

Pembentukan Tanaman Cabai Haploid Melalui Induksi Ginogenesis dengan Menggunakan Serbuk Sari yang Diradiasi Sinar Gamma

Obtaining Haploid Hot Pepper Plant by Gynogenesis Induction with Gamma Ray Irradiated Pollen

Suharsono^{1*}, Muhammad Alwi² dan Agus Purwito³

¹ Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Indonesia

² Program Biologi, Jurusan MIPA, FKIP, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

³ Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Indonesia

Diterima 11 Februari 2009/Disetujui 25 Juni 2009

ABSTRACT

The objective of this research was to obtain haploid hot pepper plants by inducing gynogenesis with γ -ray irradiated pollen for pollination. Fruits resulted from pollination by irradiated pollen was used as the explants of the *in vitro* culture in solid MS medium containing BAP, IAA and GA₃. The resulted plants then cultivated in MS₀ medium. The result of the research showed that hot pepper immature embryo could grow and developed into whole plant when the age of this embryo was 9 days after pollination or more. The haploid hot pepper plants can be obtained by pollinating the pistil with 10 Gy irradiated pollen. The MS medium containing BAP 0.3 + IAA 0.2 + GA₃ 0.5 mg/l and BAP 0.4 + IAA 0.1 + GA₃ 0.5 mg/l supported well the development of immature embryo into whole plants. The growth of haploid hot pepper plants was slower than that of diploid ones.

Key words: Hot pepper, haploid plant, gynogenesis, γ -ray.

PENDAHULUAN

Cabai besar (*Capsicum annum* L.) merupakan salah satu komoditas sayuran yang penting bagi Indonesia. Pada saat tertentu, kebutuhan cabai sangat tinggi sehingga produksi nasional tidak mampu memenuhi permintaan yang selalu bertambah dari tahun ke tahun. Ketidakmampuan mencukupi kebutuhan cabai besar disebabkan oleh rendahnya produktivitas dibandingkan dengan produktivitas cabai di China, Thailand, dan India. Pada tahun 2008, luas panen cabai besar di Indonesia adalah 93085 ha dengan total produksi 668970 ton sehingga produktivitasnya adalah 6.44 ton/ha (BPS, 2009). Produktivitas cabai di China pada tahun 2007 mencapai 21.495 ton/ha, dan di Thailand 14.167 ton/ha dan di India 9.273 ton/ha (FAO, 2009).

Salah satu penyebab rendahnya produksi cabai di Indonesia adalah penggunaan benih yang tidak bermutu. Sebagian besar petani cabai di Indonesia menggunakan benih lokal, dan sering kali menggunakan benih yang berasal dari kebun untuk produksi cabai.

Penggunaan benih hibrida merupakan salah satu usaha untuk peningkatan produksi cabai. Perakitan varietas hibrida memerlukan tanaman galur murni atau homozigot yang digunakan sebagai tetua dalam persilangan. Pembentukan galur murni dapat dilakukan

dengan melakukan penyerbukan sendiri yang diikuti dengan seleksi atau melalui pembentukan tanaman haploid yang diikuti dengan penggantian ploidinya.

Penyerbukan sendiri dan seleksi memerlukan 7-8 generasi sehingga banyak memerlukan waktu dan tenaga untuk mendapatkan galur murni, sedangkan perakitan tanaman haploid yang diikuti dengan diploidisasi memerlukan waktu yang relatif singkat. Perakitan tanaman haploid melalui kultur sel gamet sering disebut teknologi haploid. Teknologi haploid menjadi sangat penting, tidak saja untuk pembentukan galur murni tetapi juga untuk pemetaan gen yang sifatnya resesif, perakitan organisme transgenik homozigot, dan perakitan varietas baru melalui persilangan. Oleh sebab itu, teknologi haploid sangat penting bagi perbaikan genetik tanaman.

