

## Kultur Antera untuk Mendapatkan Galur Padi Toleran Salinitas

### *Anther Culture to Obtain Rice Lines Tolerant to Salinity*

Heni Safitri<sup>1,2</sup>, Bambang Sapta Purwoko<sup>3\*</sup>, Iswari Saraswati Dewi<sup>4</sup>, dan Sintho Wahyuning Ardie<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

<sup>2</sup>Balai Besar Penelitian Padi, Sukamandi, Jl. Raya IX, Sukamandi Subang, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

<sup>4</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian Jl. Tentara Pelajar No. 3A Cimanggu, Bogor 16111, Indonesia

Diterima 11 Agustus 2015/Disetujui 8 Februari 2016

#### ABSTRACT

*Haploid breeding through anther culture allows shortening of the breeding cycle and production of homozygous lines from a segregating population in the immediate generation. This technique has been used for crop improvement especially in rice. The objective of this research was to determine regeneration ability of twelve F1s, derived from reciprocal crossing between high yielding rice variety and rice tolerance to salinity, through anther culture. Completely randomized design with 20 replications was used in this research. Medium for callus induction was based on N6 medium + 2.0 mg NAA L<sup>-1</sup> + 0.5 mg kinetin L<sup>-1</sup> + 1 mM putrescine, while regeneration medium was based on MS + 0.5 mg NAA L<sup>-1</sup> + 2.0 mg kinetin L<sup>-1</sup> + 1 mM putrescine. Rooting were done in MS medium + 0.5 mg IBA L<sup>-1</sup> + 1 mM putrescine. The result indicated that F1 derived from IR77674/Inpari 29 (3.1% green plants/total anther) was the most responsive genotypes in rice anther culture (high anther culture ability). After greenhouse grow out 125 putative double haploid plants were obtained (41.5% from total acclimated green plantlets).*

*Keywords: double haploid, green plantlets, indica rice, salt tolerance*

#### ABSTRAK

*Pemuliaan haploid melalui kultur antera merupakan salah satu strategi untuk mengurangi lamanya siklus seleksi dalam program pemuliaan tanaman dalam menghasilkan galur-galur homozigos. Teknik ini sudah digunakan pada tanaman budidaya khususnya padi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan regenerasi dari 12 F1 hasil persilangan resiprok antara tetua padi berdaya hasil tinggi dengan padi toleran salinitas melalui kultur antera. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 20 ulangan. Media untuk induksi kalus yaitu N6 + 2.0 mg NAA L<sup>-1</sup> + 0.5 mg kinetin L<sup>-1</sup> + 1 mM putresin, sedangkan media regenerasi yaitu MS + 0.5 mg NAA L<sup>-1</sup> + 2.0 mg kinetin L<sup>-1</sup> + 1 mM putresin. Media pengakaran menggunakan MS + 0.5 mg IBA L<sup>-1</sup> + 1 mM putresin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa F1 hasil persilangan IR77674/Inpari 29 merupakan genotipe yang paling responsif terhadap kultur antera. Genotipe tersebut mempunyai daya kultur antera paling tinggi (3.1% tanaman hijau terhadap total antera). Penelitian ini menghasilkan 125 tanaman dihaploid putatif (41.5%) dari total tanaman hijau yang diaklimatisasi.*

*Kata kunci: dihaploid, padi indica, planlet hijau, toleran salinitas*

#### PENDAHULUAN

Salinitas merupakan salah satu masalah utama dalam budidaya tanaman padi di seluruh dunia (Hosseini *et al.*, 2012; Abbas *et al.*, 2013). Tanaman padi sensitif terhadap salinitas, namun padi sawah merupakan salah satu yang direkomendasikan ditanam di lahan salin, karena padi sawah

mempunyai kemampuan untuk tumbuh di lahan tergenang (Sankar *et al.*, 2011; Aref dan Rad, 2012). Kehilangan hasil padi pada kondisi lahan salin (>6 dS m<sup>-1</sup>) mencapai 50-100% (Rad *et al.*, 2012).

