



**PENGARUH BEBERAPA SUMBER KARBON TERHADAP
PEMBENTUKAN KALUS PADA KULTUR ANTERA
DUA VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.)**

SKRIPSI

Oleh

Masfuhatul Ulya

NIM. 111510501026

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**PENGARUH BEBERAPA SUMBER KARBON TERHADAP
PEMBENTUKAN KALUS PADA KULTUR ANTERA
DUA VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan
mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh

Masfuhatul Ulya

NIM. 111510501026

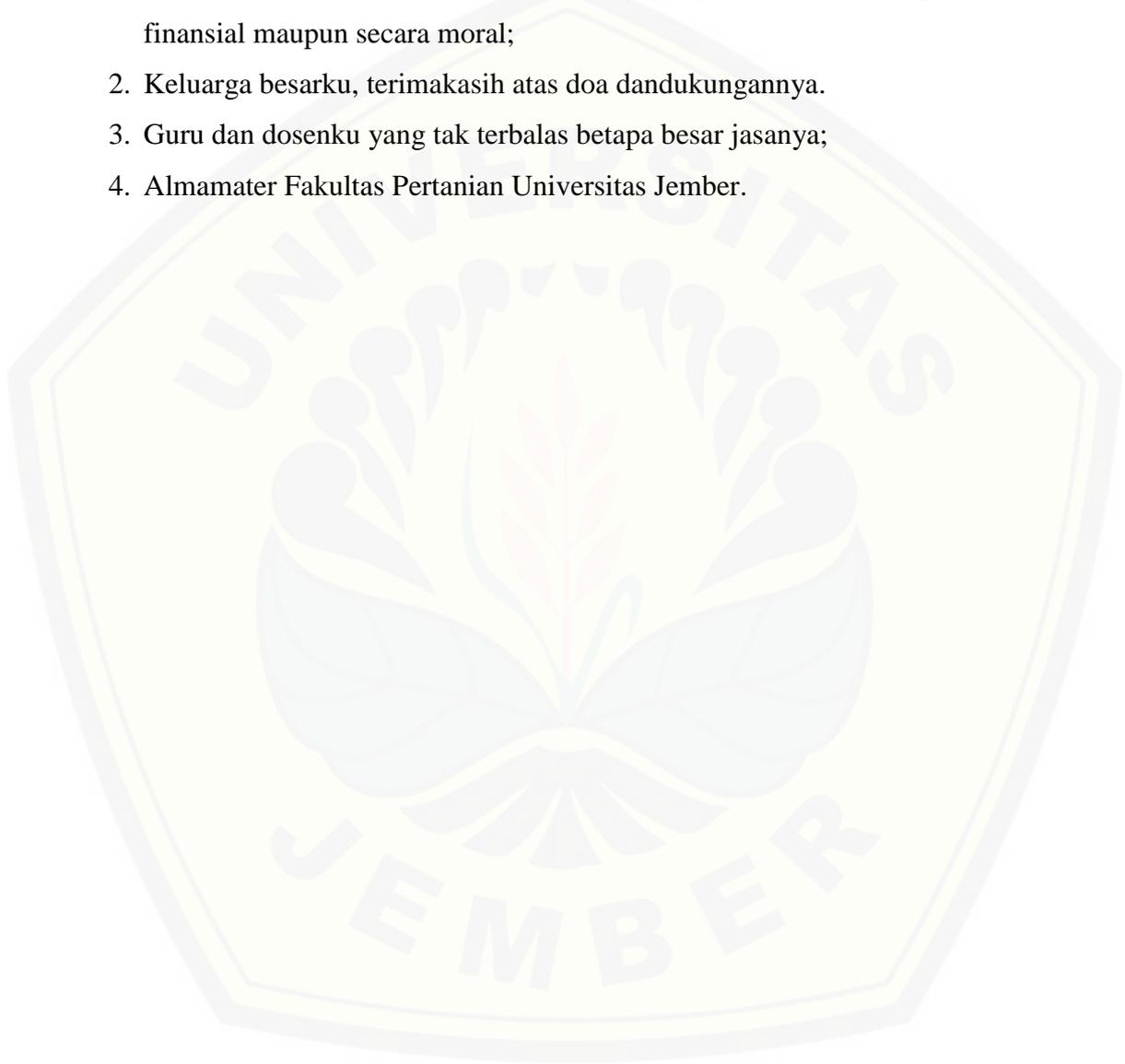
**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kedua orang tua saya, alm. Bapak Mohammad Syaheri dan juga Ibu Almutakili serta alm. Kakek Sabuwang yang telah mendukung saya secara finansial maupun secara moral;
2. Keluarga besarku, terimakasih atas doa dandukungannya.
3. Guru dan dosenku yang tak terbalas betapa besar jasanya;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.



MOTTO

“Bukankah Kami telah melapangkan untukmu dadamu? Dan Kami telah menghilangkan dari padamu bebanmu. Yang memberatkan punggungmu? Dan Kami tinggikan bagimu sebutan (nama)mu. Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.”