Tanaman haploid dapat dibentuk melalui kultur mikrospora, seperti pada tembakau (Nitch dan Nitch, 1969; Suharsono, 1993) dan cabai besar (Supena, 2004; Supena *et al.*, 2006a, 2006b). Selain itu, tanaman haploid dapat dibentuk melalui proses ginogenesis baik tanpa maupun dengan induksi dengan memanfaatkan teknik *in vitro*. Mukhambetzhonov (1997) melaporkan bahwa kultur ovarium yang tidak dibuahi pada tanaman *Beta vulgaris* menghasilkan tanaman haploid. Induksi ginogenesis dengan serbuk sari yang diradiasi sinar gamma yang diikuti dengan penyelamatan embrio untuk

^{1*} Penulis untuk korespondensi. E-mail: sony-sh@ipb.ac.id; sony.suharsono@yahoo.com

mendapatkan tanaman haploid sudah diterapkan pada beberapa tanaman, seperti pada *Triticum aestivum* (Bajaj, 1983), petunia (Raquin, 1984), tembakau (Suharsono, 1993; Musial dan Przywara, 1999a), ketimun (*Cucumis sativus*) (Abak dan Caglar, 1999; Claveria *et al.*, 2005), buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) (Musial dan Przywara, 1999b), melon (*C. melo*) (Lotfi *et al.*, 2003) dan jeruk mandarin (Froelicher *et al.*, 2007). Penggunaan serbuk sari yang diradiasi sinar gamma untuk penyerbukan menghasilkan buah pir tanpa biji (Kotobuki *et al.*, 1998). Penyerbukan putik dengan serbuk sari yang diradiasi sinar X menghasilkan semangka (*Citrullus lanatus*) tanpa biji karena embrionya mengalami degenerasi (Sugiyama *et al.*, 2002). Pada cabai besar lokal Indonesia, induksi ginogenesis telah dilakukan, tetapi hanya menghasilkan buah tanpa biji dan kalus haploid yang tumbuh dari calon embrio (Suharsono dan Supena, 1998). Kesulitan dalam induksi ginogenesis dengan serbuk sari yang diradiasi dengan sinar gamma untuk menghasilkan tanaman haploid karena terganggunya perkembangan embrio dan endosperma seperti pada ketimun (Faris dan Niemirowicz-Szczytt, 1999). Selain penyerbukan dengan serbuk sari yang diradiasi, ginogenesis embrio dan regenerasi menjadi tanaman bawang bombay haploid dapat diinduksi oleh kombinasi 2 mM putresin dan 0,1 mM spermidin yang keduanya adalah kelompok poliamin (Martinez *et al.*, 2000).

Keberhasilan dalam induksi ginogenesis melalui kultur *in vitro* untuk menghasilkan tanaman haploid sangat ditentukan oleh beberapa faktor yaitu: stadium perkembangan ginogenesis, genotipe tanaman, komposisi media, serta metode dan kondisi kultur (Mukhambekzhanov, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk membentuk tanaman cabai besar haploid melalui induksi ginogenesis dengan serbuk sari yang telah diradiasi dengan sinar gamma yang diikuti dengan penyelamatan embrio muda secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah cabai besar galur LV-2319 dan LV-2323 koleksi Balai Penelitian Tanaman Sayuran Lembang, Bandung. Tanaman ini ditanam di pot dan diletakkan di rumah kaca Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi IPB, Kampus IPB Darmaga, Bogor. Serbuk sari diambil dari tanaman yang berumur 45 hari setelah tanam (HST). Penelitian ini dilakukan pada 2002.

Radiasi Serbuk Sari dengan Sinar Gamma

Bunga yang baru mekar, dimasukkan ke dalam cawan petri tanpa tutup, kemudian dimasukkan ke dalam tabung alat radiasi IBL 437-C yang memancarkan sinar gamma dari ¹³⁷Cs. Debit radiasi pada saat penelitian adalah 2.72 Gy/menit. Dosis radiasi yang diberikan adalah 10 dan 25 Gy.

Proses Penyerbukan Buatan

Sebelum bunga mekar, bunga diemaskulasi dengan membuang semua benang sari dan mahkota bunganya, kemudian ditutup dengan kertas transparan. Penyerbukan dilakukan dengan melekatkan serbuk sari yang telah diradiasi pada kepala putik pada galur yang sama, kemudian ditutup kembali untuk menghindari kontaminasi dari serbuk sari lain. Sebagai kontrol, penyerbukan dilakukan dengan serbuk sari tanpa radiasi.