Pengembangan padi di lahan salin terkendala oleh kurangnya ketersediaan varietas unggul toleran salinitas. Varietas padi toleran salinitas di Indonesia hasil pemuliaan konvensional yang dihasilkan Balai Besar Penelitian Tanaman Padi masih sedikit jumlahnya. Varietas Dendang dan Lambur dideskripsikan bersifat agak toleran terhadap lahan salin, sedangkan varietas Inpari 34 Salin Agritan dan

\* Penulis untuk korespondensi. e-mail: bambangpurwoko@gmail.com

Inpari 35 Salin Agritan dideskripsikan bersifat toleran salin pada stadia bibit (BB Padi, 2015). *Central Soil Salinity Research Institute* (CSSRI) di India telah mengembangkan varietas padi toleran salinitas, khususnya untuk lahan salin di daerah pantai yaitu SR 26 B, CSR 1, CSR 2, CSR 3, CSR 27, CSR 13, Panvel 1, Panvel 2, Panvel 3, Vytilla 1, dan Vytilla 2. Varietas CSR 10 merupakan varietas pertama padi toleran salinitas yang mempunyai tinggi tanaman sedang, berdaya hasil tinggi dan berumur genjah (Sankar *et al.*, 2011). Senadhira *et al.* (2002) melaporkan bahwa terdapat satu varietas toleran salin yang dihasilkan oleh IRRI melalui teknik kultur antera, yaitu PSBRc50 "Bicol".

Teknik kultur antera F1 merupakan salah satu strategi untuk mengurangi lamanya waktu seleksi sehingga mempersingkat siklus pemuliaan dalam menghasilkan galur-galur murni homozigot (Lapitan *et al.*, 2009; Germana, 2011; Kaushal *et al.*, 2014). Beberapa galur hasil kultur antera sudah dihasilkan di Indonesia. Galur-galur tersebut merupakan galur padi sawah dan padi gogo, sehingga penelitian diarahkan untuk memperoleh varietas berdaya hasil tinggi, toleran terhadap cekaman kekeringan (Herawati *et al.*, 2008; Safitri *et al.*, 2010), toksisitas Aluminium (Dewi *et al.*, 2009) dan resistensi terhadap blas (Purwoko *et al.*, 2010). Penelitian untuk menghasilkan varietas baru yang toleran salinitas masih sangat diperlukan sehingga varietas yang diperoleh lebih adaptif untuk kondisi lahan salin di Indonesia. Perakitan padi toleran salinitas di Indonesia masih menggunakan sistem pemuliaan konvensional, sehingga penggunaan teknik kultur antera dalam pengembangan padi toleran salinitas diharapkan mampu menghasilkan galur-galur murni dihaploid (DH) yang toleran salinitas dalam waktu yang relatif cepat.

## BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelompok Peneliti Biologi Sel dan Jaringan dan Rumah Kaca Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor pada bulan Oktober 2013 sampai dengan September 2014.

Bahan yang digunakan adalah 12 genotipe F1 hasil persilangan tetua berdaya hasil tinggi dan tetua toleran salinitas, yaitu Inpara 5, Inpari 29, Inpari 30, Dendang, IR77674, IR81493 dan IR78788. Tetua-tetua tersebut terpilih melalui uji penapisan salinitas menurut metode Egdane *et al.* (2007) yang dimodifikasi yaitu dengan menggunakan larutan hara Yoshida yang diberi perlakuan garam NaCl 120 mM atau mempunyai konduktivitas elektrik (EC) sebesar 11 dS m<sup>-1</sup>. Uji penapisan tersebut dilaksanakan pada bulan April-Mei 2013. Inpara 5, Inpari 29, dan Inpari 30 sebagai padi sawah irigasi dan Dendang sebagai padi rawa, merupakan varietas padi berdaya hasil tinggi dan toleran salinitas berdasarkan hasil pengujian pada stadia bibit, sedangkan IR81493 dan IR78788 merupakan galur padi toleran salinitas yang berasal dari IRRI.

Percobaan kultur antera genotipe F1 dilaksanakan menggunakan metode menurut Dewi *et al.* (2006). Media

untuk induksi kalus adalah N6 yang diberi 2.0 mg NAA L<sup>-1</sup> dan 0.5 mg kinetin L<sup>-1</sup>, sedangkan media regenerasi kalus adalah media MS (Murashige dan Skoog) yang diberi 0.5 mg NAA L<sup>-1</sup> dan 2.0 mg kinetin L<sup>-1</sup>. Media perakaran adalah media MS ditambah 0.5 mg IBA L<sup>-1</sup>. Pembuatan media induksi kalus, regenerasi dan perakaran ditambahkan dengan 1 mM Putresin. Pematat yang digunakan adalah 0.3% agar phytigel<sup>TM</sup> dengan pH media 5.8. Media disterilisasi dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 120 °C dan tekanan 18-20 psi.