(QS. Al- Insyirah:1-8)

“Carilah ilmu dan harta supaya kamu bisa memimpin, ilmu memudahkanmu memimpin orang-orang yang diatas, sedangkan harta akan memudahkanmu memimpin orang yang di bawah (masyarakat umum).”

(Ali bin Abi Thalib)

“Jangan menjelaskan tentang dirimu kepada siapapun karena yang menyukai tidak butuh itu dan yang membenci tidak percaya itu.”

(Ali bin Abi Thalib)

“Aku tidak sebaik yang kau ucapkan, tapi aku juga tidak seburuk apa yang terlintas dihatimu.”

(Ali bin Abi Thalib)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Masfuhatul Ulya

NIM : 111510501026

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Beberapa Sumber Karbon Terhadap Pembentukan Kalus Pada Kultur Antera Dua Varietas Padi (*Oryza sativa* L.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 16 Maret 2016

Yang menyatakan,

Masfuhatul Ulya
NIM 111510501026

SKRIPSI

**PENGARUH BEBERAPA SUMBER KARBON TERHADAP
PEMBENTUKAN KALUS PADA KULTUR ANTERA
DUA VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.)**

Oleh

Masfuhatul Ulya

NIM 111510501026

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Slameto, MP
NIP : 196002231987021001

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D
NIP : 196504261994031001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pengaruh Beberapa Sumber Karbon Terhadap Pembentukan Kalus Pada Kultur Antera Dua Varietas Padi (*Oryza sativa* L.)**” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Rabu, 16 Maret 2016

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr.Ir.Slameto, MP
NIP. 196002231987021001

Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D
NIP. 196504261994031001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Dr. Ir. Miswar. M.Si
NIP. 196410191990021002

Halimatus Sa'diyah, S.Si., M.Si
NIP. 197908042005012003

**Mengesahkan
Dekan,**

Dr. Ir. Jani Januar, M.T.
NIP 19590102 198803 1002

RINGKASAN

Pengaruh Beberapa Sumber Karbon Terhadap Pembentukan Kalus Pada Kultur Antera Dua Varietas Padi (*Oryza sativa* L.); Masfuhatul Ulya, 111510501026; 2015; 45halaman; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman pangan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat sehingga diperlukan peningkatan produksi. Salah satu faktor untuk peningkatan produksi padi adalah dengan menggunakan varietas unggul padi. Perakitan varietas unggul padi telah banyak dikembangkan oleh para pemuliaan tanaman dengan cara konvensional seperti *pedigree*. Perakitan varietas unggul selain dengan menggunakan pemulia tanaman secara konvensional, saat ini telah banyak dilakukan perbanyakan tanaman secara inkonvensional menggunakan bioteknologi. Salah satu bioteknologi yang digunakan untuk mendapatkan varietas unggul padi adalah kultur antera. Kultur antera adalah salah satu cara perbanyakan tanaman secara *in vitro* untuk mendapatkan tanaman haploid. Antera yang membentuk kalus merupakan awal proses untuk mendapatkan tanaman haploid.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui varietas dan sumber karbon yang paling baik dalam pembentukan kalus dari kultur antera padi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Maret 2015 sampai November 2015. Penelitian ini menggunakan analisis data deskriptif. Penelitian ini menggunakan 2 faktor yaitu sumber karbon dan varietas padi dengan 5 kali ulangan. Sumber karbon yang digunakan yaitu glukosa 20 g/L, sukrosa 20 g/L dan maltosa 20 g/L sedangkan dua varietas yang digunakan adalah varietas padi Ciherang dan varietas padi IR64. Variabel yang digunakan dalam penelitian yaitu awal terbentuknya kalus yang dihitung pada awal antera mampu membentuk kalus, berat segar kalus ditimbang pada akhir pengamatan, persentase kalus dihitung diakhir pengamatan, tekstur dan warna kalus dilihat pada akhir pengamatan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua unit percobaan mampu membentuk kalus. Hasil data menunjukkan dari 18 unit percobaan ternyata hanya 12 unit percobaan yang mampu membentuk kalus. Sedangkan 6 unit percobaan antera yang diinokulasi tidak memberikan respon terhadap pembentukan kalus. Hal ini karena antera padi yang diinokulasi banyak mengalami pencoklatan sehingga daya tumbuhnya menjadi rendah dan bahkan eksplan tersebut telah mati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan yang paling baik adalah antera padi varietas Ciherang dengan sumber karbon 20 g/L ditunjukkan dengan variabel persentase kalus tertinggi dengan persentase 4,90%; berat segar kalus tertinggi dengan nilai 0,20 gram; awal tumbuh kalus yaitu 60 hari setelah tanam; tekstur kalus remah dan warna kalus putih kekuningan.

Kata kunci : Kalus, antera, sumber karbon, varietas, padi (*Oryza sativa* L.)

SUMMARY

The Effect of Some Carbon Sources toward The Establishment of Callus on Anther Culture of Two Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties; Masfuhatul Ulya, 111510501026; 2016: 45 pages; Study Program Agrotechnology, Faculty of Agriculture, University of Jember.