Kultur Buah yang Mengandung Embrio Muda

Buah dipetik pada umur 3, 5, 7, 9 dan 11 hari setelah penyerbukan (HSP). Buah dibersihkan dengan akuades, lalu direndam dalam larutan kloroks 15% selama 5 menit, dan dibilas 3 kali dengan akuades steril. Buah dibelah secara membujur menjadi dua, lalu ditanam pada media tumbuh sedemikian rupa sehingga embrio muda berada di bawah dan bersentuhan dengan media. Media tumbuh yang digunakan adalah media dasar Murashige dan Skoog (1962) yang diperkaya dengan kasein hidrolisat (100 mg/l), dan asam askorbat (20 mg/l). Kanamisin ditambahkan dalam media kultur dengan konsentrasi 20 mg/l untuk mencegah kontaminasi oleh bakteri yang terkandung dalam biji.

Zat pengatur tumbuh yang diberikan ke dalam media merupakan kombinasi BAP, IAA dan GA₃ dengan empat macam kombinasi yaitu (dalam mg/l): A= 0.1 BAP + 0.4 IAA + 0.5 GA₃; B= 0.2 BAP + 0.3 IAA + 0.5 GA₃; C= 0.3 BAP + 0.2 IAA + 0.5 GA₃; D= 0.4 BAP + 0.1 IAA + 0.5 GA₃.

Cawan Petri yang mengandung biakan embrio diinkubasikan di dalam ruang kultur yang bersuhu sekitar 25 °C dengan penyinaran 16 jam tiap hari pada intensitas cahaya antara 1000 sampai 2000 lux. Tanaman yang dihasilkan dari kultur embrio kemudian dipindahkan ke dalam media MS₀.

Analisis Sitologi

Untuk mengidentifikasi tingkat ploidi dari tanaman yang dihasilkan, ujung akar tanaman dipotong 3-5 mm. Ujung akar direndam dalam larutan 8-Hydroxyquinolin 0.002 M selama 90 menit dalam lemari pendingin (4 °C), kemudian dibilas dengan akuades steril lalu direndam dalam larutan asam asetat 45% selama 10 menit. Ujung akar kemudian direndam dalam campuran larutan HCl 1N dan asam asetat 45% (3:1) selama 2

menit pada suhu 60 °C. Setelah dibilas dengan akuades, ujung akar diwarnai dengan aceto-orcein 2%. Ujung akar kemudian diletakkan di atas gelas preparat, lalu ditutup dengan gelas penutup. Gelas penutup ditekan dengan ujung jari agar rapat, lalu diketuk dengan ujung pensil yang berkaret mengikuti prosedur Darnaedi (1991). Pengamatan jumlah kromosom dilakukan di bawah mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyelamatan Embrio Muda

Tanaman dihasilkan dari embrio yang berumur 9 dan 11 hari setelah penyerbukan (HSP) dengan serbuk

sari normal. Embrio mulai tumbuh menjadi tunas pada minggu ke-5 setelah ditanam pada media tumbuh. Tidak satupun tanaman dihasilkan dari embrio yang berumur kurang dari 9 hari setelah penyerbukan (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa pada umur kurang dari 9 hari, embrio terlalu muda yang belum mempunyai cadangan makanan yang cukup sehingga membutuhkan berbagai senyawa dari media buatan. Media buatan MS belum mampu menyediakan semua bahan yang dibutuhkan oleh embrio muda walaupun sudah ditambahkan didalamnya kasein hidrolisat, asam askorbat dan zat pengatur tumbuh seperti BAP, IAA dan GA₃.