Percobaan induksi kalus dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 20 ulangan. Setiap ulangan adalah satu cawan petri berisi ± 150 antera yang berasal dari 25 bunga atau spikelet muda. Malai yang masih terselubung seludangnya dicuci bersih kemudian dibungkus dengan kertas *tissue* yang telah dibasahi sebelum dimasukkan dalam plastik. Malai selanjutnya disimpan dalam ruang dingin bersuhu 5 °C selama 7-10 hari. Malai kemudian dibuka selubungnya, spikelet (bulir) yang berwarna kuning kehijauan diambil dan disterilkan dengan 20% Clorox selama 20 menit dan selanjutnya dicuci dengan air steril sebanyak 2 kali.

Spikelet-spikelet yang sudah steril dipotong sepertiga bagian dari pangkalnya untuk memudahkan antera keluar ketika dikulturkan pada cawan petri berisi 25 mL media induksi kalus. Setiap cawan petri berisi antera yang berasal dari 25-30 spikelet atau berisi ± 150 butir antera. Kultur selanjutnya diinkubasi dalam ruang gelap bersuhu (25 ± 2) °C untuk menginduksi keluarnya kalus. Kalus yang berukuran 1-2 mm dipindahkan dalam botol yang berisi 25 mL media regenerasi untuk merangsang keluarnya tunas. Tunas/tanaman hijau yang tumbuh dipindahkan ke tabung kultur yang berisi 15 mL media pengakaran. Selama regenerasi dan perakaran, kultur ditempatkan dalam kondisi terang (cahaya 1600-1800 lux) bersuhu (25 ± 2) °C.

Aklimatisasi dilakukan dengan menanam planlet hasil kultur antera dalam tabung reaksi berisi air selama satu minggu, kemudian tanaman dipindahkan ke dalam bak semai berisi tanah berlumpur selama satu minggu. Selama proses aklimatisasi, tanaman diperlakukan dengan keadaan cahaya dengan intensitas yang meningkat secara bertahap agar tanaman mampu beradaptasi dengan kondisi lapangan. Bibit padi hasil kultur antera kemudian dipindahkan dari bak ke pot dan ditanam di rumah kaca. Tanaman dipelihara dan diamati hingga panen.

Pengamatan dilakukan terhadap jumlah kalus yang terbentuk, jumlah kalus yang menghasilkan tanaman (hijau dan albino), jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino, dan jumlah tanaman dihaploid putatif yang dihasilkan. Data primer yang diperoleh digunakan untuk mendapatkan persentase antera yang membentuk kalus, persentase kalus terhadap jumlah antera, persentase tanaman hijau terhadap jumlah tanaman total, persentase tanaman albino terhadap jumlah tanaman total dan efisiensi setiap perlakuan dalam menghasilkan tanaman hijau yaitu rasio tanaman hijau terhadap jumlah antera yang diinokulasi. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

*Pembentukan Kalus*

Kalus pada kultur antera padi mulai terbentuk pada 3-4 minggu setelah inokulasi antera (Safitri *et al.*, 2010). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa inisiasi kalus pertama genotipe-genotipe yang dikulturkan bervariasi dari 37.3-52.5 hari (Tabel 1). Persilangan Dendang/Inpari 30 dan Inpari 29/IR77674 mampu membentuk kalus paling cepat. Inisiasi kalus genotipe-genotipe yang dikulturkan termasuk lambat. Persilangan IR78788/Dendang paling lama menginisiasi kalus yaitu 52.5 hari. Lamanya waktu inisiasi kalus ini banyak dipengaruhi oleh genotipe yang digunakan, kondisi lingkungan saat penanaman eksplan dan media kultur yang digunakan (Bagheri *et al.*, 2009; Dewi dan Purwoko, 2011; Khatun *et al.*, 2012).

Kemampuan setiap genotipe dalam menghasilkan kalus pada kultur antera padi berbeda-beda. Persilangan Dendang/Inpari 30 dan persilangan resiprokalnya mampu menghasilkan kalus paling banyak, berturut-turut 16.7 dan 13.6 butir kalus tiap cawan petri, berbeda nyata dengan persilangan-persilangan yang lain (Tabel 1).

