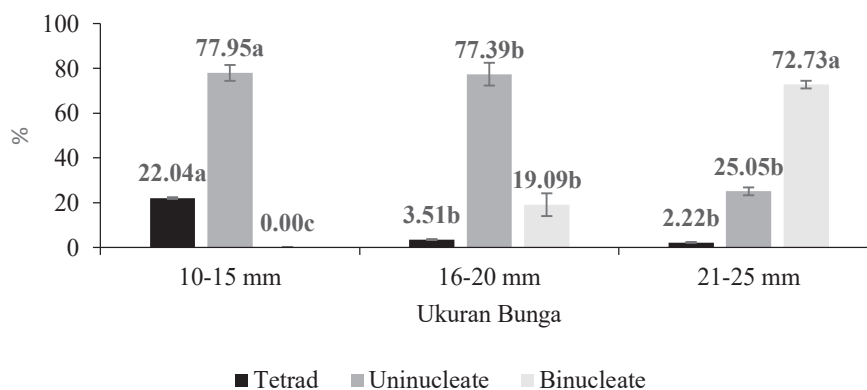


Gambar 2. Mikrospora pepaya varietas Callina. (A) Tipe unit mikrospora monad pada perbesaran mikroskop 40x dan (B) penampakan secara close up mikrospora pada perbesaran 100x. panah kuning: unit mikrospora monad.

Tabel 1. Karakter morfologi dan mikroskopis bunga pepaya hermaphrodit varietas Callina pada tiga ukuran yang berbeda.

Ukuran Bunga	Ukuran Bunga (Panjang; mm)			Ukuran Mikrospora (μm)		
	Kuncup bunga	Tangkai sari	Kotak antera	Panjang	Diameter	Indeks P/D
10-15 mm	14.26 $\pm$ 0.57c	1.10 $\pm$ 0.18ab	2.15 $\pm$ 0.26a	9.77 $\pm$ 0.47b	9.28 $\pm$ 0.23b	1.05 $\pm$ 0.05a
16-20 mm	18.70 $\pm$ 1.07b	1.16 $\pm$ 0.23a	2.03 $\pm$ 0.29a	9.97 $\pm$ 0.42ab	10.59 $\pm$ 0.17a	0.95 $\pm$ 0.03a
21-25 mm	23.23 $\pm$ 0.22a	0.95 $\pm$ 0.16b	1.42 $\pm$ 0.14b	10.44 $\pm$ 0.60a	10.76 $\pm$ 0.88a	0.97 $\pm$ 0.97a

Keterangan: Nilai rata-rata $\pm$ varian SD. Keterangan huruf yanag sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT ($\alpha \leq 0.05$).



Gambar 3. Tahap perkembangan bunga dan nukleat pada antera pepaya hermaphrodit varietas Callina pada tiga ukuran bunga. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada grafik batang yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT ($P \leq 0.05$).

dan 28.4% mikrospora *binucleate* (Rimberia *et al.*, 2006) dan pada ukuran bunga 10-15 mengandung 23.8% tetrad dan 76.2% mikrospora *uninucleate*, 40.8% mikrospora *binucleate* (Chong-Pérez *et al.*, 2018).

Dari hasil isolasi mikrospora diketahui stadia *uninucleate* awal ditandai dengan inti vegetatif yang berada dibagian tengah dengan terdapat banyak vakuola teramati dan nukleus berada ditengah sel, berikutnya inti vegetatif dan nukleus mulai bergerak kebagian tepi mikrospora serta ukuran vakuola yang membesar (Gambar 4B). Stadia *binucleate* awal terlihat mikrospora menjadi bentuk sferoid dengan pewarnaan warna vakuola lebih terang ditandai dengan inti vegetatif dan generatif serta vakuola yang besar (Gambar 4C), sedangkan pada *binucleate* akhir memiliki bentuk yang sama pada tahap *binucleate* awal hanya warna mikrospora di bagian tengah menjadi lebih gelap (Gambar 4D).