Tabel 1. Pengaruh radiasi pada serbuk sari yang digunakan untuk penyerbukan terhadap pembentukan tanaman melalui kultur buah/embrio muda

Umur buah HSP	Jumlah eksplan yang ditanam	Jumlah eksplan yang menghasilkan tanaman					
		LV-2319			LV-2323		
		0 Gy	10 Gy	25 Gy	0 Gy	10 Gy	25 Gy
3	36	0	0	0	0	0	0
5	36	0	0	0	0	0	0
7	36	0	0	0	0	0	0
9	36	6 (16.67%)	0	0	6 (16.67%)	0	0
11	36	6 (16.67%)	2 (5.56%)	0	10 (27.78%)	5 (13.89%)	0

Pada umur 9 HSP, hanya 16.67% eksplan yang menghasilkan tanaman. Untuk setiap eksplan yang menghasilkan tanaman, hanya terdapat satu tanaman yang dapat tumbuh dan berkembang. Ini menunjukkan bahwa umur 9 HSP merupakan umur termuda untuk dapat berkembang menjadi tanaman di media buatan menurut Suharsono (1993), pada tembakau, 60% kapsul yang mengandung embrio berumur 9 HSP, yang ditanam di media MS dapat menghasilkan tanaman.

Perlakuan radiasi pada serbuk sari yang digunakan untuk penyerbukan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan embrio. Ini ditunjukkan oleh tiadanya tanaman yang dihasilkan dari biji hasil penyerbukan dengan serbuk sari yang diradiasi baik dengan dosis 10 maupun 25 Gy yang berumur 9 hsp. Pada dosis 10 Gy, tanaman dapat dihasilkan dari buah yang berumur 11 HSP. Jumlah eksplan yang menghasilkan tanaman hanya 5.56% pada galur LV-2319 dan 13.89% pada galur LV-2323. Tidak ada tanaman yang dihasilkan dari biji yang terbentuk dari penyerbukan dengan serbuk sari yang telah diradiasi dengan 25 Gy (Tabel 1). Pada tanaman petunia dan tembakau, biji hasil penyerbukan dengan serbuksari yang diradiasi dengan dosis 600-2000 Gy dapat tumbuh di media menjadi tanaman haploid

(Raquin, 1984; Suharsono, 1993). Seperti hasil penelitian pada tembakau (Suharsono, 1993), pada penelitian ini umur biji yang baik untuk penyelamatan embrio adalah antara 9 dan 11 HSP.

Rendahnya jumlah eksplan yang menghasilkan tanaman dan jumlah tanaman tiap eksplan dapat disebabkan oleh halangan fisik daging buah yang menghambat persentuhan fisik antara embrio muda dan media tumbuh. Persentuhan langsung antara embrio pada media tumbuh sangat berperan dalam keberhasilan embrio untuk tumbuh menjadi tanaman. Pada cabai, penanaman embrio muda langsung ke media tumbuh sangat sulit dilakukan karena ukurannya yang sangat kecil dan mudah rusak. Pada penelitian ini, pembelahan buah cabai untuk dijadikan sebagai eksplan dan cara peletakkannya di media tumbuh dengan posisi tertelungkup dimaksudkan untuk membuat persentuhan antara biji muda dengan media tumbuh. Pada tembakau, adanya dinding kapsul menghambat terbentuknya tanaman dari kultur embrio muda secara in vitro (Suharsono, 1993).

Keempat macam media tumbuh dapat digunakan untuk menumbuhkan embrio muda cabai normal yang terbentuk dari penyerbukan dengan serbuk sari tanpa

radiasi. Media A (MS + BAP 0.1 + IAA 0.4 + GA₃ 0.5) dan B (MS + BAP 0.2 + IAA 0.3 + GA₃ 0.5) tidak mendukung pertumbuhan embrio muda dari buah hasil penyerbukan dengan menggunakan serbuk sari yang diradiasi. Hal ini ditunjukkan oleh tidak satupun tanaman dihasilkan dari media ini. Media C (MS + BAP 0.3 + IAA 0.2 + GA₃ 0.5) dan D (MS + BAP 0.4 + IAA 0.1 + GA₃ 0.5) sangat cocok untuk mendukung pertumbuhan embrio muda, baik embrio yang berasal dari penyerbukan dengan serbuk sari yang tidak diradiasi maupun dengan serbuk sari yang diradiasi 10 Gy (Tabel 2). Hal ini ditunjukkan oleh munculnya tanaman dari beberapa eksplan pada media C (22.22%) dan media D (27.78%) yang lebih tinggi dibanding