Kalus yang dihasilkan dari kultur antera dapat beregenerasi menjadi tanaman hijau dan/atau tanaman albino. Kalus yang terbentuk tidak semuanya mampu beregenerasi membentuk tanaman, sebagian besar kalus tidak beregenerasi atau tidak menghasilkan tanaman. Kemampuan regenerasi kalus genotipe hasil persilangan Dendang/Inpari 30 paling tinggi dibanding persilangan yang lain, yaitu sebesar 3.7 buah atau 22.2% dari seluruh kalus yang terbentuk. Hasil ini tidak berbeda nyata dengan regenerasi kalus genotipe hasil persilangan IR77674/Inpari

29 (Tabel 1). Persilangan Inpari 30/Dendang mempunyai hasil regenerasi kalus sedikit lebih rendah dibanding persilangan resiprokalnya, yaitu sebesar 2.3 kalus atau 16.5% dari total kalus yang terbentuk. Meskipun demikian, jumlah kalus yang menghasilkan tanaman hijau dari persilangan-persilangan tersebut sama, berkisar 1.0-1.2 tanaman.

Kalus yang mampu membentuk tanaman hijau kurang dari 25% dari total kalus yang terbentuk (Tabel 1). Apabila dibandingkan dengan kalus yang beregenerasi menjadi tanaman hijau, rata-rata kalus yang beregenerasi menjadi tanaman albino berjumlah lebih banyak. Persilangan IR81493/Inpari 29 dan resiprokalnya bahkan tidak menghasilkan tanaman hijau dari kalus yang dihasilkan.

*Regenerasi Tanaman*

Rata-rata jumlah tanaman yang dihasilkan tiap genotipe berbeda-beda (Tabel 2). Persilangan Dendang/Inpari 30 dan IR77674/Inpari 29 mampu menghasilkan tanaman total paling banyak, tetapi persilangan IR77674/Inpari 29 menghasilkan tanaman hijau lebih banyak. Persilangan IR81493/Inpari 29 dan resiprokalnya hanya mampu menghasilkan tanaman albino.

Tanaman hijau yang dihasilkan dari kultur antera padi umumnya lebih sedikit dibanding dengan tanaman albino. Hal ini juga dilaporkan oleh Herawati *et al.* (2008) pada kultur antera padi gogo. Tanaman albino yang terbentuk memang merupakan kelemahan dalam kultur antera padi. Hal ini tidak akan menjadi persoalan jika tanaman hijau yang dihasilkan juga banyak, karena setiap tanaman hijau yang dihasilkan merupakan satu genotipe unik.

Persilangan resiprok yang digunakan pada penelitian ini tidak berpengaruh terhadap banyaknya tanaman hijau

Tabel 1. Hasil induksi kalus beberapa persilangan padi untuk toleransi terhadap salinitas

Genotipe	IK (hari)	JK	JKT	JKTH	JKTA	KT* (%)	KTH* (%)	KTA* (%)
Inpara 5/IR77674	44.2bcde	6.2bcd	2.4bc	1.0a	1.4bc	38.2	16.3	22.0
IR77674/Inpara 5	44.3bcde	2.2f	0.6def	0.3cd	0.4e	27.3	11.4	15.9
Inpari 29/IR77674	37.8e	5.8bcd	0.8de	0.2cd	0.6de	13.8	3.4	10.3
IR77674/Inpari 29	30.4f	9.1b	3.0ab	1.1a	1.9b	32.6	11.6	21.0
Inpari 29/IR81493	43.2bcde	2.8ef	0.3f	0.1d	0.2e	9.1	1.8	7.3
IR81493/Inpari 29	47.9abc	6.5bcd	0.5ef	0.0d	0.5de	7.8	0.0	7.8
Inpari 30/Dendang	39.4de	13.6a	2.3bc	1.2a	1.1cd	16.5	8.5	8.1
Dendang/Inpari 30	37.3e	16.7a	3.7a	1.1a	2.7a	22.2	6.3	15.9
Inpari 30/IR77674	50.0ab	4.8cde	1.1d	0.5bc	0.6de	21.9	9.4	12.5
IR78788/Dendang	41.5cde	8.7bc	2.4bc	0.8ab	1.6bc	27.0	8.6	18.4
IR78788/Inpari 29	46.1abcd	6.2bcd	2.5b	0.5bc	2.0b	39.8	8.1	31.7
IR78788/Inpara 5	52.5a	3.8de	1.6c	1.0a	0.6de	40.8	25.0	15.8