Induksi Kalus dari Antera Bunga Pepaya Hermaprodit

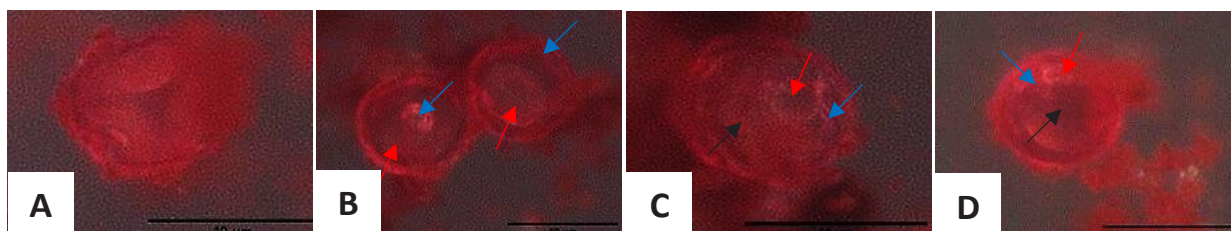
Analisis varian mengungkapkan bahwa perlakuan medium induksi secara signifikan mempengaruhi rerata parameter yang diamati pada Tabel 2 terhadap karakter jumlah antera hidup, jumlah dan persentase antera membentuk kalus dan waktu muncul kalus. Serta adanya interaksi yang berbeda nyata antara perlakuan medium dan ukuran bunga.

Eksplan antera pada 15 hari setelah inisiasi belum membentuk kalus, namun terjadi pembengkakan pada antera, kemudian eksplan akan mulai membentuk kalus berwarna kuning muda, dalam waktu 25 sampai 43 hari setelah inisiasi

yang mana perkembangan terinduksinya kalus berbeda setiap medium yang digunakan (Tabel 3).

Jumlah antera yang hidup pada keenam medium yang diuji memberikan respon yang berbeda (Tabel 3), dengan kisaran 15.8-24.2 antera. Rendahnya respon mikrospora dalam membentuk kalus meskipun jumlah antera yang hidup (tidak kontaminasi) dalam botol tinggi, diduga disebabkan seluruh mikrospora yang dikultur mati dan tidak dapat bertahan hidup, serta terjadi akibat viabilitas mikrospora yang menurun.

Medium dasar MS yang dilengkapi dengan 0.5 mg L⁻¹ CPPU dan 0.1 mg L⁻¹ NAA menghasilkan induksi kalus tertinggi (40.4%), dengan rerata banyaknya antera membentuk kalus sekitar 12.1 kalus. Inisiasi kalus terjadi pada 32 hari setelah tanam (Tabel 3). Berbeda dengan ketiga kombinasi medium yang sama yaitu medium MS dilengkapi dengan (0.005, 0.01 dan 0.1 mg L⁻¹) CPPU dan (0.1 mg L⁻¹) NAA tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan, yang mana dari tiga puluh antera yang dikulturkan hanya terlihat rerata 1-2 kotak antera yang memperlihatkan adanya respon membentuk kalus. Respon yang tidak jauh berbeda juga terlihat pada antera yang dikultur dalam dua perlakuan medium MS yang dikombinasikan dengan perlakuan 0.1 mg L⁻¹ BAP + 0.1 mg L⁻¹ NAA serta perlakuan 1.0 mg L⁻¹ BAP + 2.0 mg L⁻¹ NAA. Pada penelitian kultur antera pepaya, bahwa androgenesis dari kultur antera telah tercapai dengan kombinasi auksin dan sitokinin. Azad *et al.*, (2013) melaporkan tingkat induksi kalus yang rendah (0.67%) dengan penggunaan medium MS ditambah dengan 2.0 mg L⁻¹ NAA + 1.0 mg L⁻¹ BA. Gyanchand *et al.*, (2015) menggunakan kombinasi 0.1 mg L⁻¹ BA dan 0.1



Gambar 4. Stadia Perkembangan mikrospora (A) tetrad, (B) *uninucleate* awal (EU) dan *uninucleate* akhir (LU), (C) *binucleate* awal (EB), (D) *binucleate* akhir (LB). panah biru: inti vegetatif, panah merah: vakuola, panah hitam: inti generatif. Bar = 10 μ m.