media A (11.11%) dan B (2.78%). Perbedaan keempat media tersebut terletak pada konsentrasi BAP dan IAA yang diberikan. Media D yang menghasilkan tanaman paling banyak mengandung BAP paling tinggi dan IAA paling rendah. Hal ini menunjukkan bahwa media yang mengandung konsentrasi BAP tinggi dengan IAA yang rendah lebih baik dari pada yang mengandung BAP rendah dan IAA tinggi untuk penyelamatan embrio muda. Christopher dan Rajam (1994) menyatakan bahwa kombinasi antara BAP dan IAA berpengaruh terhadap pertumbuhan awal embrio. Dengan konsentrasi BAP yang tinggi dan IAA yang rendah cocok untuk penginduksian akar dan pemanjangan tunas.

Tabel 2. Pengaruh media tumbuh terhadap jumlah eksplan umur 11 hari setelah penyerbukan (hsp) yang menghasilkan tanaman

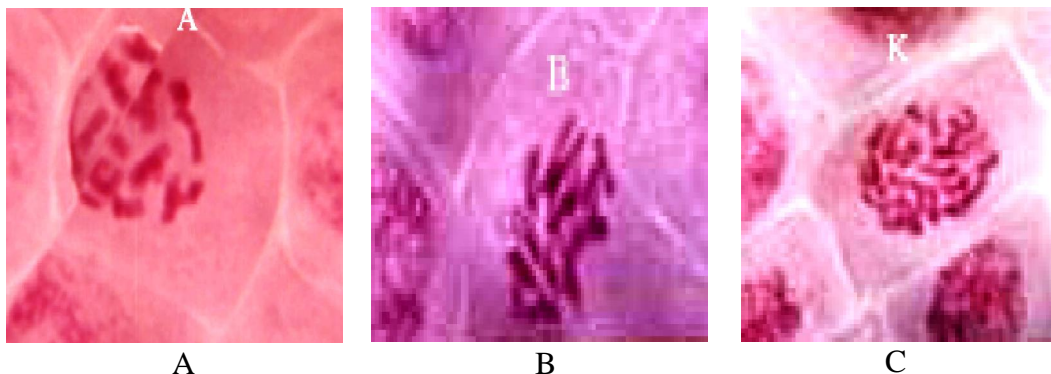
Media	Dosis (Gy)	Jumlah eksplan umur 11 hsp	Jumlah eksplan yang menghasilkan tanaman		
			LV-2319	LV-2323	Total
A	0	9	1	3	4
	10	9	0	0	0
					4 (11.11%)
B	0	9	0	1	1
	10	9	0	0	0
					1 (2.78%)
C	0	9	2	3	5
	10	9	1	2	3
					8 (22.22%)
D	0	9	3	3	6
	10	9	1	3	4
					10 (27.78%)

Analisis Sitologi

Analisis sitologi dilakukan terhadap tanaman yang berasal dari embrio muda yang berasal dari buah hasil penyerbukan dengan serbuk sari normal dan yang diradiasi 10 Gy. Embrio yang berasal dari buah hasil penyerbukan serbuk sari yang diradiasi 25 Gy tidak tumbuh.

Analisis sitologi dilakukan terhadap akar tanaman yang berumur 8 minggu setelah penyelamatan embrio dengan metode *squash*. Tanaman dari embrio yang dihasilkan dari penyerbukan dengan menggunakan

serbuk sari yang diradiasi dengan dosis 10 Gy mempunyai 12 kromosom, sedangkan tanaman dari biji hasil penyerbukan oleh serbuk sari tanpa radiasi dan dari biji normal (hasil penyerbukan alami) mempunyai 24 kromosom (Gambar 1). Tanaman cabai diploid mempunyai 24 kromosom sedangkan cabai haploid mempunyai 12 kromosom. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk sari yang diradiasi dengan dosis 10 Gy dapat menginduksi perkembangan sel telur untuk menjadi tanaman haploid pada tanaman cabai merah besar galur LV-2319 dan LV-2323.



Gambar 1. Kromosom tanaman cabai merah besar hasil kultur biji yang berasal dari penyerbukan dengan serbuk sari yang diradiasi dengan 10 Gy pada galur LV-2323 (A), dan galur LV-2319 (B), dan serbuk sari normal pada galur LV-2323 (C). A dan B mempunyai jumlah kromosom $n = x = 12$, C mempunyai jumlah kromosom $2n = 2x = 24$.