Keterangan: IK = lama kalus terinduksi, JK = jumlah kalus; JKT = jumlah kalus yang menghasilkan tanaman; JKTH = jumlah kalus yang menghasilkan tanaman hijau; JKTA = jumlah kalus yang menghasilkan tanaman albino; KT = persentase kalus menghasilkan tanaman; KTH = persentase kalus menghasilkan tanaman hijau, KTA=persentase kalus menghasilkan tanaman albino, \* tidak diuji statistik. Angka dalam satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT pada taraf 5%

yang terbentuk. Jumlah tanaman hijau yang terbentuk dipengaruhi oleh genotipe tetua itu sendiri, baik ketika genotipe itu diletakkan sebagai tetua betina atau tetua jantan pada saat persilangan. Hasil menunjukkan bahwa tetua Dendang mampu menghasilkan planlet hijau yang cukup tinggi dibanding tetua yang lain. Persilangan yang menggunakan Dendang sebagai tetua menghasilkan planlet hijau sebesar 1.8 (30.3%) pada persilangan Inpari 30/Dendang dan 2.3 (20.4%) pada persilangan resiprokalnya. Tetua IR77674 mampu menghasilkan planlet hijau yang tinggi pada persilangan IR77674/Inpari 29 dan Inpara 5/IR77674, tetapi planlet hijau yang dihasilkan sangat rendah pada persilangan yang lain (Tabel 2).

*Efisiensi Pembentukan Kalus dan Tanaman Hijau*

Efisiensi pembentukan kalus dari setiap genotipe yang dikulturkan dinyatakan dengan persentase jumlah kalus terhadap jumlah antera. Efisiensi pembentukan kalus tertinggi ditunjukkan oleh persilangan Dendang/Inpari 30 (11.1%) diikuti oleh persilangan Inpari 30/Dendang (9.1%) dan IR77674/Inpari 29 (6.0%), namun tingginya persentase pembentukan kalus tersebut ternyata tidak diimbangi dengan tingginya persentase pembentukan tanaman hijau (Tabel 3).

Efisiensi pembentukan tanaman hijau dinyatakan dengan persentase tanaman hijau terhadap jumlah kalus. Efisiensi pembentukan tanaman hijau tertinggi ditunjukkan oleh persilangan IR77674/Inpari 29 (51.4%) diikuti oleh persilangan Inpara 5/IR77674 (44.7%) dan IR78788/Inpara 5 (38.2%). Persilangan Dendang/Inpari 30 dan resiprokalnya menghasilkan efisiensi pembentukan tanaman hijau yang rendah, yaitu berturut-turut 13.5% dan 13.2% (Tabel 3).

Efisiensi kultur antera yang terkait dengan produksi tanaman hijau dinyatakan dengan persentase tanaman hijau yang dihasilkan terhadap jumlah antera yang dikulturkan

(Zhang, 1989). Efisiensi kultur antera tertinggi ditunjukkan oleh persilangan IR77674/Inpari 29 (3.1%), diikuti oleh persilangan Inpara 5/IR77674 (1.8%), Dendang/Inpari 30 (1.5%), IR78788/Dendang (1.3%), Inpari 30/Dendang (1.2%) dan IR78788/Inpara 5 (1.0%). Sementara itu enam persilangan yang lain mempunyai efisiensi kultur antera kurang dari 1.0% (Tabel 3). Efisiensi kultur antera pada penelitian ini tergolong sangat rendah. Hal ini dipengaruhi selain oleh kondisi lingkungan, juga oleh genotipe yang digunakan sebagai bahan persilangan. Semua galur/varietas yang digunakan merupakan padi dari subspecies *indica*. Secara umum kultivar padi *japonica* memberikan respon kultur antera lebih baik dibanding kultvar *indica* (Dewi dan Purwoko, 2011).

Penelitian ini menggunakan eksplan tanaman F1 sebagai sumber antera. Kultur antera hibrida F1 menghasilkan respon lebih baik dibanding tetua *inbred* yang digunakan (Dewi dan Purwoko, 2011), selain itu kultur antera hibrida F1 lebih efektif dan lebih cepat dalam memperoleh galur-galur homozigos dari persilangan sehingga akan meningkatkan efisiensi seleksi (Sah dan Niroula, 2007; Safitri *et al.*, 2010).