Tabel 2. Analisis varians dari respon kultur antera pada bunga pepaya hermaprodit varietas Callina

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Antera Hidup	Antera Membentuk Kalus		Waktu Muncul kalus (HSI)
			Jumlah	%	
Medium induksi	5	157.80**	294.98**	3,277.79**	960.24*
Ukuran bunga	2	86.74	16.88	187.58	240.18
Interaksi	10	99.36*	112.04**	1,244.92**	659.51*
Galat	68	48.80	6.74	74.89	317.83

Keterangan: * = signifikan pada taraf 0.05; ** = signifikan pada taraf 0.01 ; db = derajat bebas.

Tabel 3. Pengaruh medium induksi kalus pada antera bunga pepaya hermaprodit varietas Callina dari 30 antera per botol

Medium Induksi	Jumlah Antera Hidup	Antera Membentuk Kalus		Waktu Muncul Kalus (HSI)
		Jumlah	%	
0.005 mg L ⁻¹ CPPU + 0.1 mg L ⁻¹ NAA	15.8± 6.84c	0.7± 0.09b	2.4± 0.31b	27.6± 11.95b
0.01 mg L ⁻¹ CPPU + 0.1 mg L ⁻¹ NAA	18.3± 6.55bc	1.6± 0.43b	5.3± 1.44b	40.5± 22.60ab
0.1 mg L ⁻¹ CPPU + 0.1 mg L ⁻¹ NAA	20.5± 7.94abc	0.9± 0.09b	3.1± 0.31b	43.7± 25.85a
0.5 mg L ⁻¹ CPPU + 0.1 mg L ⁻¹ NAA	22.2± 6.45ab	12.1± 4.69a	40.4± 24.05a	32.0± 15.14ab
0.1 mg L ⁻¹ BAP + 0.1 mg L ⁻¹ NAA	24.2± 6.21a	2.3± 2.38b	7.8± 6.81b	35.3± 19.71ab
1.0 mg L ⁻¹ BAP + 2.0 mg L ⁻¹ NAA	16.7± 8.86bc	1.2± 0.86b	3.9± 2.88b	25.3± 13.26b

Keterangan: Nilai rata-rata ± varian SD. Keterangan: huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT ($P \leq 0.05$).

Tabel 4. Pengaruh ukuran kuncup bunga pada antera bunga pepaya hermaprodit varietas Callina pada pengamatan selama 61 hari setelah inisiasi

Ukuran Bunga	Jumlah Antera Hidup	Antera Membentuk Kalus		Waktu Muncul Kalus (hsi)
		Jumlah	%	
10-15 mm	19.7± 7.74	3.9± 6.04	13.0± 20.15	35.2± 19.81
16-20 mm	21.3± 6.11	3.2± 4.45	10.6± 14.86	32.9± 18.71
21-25 mm	17.9± 8.62	2.4± 2.43	8.0± 8.11	36.44± 20.67

Keterangan: Nilai rata-rata ± varian SD. Keterangan huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT ($\alpha \leq 0.05$).