Radiasi pada serbuk sari cabai dapat menyebabkan kerusakan DNA kromosom serbuk sari, sehingga embrio yang dihasilkan dari proses penyerbukan oleh serbuk sari yang diradiasi hanya mengandung kromosom dari sel telur. Pada saat zigot, kromosom dari serbuk sari yang telah diradiasi dapat bergabung dengan kromosom dari sel telur. Namun selama perkembangan zigot menjadi embrio kromosom yang rusak dari serbuk sari dapat hilang selama proses mitosis. Semakin besar dosis radiasi yang diberikan pada serbuk sari, maka semakin rusak kromosom serbuk sari tersebut. Rusaknya kromosom dari serbuk sari menyebabkan biji yang terbentuk tidak mengandung endosperma. Serbuk sari yang dirusak kromosomnya dengan radiasi telah banyak digunakan untuk menginduksi terjadinya partenokarpi atau proses ginogenesis seperti pada tanaman petunia (Raquin, 1984), tembakau (Suharsono 1993) dan semangka (Sugiyama dan Morishita 1998). Selain itu, Muzial dan Przywara (1999a) melaporkan bahwa radiasi 500 Gy pada serbuk sari tembakau yang

digunakan untuk penyerbukan menyebabkan menurunnya jumlah sel endosperma pada biji yang terbentuk.

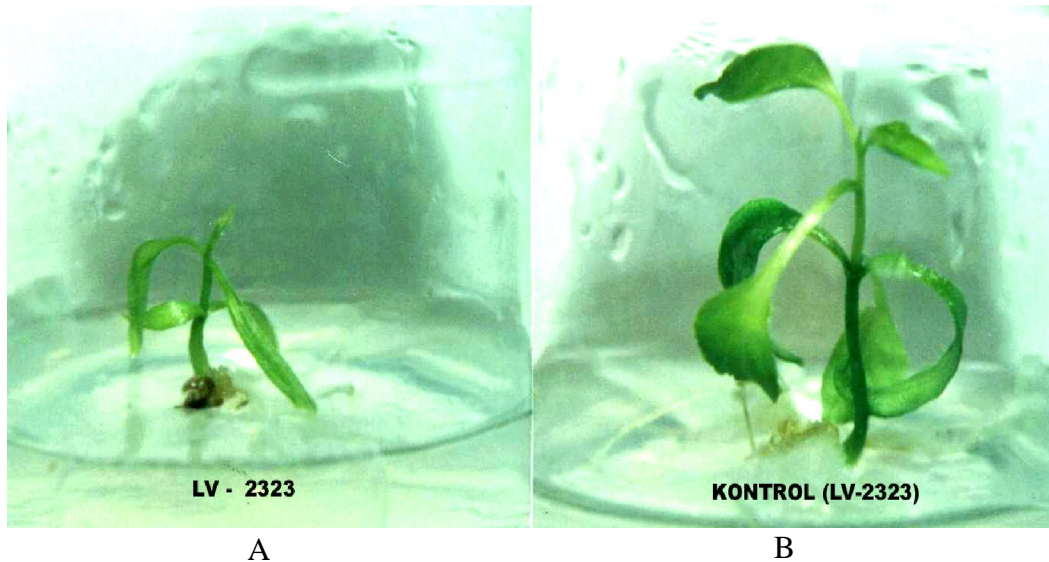
Pertumbuhan Tanaman

Tanaman yang dihasilkan dari kultur embrio muda di dalam media asal MS yang mengandung berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh, dipindahkan ke media MS₀ untuk mengetahui pertumbuhan dan ukuran tanaman. Tanaman yang dihasilkan dari biji hasil penyerbukan dengan serbuk sari yang diradiasi mempunyai pertumbuhan dan ukuran yang lebih kecil daripada tanaman yang dihasilkan dari penyerbukan dengan serbuk sari normal baik pada umur 4 minggu setelah tanam (MST) maupun pada 8 MST (Tabel 3 dan Gambar 2). Dari analisis sitologi, tanaman yang tumbuhnya lambat dan berukuran kecil adalah tanaman haploid. Analisis pertumbuhan ini mendukung hasil analisis sitologi.