*Aklimatisasi dan Evaluasi Tanaman Dihaploid Putatif*

Tanaman hasil kultur antera dapat berupa tanaman-tanaman haploid, tanaman-tanaman dihaploid yang diperoleh dari penggandaan kromosom haploid secara spontan selama kultur antera berlangsung, dan tanaman-tanaman dengan berbagai tingkat ploidi (Zhang, 1989). Tanaman haploid pada padi hasil kultur antera mudah dibedakan dari tanaman dihaploid melalui pengamatan pada morfologi tanaman yaitu umumnya tanaman haploid lebih pendek, daun lebih pendek dan sempit, bulir gabah yang lebih kecil dan hampa (steril) serta tidak mempunyai ligula dan aurikel apabila

Tabel 2. Hasil regenerasi tanaman beberapa persilangan padi untuk toleransi terhadap salinitas

Genotipe	Jumlah tanaman				
	Hijau	Albino	Hijau+Albino	Hijau* (%)	Albino* (%)
Inpara 5/IR77674	2.8b	5.5ab	8.3ab	33.3	66.7
IR77674/Inpara 5	0.7ef	1.4d	2.1ef	33.3	66.7
Inpari 29/IR77674	0.4f	2.4cd	2.8de	14.3	85.7
IR77674/Inpari 29	4.7a	6.2ab	10.9a	42.9	57.1
Inpari 29/IR81493	0.1f	0.9d	0.9f	5.6	94.4
IR81493/Inpari 29	0.0f	2.2d	2.2ef	0.0	100.0
Inpari 30/Dendang	1.8bcd	4.2bc	6.0bc	30.3	69.7
Dendang/Inpari 30	2.3bc	8.8a	11.1a	20.4	79.6
Inpari 30/IR77674	0.7ef	2.4cd	3.1de	22.6	77.4
IR78788/Dendang	1.9bc	6.1ab	8.0ab	23.9	76.1
IR78788/Inpari 29	1.0def	7.2ab	8.2ab	12.3	87.7
IR78788/Inpara 5	1.5cde	3.1cd	4.6cd	31.9	68.1

Keterangan: \* tidak diuji statistik. Angka dalam satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT pada taraf 5%

Tabel 3. Efisiensi pembentukan kalus dan tanaman hijau pada kultur antera beberapa persilangan padi untuk toleransi terhadap salinitas

Genotipe	Persentase kalus terhadap jumlah antera	Persentase tanaman hijau terhadap jumlah kalus	Persentase tanaman hijau terhadap jumlah antera
Inpara 5/IR77674	4.1	44.7	1.8
IR77674/Inpara 5	1.5	31.8	0.5
Inpari 29/IR77674	3.9	6.9	0.3
IR77674/Inpari 29	6.0	51.4	3.1
Inpari 29/IR81493	1.8	1.8	0.0
IR81493/Inpari 29	4.3	0.0	0.0
Inpari 30/Dendang	9.1	13.2	1.2
Dendang/Inpari 30	11.1	13.5	1.5
Inpari 30/IR77674	3.2	14.6	0.5
IR78788/Dendang	5.8	21.8	1.3
IR78788/Inpari 29	4.1	16.3	0.7
IR78788/Inpara 5	2.5	38.2	1.0

dibandingkan dengan tanaman dihaploid (Herawati *et al.*, 2008; Sah dan Niroula, 2007; Safitri *et al.*, 2010).

Hasil menunjukkan bahwa jumlah tanaman yang diaklimatisasi terbanyak pada kultur antera persilangan IR77674/Inpari 29 (93 tanaman). Tanaman yang berhasil hidup dari hasil aklimatisasi sebanyak 89 tanaman (95.7%), 54 tanaman diantaranya (60.7%) merupakan tanaman dihaploid putatif (Tabel 4). Keberhasilan aklimatisasi paling tinggi ditunjukkan oleh persilangan IR78788/Inpara 5, yaitu sebanyak 96.6% tanaman hidup atau 28 tanaman dari 29 tanaman yang diaklimatisasi. Persilangan IR78788/Dendang mempunyai keberhasilan aklimatisasi sangat

rendah, hanya 50% dari jumlah tanaman yang diaklimatisasi yang mampu bertahan hidup. Persilangan Inpari 29/IR81493 dan resiprokalnya sama sekali tidak menghasilkan tanaman. Keberhasilan aklimatisasi secara umum cukup tinggi, sebanyak 9 persilangan mempunyai keberhasilan aklimatisasi  $\geq 75\%$  dengan rata-rata keberhasilan aklimatisasi sebesar 85.3%.