mg L⁻¹ NAA menghasilkan kalus embriogenik (8%). Tingkat induksi antera membentuk kalus tertinggi (12.5%) serta antera membentuk embrio (13.8%) dilaporkan oleh Rimberia *et al.* (2006), dengan mengkulturkan antera pada medium MS yang dilengkapi dengan 0.5 mg L⁻¹ CPPU dan 0.1 mg L⁻¹ NAA. *Forchlorfenuron* atau CPPU merupakan sitokinin sintetik yang terbukti efektif untuk induksi, penggandaan dan pemanjangan tunas (Rimberia *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil pada Tabel 4 bahwa ketiga ukuran bunga bisa dijadikan referensi untuk induksi kalus pada bunga pepaya hermaprodit, tetapi hanya ukuran bunga 10-15 mm yang menunjukkan hasil lebih baik dengan waktu antera muncul kalus paling cepat (32.9 HSI) dibanding kedua ukuran lainnya. Menurut penelitian yang telah dilakukan untuk studi induksi kalus melalui antera bunga hermaprodit, bahwa antera yang banyak mengandung mikrospora *uninucleate* menunjukkan respon yang tinggi pada bunga ukuran 10-15 mm pada medium MS yang dilengkapi ZPT CPPU dan NAA, sejalan dengan laporan sebelumnya oleh Rimberia *et al.* (2006), menunjukkan persentase eksplan berkalus sebesar 12.5% dan tingkat eksplan membentuk embrio sebesar 13.8%.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini didapatkan bahwa ukuran kuncup bunga dan ukuran antera pada bunga hermaprodit pepaya dapat digunakan sebagai indikator untuk mengamati stadia perkembangan mikrospora. Pada bunga ukuran kecil (10-15 mm) mengandung mikrospora *uninucleate* yang lebih

tinggi, yang responsif dalam induksi kalus. Penggunaan medium MS dengan kombinasi 0.5 mg L⁻¹ CPPU dan 0.1 mg L⁻¹ NAA secara signifikan yang berpengaruh meningkatkan induksi kalus embriogenik yang terbentuk dari antera pepaya hermaprodit varietas Callina.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Shara, B, R.M. Taha, K. Rashid. 2018. Biotechnological methods and limitations of micropropagation in papaya (*Carica papaya* L.) production: A review. J. Anim. Plant Sci.:1206–1226.
- Azad, M.A.K., G.M. Rabbani, A. Latifah. 2013. Effects of different culture medium and flower bud size on haploid plant production through anther culture of three *Carica* species. J. Food. Agric. Environ. 11(2): 296–300.
- Chong-Pérez, B., B. Carrasco, H. Silva, F. Herrera, K. Quiroz, R. Garcia-Gonzales. 2018. Regeneration of highland papaya (*Vasconcellea pubescens*) from anther culture. Appl. Plant Sci. 6(9): 1–7. <https://doi.org/10.1002/aps3.1182>
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko. 2012. Kultur antera untuk percepatan perakitan varietas padi di Indonesia. J. AgroBiogen. 8(2): 78-88. <https://doi.org/10.21082/jbio.v8n2.2012.p78-88>