Tabel 3. Pengaruh radiasi pada serbuk sari yang digunakan untuk penyerbukan terhadap jumlah daun dan akar dari tanaman yang dihasilkan, yang ditanam dalam medium MS₀

Asal tanaman		Jumlah daun				Jumlah akar			
		LV-2319		LV-2323		LV-2319		LV-2323	
		Umur (MST)	Umur (MST)	Umur (MST)	Umur (MST)	Umur (MST)	Umur (MST)	Umur (MST)	Umur (MST)
Media asal A	0 Gy	2	5	2	5	4	8	6	9
	10 Gy	¹⁾ td	td	td	td	td	td	td	td
Media asal B	0 Gy	td	td	3	6	td	td	5	9
	10 Gy	td	td	td	td	td	td	td	td
Media asal C	0 Gy	4	6	2	5	5	8	5	8
	10 Gy	td	td	1.00	3.00	td	td	2.67	4.67
Media asal D	0 Gy	6	8	5	8	2	4	3	5
	10 Gy	2.33	5.33	3.33	5.33	1.67	3.33	2.33	4

¹⁾td = tidak diidentifikasi



Gambar 2. Tanaman cabai merah besar LV-2323 yang berumur 2 bulan di media MS₀. A= tanaman haploid hasil induksi ginogenesis, B= tanaman diploid dari biji normal.

Setiap jenis tanaman memerlukan dosis radiasi yang berbeda yang diberikan pada serbuk sari untuk menginduksi terbentuknya embrio haploid. Pada tanaman petunia, pemberian dosis 300 Gy belum dapat menjamin terbentuknya tanaman haploid, sehingga diperlukan dosis 450 Gy untuk mendapatkan semua tanaman haploid (Raquin, 1984). Pada tembakau, dosis 600 Gy dapat menjamin terbentuknya tanaman haploid (Suharsono, 1993). Pada semangka, dosis 800 Gy menyebabkan buah yang terbentuk berbiji kecil dan jumlah serta ukurannya berbeda dengan kontrol (Sugiyama dan Morishita, 1998). Namun pada pir Jepang kultivar Hosui hanya diradiasi 20 Gy dapat menghasilkan jumlah buah dan biji yang rendah dibandingkan yang tidak diradiasi. Demikian pula kultivar Gold Nijisseki menghasilkan jumlah buah yang sedikit pada pemberian dosis 20 Gy bila dibanding dengan kontrolnya (Kotobuki *et al.*, 1998).

KESIMPULAN

Embrio cabai merah besar dapat diselamatkan secara *in vitro* untuk membentuk tanaman mulai umur 9 hari setelah penyerbukan. Radiasi 10 Gy terhadap serbuk sari dapat digunakan untuk menginduksi ginogenesis sehingga membentuk tanaman haploid. Media yang mengandung BAP tinggi dan IAA rendah dapat digunakan sebagai media untuk penyelamatan embrio muda hasil penyerbukan dengan serbuk sari yang diradiasi sehingga menghasilkan tanaman haploid. Tanaman haploid mempunyai pertumbuhan lebih lambat dan berukuran lebih kecil daripada tanaman diploid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Ditjen Dikti, Depdiknas yang telah membiayai penelitian ini melalui Dana Pendamping dari Proyek Kerjasama Penelitian Bioteknologi Indonesia-Belanda (BIORIN= *Biotechnology Research Indonesia-The Netherlands*). MA dibiayai oleh Beasiswa BPPS, Ditjen Dikti, Depdiknas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abak, K., G. Caglar 1999. In situ haploid embryo induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.) after pollination by irradiated pollen. *Agric. Forestry* 23(1):63-72.
- Bajaj, Y.P.S. 1983. In vitro production of haploid. p. 230–287. In D.A. Evas, W.R. Sharp, P.V. Amirato, Y. Yamada (eds). *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol. 1. New York: Macmillan Publishing Co.
- BPS. 2009. Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Cabai 2008. http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?tabel=1&daftar=1&id_subyek=55¬a_b=7.
- Christopher, T., M.V. Rajam. 1994. In vitro clonal propagation of *Capsicum spp.* *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 38:25-29.
- Claveria, E., J. Garcia-Mas, R. Dolcet-Sanjuan. 2005. Optimization of cucumber doubled haploid line production using in vitro rescue of in vivo induced