Aklimatisasi tanaman hijau hasil kultur antera ternyata hanya menghasilkan tanaman dihaploid putatif yang sedikit (Tabel 4). Persilangan IR77674/Inpari 29 mampu menghasilkan tanaman dihaploid putatif paling banyak meskipun secara persentase lebih rendah dibanding

Tabel 4. Aklimatisasi dan tanaman dihaploid putatif yang dihasilkan dari kultur antera beberapa persilangan padi untuk pengembangan padi toleran salinitas

Genotipe	Jumlah tanaman hijau			Persentase hidup	Persentase dihaploid putatif
	Aklimatisasi	Hidup	Dihaploid putatif		
Inpara 5/IR77674	55	44	21	80.0	47.7
IR77674/Inpara 5	14	12	2	85.7	16.7
Inpari 29/IR77674	8	6	2	75.0	33.3
IR77674/Inpari 29	93	89	54	95.7	60.7
Inpari 29/IR81493	1	0	0	-	-
IR81493/Inpari 29	0	0	0	-	-
Inpari 30/Dendang	36	32	6	88.9	18.8
Dendang/Inpari 30	45	41	32	91.1	78.0
Inpari 30/IR77674	14	12	0	85.7	0.0
IR78788/Dendang	38	19	2	50.0	10.5
IR78788/Inpari 29	20	18	1	90.0	5.6
IR78788/Inpara 5	29	28	5	96.6	17.9
Jumlah	353	301	125		

persilangan Dendang/Inpari 30, yaitu berturut-turut sebanyak 54 tanaman (60.7%) dan 41 tanaman (78%).

Jumlah tanaman dihaploid putatif yang dihasilkan dari penelitian ini adalah 125 tanaman atau 41.5% dari total tanaman yang hidup setelah diaklimatisasi (Tabel 4). Frekuensi tanaman dihaploid putatif yang dihasilkan dalam penelitian ini masih cukup rendah (<50%). Penelitian sebelumnya yang dilakukan Safitri *et al.* (2010) menghasilkan 29.8% tanaman dihaploid putatif (161 tanaman) dari kultur antera padi persilangan *indica/indica*. Rendahnya frekuensi tanaman dihaploid putatif yang diperoleh pada kultur antera padi lebih banyak disebabkan oleh faktor genetik yaitu tetua yang digunakan sebagai bahan persilangan. Meskipun demikian, dari tanaman dihaploid putatif yang dihasilkan diharapkan dapat diperoleh genotipe-genotipe homozigos yang berdaya hasil tinggi dan toleran terhadap salinitas. Pengujian lebih lanjut pada tanaman-tanaman dihaploid putatif yang dihasilkan perlu dilakukan, baik pengujian terhadap homozigositas, karakter agronomi, daya hasil, ketahanan terhadap hama dan penyakit, dan toleransi terhadap salinitas. Menurut Dewi dan Purwoko (2011), tahapan pengujian yang dilakukan setelah diperoleh galur dihaploid homozigos sama dengan tahapan pengujian yang dilakukan terhadap galur murni homozigos yang diperoleh melalui metode pemuliaan konvensional. Galur-galur dihaploid yang dihasilkan diharapkan dapat diusulkan sebagai varietas padi toleran salinitas dalam jangka waktu 3-4 tahun setelah galur-galur tersebut diperoleh.

### KESIMPULAN

Aplikasi teknik kultur antera genotipe padi toleran salinitas telah menghasilkan 125 tanaman dihaploid putatif dari 12 genotipe F1 hasil persilangan tetua berdaya hasil tinggi dengan tetua toleran salinitas. Genotipe F1 memberikan respon yang berbeda terhadap regenerasi tanaman pada kultur antera padi. F1 dari hasil persilangan IR77674/Inpari 29 mempunyai efisiensi kultur antera paling tinggi dalam menghasilkan tanaman hijau (93 tanaman), serta menghasilkan tanaman dihaploid putatif paling banyak (54 tanaman) dibandingkan jenis F1 lainnya.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan diberikan kepada Badan Litbang Pertanian dan Institut Pertanian Bogor atas pendanaan penelitian ini melalui program KKP3N tahun 2013 dengan kontrak No. 697/LB.620/I.1/2/2013. Terima kasih juga disampaikan kepada staf BB Biogen dan KP Muara yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

Abbas, M.K., A.S. Ali, H.H. Hasan, R.H. Ghal. 2013. Salt tolerance study of six cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) during germination and early seedling growth. J. Agric. Sci. 5:250-259.

Aref, F., H.E. Rad. 2012. Physiological characterization of rice under salinity stress during vegetative and reproductive stages. Indian J. Sci. Tech. 5:2578-2586.