- Febjislami, S., K. Suketi, R. Yunianti. 2018. Karakterisasi morfologi bunga, buah, dan kualitas buah tiga genotipe pepaya hibrida. *Bul. Agrohorti.* 6(1): 112–119. <https://doi.org/10.29244/agrob.v6i1.17488>
- Gusmalawati, D., M.F. Huda, S.M. Fauziah, Y.E. Banyo, Z. Abidin. 2021. Karakterisasi morfologi polen dari sepuluh jenis tumbuhan dari famili yang berbeda. *J. Teksnologi Terap.* 4(2): 303–308. <https://doi.org/10.33379/gtech.v4i2.658>
- Gyanchand, G., M.K. Sharma, S. Kumar, S. Sagar, V. Kumar, M. Kumar. 2015. In-Vitro androgenesis in papaya (*Carica papaya* L.) cv. Pusa Nanha. *J. Appl. Nat. Sci.* 7(1): 273–278. <https://doi.org/10.31018/jans.v7i1.601>
- Halbritter, H., U. Silvia, G. Friðgeir, W. Martina, Z. Reinhard, H. Michael, B. Ralf, S. Matthias, F.R. Andrea. 2018. *Illustrated Pollen Terminology*. Second Edi. Vienna-Austria: Springer.
- Jain, S., P. Maurya, S. Saini, S. Jagga, A. Jayachandran, V. Kumar, B. Kiran. 2022. Anther culture and double-haploid production in fruit crops: Status & opportunities. *Pharma Innov. J.* 2022. 11(11): 975–985.
- Kartal, C. 2015. Microsporogenesis, microgametogenesis and in vitro pollen germination in the endangered species *Fritillaria sibirnyi* (*Liliaceae*). *Caryologia.* 68(1): 36–43. <https://doi.org/10.1080/00087114.2014.998947>
- Kurtar, E., M. Seymen, A. Alan, F. Toprak, Z. Atakul, D. Metin, A. Lachin, B. Yirmibes. 2023. Determination of the microspore development concerning floral morphology for improving drought tolerant citron watermelon (*Citrullus lanatus* var . *citroides*) Rootstocks Via. *Ann. Agric. Crop Sci.* 8(2): 1–5.
- Ming, R., P.H. Moore. 2014. Genetics and genomics of papaya. *Genet. Genomics Papaya*.(July): 1–438. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8087-7>
- Niazian, M., M.E. Shariatpanahi. 2020. In vitro-based doubled haploid production: recent improvements. *Euphytica.* 216(5): 1–21. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02609-7>
- Nugroho, S.H. 2014. Karakteristik umum polen dan spora serta aplikasinya. *Oseana.* 39(3): 7–19.
- Pagalla, D.B., A. Indrianto, Maryani, E. Semiarti. 2020. Induction of microspore embryogenesis of eggplant (*Solanum melongena* L.) ‘Gelatik.’ *J. Trop. Biodivers. Biotechnol.* 5(2): 124–131. <https://doi.org/10.22146/jtbb.53677>
- Phuangrat, B., N. Phironrit, A. Son-ong, P. Puangchon, A. Meechai, S. Wasee, W. Kositratana, P. Burns. 2013. Histological and morphological studies of pollen grains from elongata, reduced elongata and staminate flowers in *Carica papaya* L. *Trop. Plant Biol.* 6(4): 210–216. <https://doi.org/10.1007/s12042-013-9118-0>
- Rimberia, F.K., H. Sunagawa, N. Urasaki, Y. Ishimine, S. Adaniya. 2005. Embryo induction via anther culture in papaya and sex analysis of the derived plantlets. *Sci. Hortic. (Amsterdam).* 103(2): 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.04.013>
- Rimberia, F.K., S. Adaniya, Y. Ishimine, T. Etoh. 2006. Sex and ploidy of anther culture derived papaya (*Carica papaya* L.) plants. *Euphytica.* 149(3): 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.10.015>
- Rimberia, F.K., F.K. Ombwara, N. Mumo, E.M. Ateka. 2018. Genetic Improvement of Papaya (*Carica papaya* L.). Ed ke-1 Volume ke-3. Al-Khayri JM, Jain SM, Johnson D V., editor. Springer Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91944-7_21
- Suaib, M.J. Arma, Muhidin. 2014. Morfologi bunga yang sesuai bagi kultur mikrospora pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). *J. Agroteknos.* 4(1):1–9. <https://doi.org/10.56189/ja.v4i1.199>
- Utami, H.S., S. Susanto, D.P. Hapsari. 2022. Keragaman kualitas fisik dan kimia buah pepaya Callina di Balumbangjaya. *J. Hort. Indonesia.* 13(200): 109–119. <https://doi.org/10.29244/jhi.13.2.109-119>
- Yogiraj, V., P.K. Goyal, C.S. Chauhan, A. Goyal, B. Vyas. 2014. *Carica papaya* Linn: an overview. *Int. J. Herb. Med.* 2(5 Part A):1–8.