- parthenogenic embryos. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 130:487-653.
- Darnaedi, D. 1991. Informasi tentang kromosom. Disajikan pada Pelatihan Sitogenetika Tumbuhan, PAU Ilmu Hayat IPB. 05 Nopember – 05 Desember 1991. IPB Bogor.
- FAO. 2009. Faostat. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- Faris, N.M., K. Niemirowicz-Szczytt. 1999. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) embryo development in situ after pollination with irradiated pollen. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 41:111-118.
- Froelicher, Y., J-B. Bassene, E. Jedidi-Neji, D. Dambier, R. Morillon, G. Bernardini, G. Costantino, P. Ollitrault. 2007. Induced parthenogenesis in mandarin for haploid production: induction procedures and genetic analysis of plantlets. Plant Cell Rep 26:937-944.
- Kotobuki, K, T. Yoshioka, T. Masuda, T. Terai. 1998. Fruit and seed set of Japanese pear by pollination with gamma irradiated mature pollen. J. Japan Soc. Hort. Sci. 67 Suppl. 1:86.
- Lotfi, M., A.R. Alan, M.J. Henning, M.M. Jahn, E.D. Earle. 2003. Production of haploid and doubled haploid plants of melon (*Cucumis melo* L) for use in breeding for multiple virus resistance. Plant Cell Rep. 21(11):1121-8.
- Martinez, L.E., C.B. Agüero, M.E. Lopez, C.R. Galmarini. 2000. Improvement of in vitro gynogenesis induction in onion (*Allium cepa* L.) using polyamines. Plant Sci. 156 (2):221-226.
- Mukhambetzhanov, S.K. 1997. Culture of nonfertilized female gametophytes in vitro. Plant Cell Tissue Organ Cult. 48:111-119.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-455.
- Musial, K., L. Przywara. 1999a. Pollination with heavily irradiated pollen in *Nicotiana*: Induced parthenogenesis and embryological study. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 41:127-137.
- Musial, K., L. Przywara. 1999b. Endosperm response to pollen irradiation in kiwifruit. Sexual Plant Reproduction 12 (2):110-117.
- Nitsch J.P., C. Nitsch. 1969. Haploid plants from pollen grains. Science 163:85-87.
- Raquin, C. 1984. Etude de l'androgenese chez *Petunia hybrida* (Hort) et recherche des conditions d'obtention de plantes haploides. These de doctorat, Universite de Paris-Sud, Centre d'Orsay, France.
- Sugiyama, K., M. Morishita, E. Nishino. 2002. Seedless watermelons produced via soft-X-irradiated pollen. HortScience 37:251-419.
- Suharsono. 1993. Effet du gene mitochondrial *atp9* non-edite sur la fertilité, chez des plantes transgeniques de *Nicotiana tabacum*. These de doctorat, Universite de Bordeaux II, France.
- Suharsono, S., E.D.J. Supena. 1998. Induction of ginogenesis and androgenesis in hot pepper plant (*Capsicum annum* L.) using gamma irradiation. Japan Soc. Hort. Sci. 67 (Suppl):127.
- Supena, E.D.J. 2004. Innovations in microspore embryogenesis in Indonesian hot pepper (*Capsicum annum* L.) and *Brassica napus* L. PhD Thesis. Wageningen University, The Netherlands.
- Supena, E.D.J., Muswita, S. Suharsono, J.B.M. Custers. 2006a. Evaluation of crucial factors for implementing shed-microspore culture of Indonesian hot pepper (*Capsicum annum* L.) cultivars. Scientia Horticulturae 107:226-232.
- Supena, E.D.J., S. Suharsono, E. Jacobsen, J.B.M. Custers. 2006b. Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in Indonesian hot pepper (*Capsicum annum* L.) cultivars. Plant Cell Rep. 25:1-10.