Bagheri, N., N. Babaeian-Jelodar, A. Ghanbari. 2009. Evaluation of effective factors in anther culture of Iranian rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. Biharean Biologist 3:119-124.

[BB Padi] Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 2015. Deskripsi Varietas Unggul Baru Padi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Kementerian Pertanian. Subang.

Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, I.H. Somantri, M.A. Chozin. 2006. Regenerasi tanaman pada kultur antera beberapa aksesori padi *indica* toleran aluminium. J. Agrobiogen 2:30-35.

Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, M.A. Chozin. 2009. Plant regeneration from anther cultures of several genotypes of *indica* rice tolerant to aluminum toxicity. Indonesian J. Agric. 2:1-5.

Dewi, I.S., B.S. Purwoko. 2011. Kultur in-vitro untuk pembentukan tanaman haploid androgenik. hal. 107-158. Dalam G.A Wattimena, N.A. Mattjik, N.M.A. Wiendi, A. Purwito, D. Efendi, B.S. Purwoko, N. Khumaida (Eds.). Bioteknologi untuk Pemuliaan Tanaman. IPB Press.

Egdane, J.A., N.A. Vispo, R. Mohammadi, J. Amas, M.L. Katimbang, J.D. Platten, A. Ismail, G.B. Gregorio. 2007. Phenotyping Protocols for Salinity and Other Problem Soils. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.

Germana, M.A. 2011. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding. Plant Cell Rep. 30:839-857.

Herawati, R., B.S. Purwoko, N. Khumaida, I.S. Dewi, B. Abdullah. 2008. Pembentukan galur haploid ganda padi gogo dengan sifat-sifat tipe baru melalui kultur antera. Bul. Agron. 36:181-187.

Hosseini, S.J., Z.T. Sarvestani, H. Pirdashti. 2012. Analysis of tolerance indices in some rice (*Oryza sativa* L.) genotypes at salt stress condition. Inter. Res. J. App. Basic Sci. 3:1-10.

Kaushal L., S.M. Balachandran, K. Ulaganathan, V. Shenoy. 2014. Effect of culture media on improving anther culture response of rice (*Oryza sativa* L.). Inter. J. Agric. Innov. Res. 3:218-224.

- Khatun, R., S.M.S. Islam, I. Ara, N. Tuteja, M.A. Bari. 2012. Effect of cold pretreatment and different media in improving anther culture response in rice (*Oryza sativa* L.) in Bangladesh. *Indian J. Biotech.* 11:458-463.
- Lapitan, V.C., E.D. Redon, T. Abe, D.S. Brar. 2009. Molecular characterization and agronomic performance of DH lines from the F1 of *indica* and *japonica* cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Res.* 112:222-228.
- Purwoko, B.S., I.S. Dewi, N. Khumaida. 2010. Rice anther culture to obtain doubled-haploids with multiple tolerances. *AsPac J. Mol. Biol. Biotech.* 18:55-57.
- Rad, H.E., F. Aref, M. Rezaei. 2012. Response of rice to different salinity levels during different growth stage. *Res. J. App. Sci. Eng. Tech.* 4:3040-3047.
- Safitri, H., B.S. Purwoko, D. Wirnas, I.S. Dewi, B. Abdullah. 2010. Daya kultur antera beberapa persilangan padi gogo dan padi tipe baru. *J. Agron. Indonesia* 38:81-87.
- Sah, B.P., R.K. Niroula. 2007. Successful regeneration and characterization of anther derived rice hybrid plants from *O. sativa* L. x *O. rufipogon* Griff. *Scientific World* 5:14-18.
- Sankar, P.D., M.A.A.M. Saleh, C.I. Selvaraj. 2011. Rice breeding for salt tolerance. *Res. Biotech.* 2:1-10.
- Senadhira, D., F.J. Zapata-Arias, G.B. Gregorio, M.S. Alejar, H.C. de la Cruz, T.F. Padolina, A.M. Galvez. 2002. Development of first salt-tolerant rice cultivar through *indica/indica* anther culture. *Field Crops Res.* 76:103-110.
- Zhang, Z.H. 1989. The practicability of anther culture breeding in rice. p. 31-42. *In* A. Mujeeb-Kazi, L.A. Stich (Eds.). *Review of Advances in Plant Biotechnology 1985-1988*. International Maize and Wheat Improvement Center/International Rice Research Institute. Philippines.