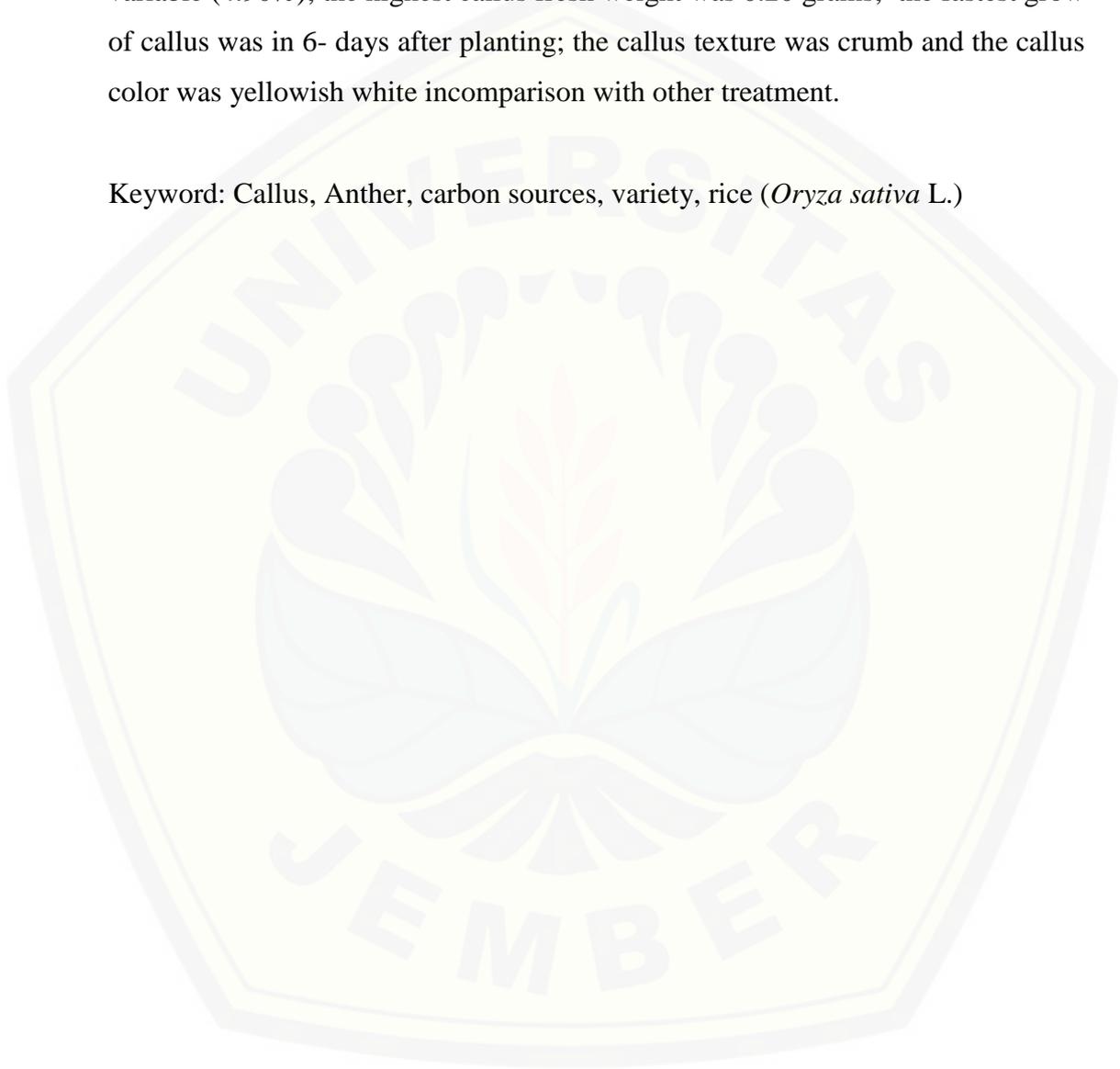
Rice (*Oryza Sativa* L.) is one crop that consumed by many people. The number of people increases the demand of rice as well, but it does not offset the increased of rice production. The use of rice superior varieties is one factor that can increase rice production. Superior variety is one of the main components to increase crop yield and countermeasure of production constraints. Assembling rice superior varieties have widely developed by plant breeder with conventional method. In addition to conventional plant breeding, a lot of unconventional propagation has been done using biotechnology. One of the biotechnology used to obtain rice superior varieties is anther culture. Anther culture is one of plant propagation method to obtain haploid plants. Anther form a callus is early process to obtain haploid plants.

This research are conducted to find out the carbon source and the best variety on rice anther callus. The research was conducted at Tissue Culture Laboratory, Agronomy Department, Faculty of Agriculture, University of Jember from March, 2015 to November, 2015. This research used descriptive data analysis with two factors and three replication. The first factor is source of carbon which consist of 2 levels 20g/L of glucose, 20 g/L of sucrose and 20g/l of maltose. The second factor is a rice variety which consists of two levels of rice Ciherang and IR64. Variables used in this study of the was percentage at the beginning of anther capable to form a callus, callus fresh weight which was calculated at the end of the observation, the percentage of callus was calculated at the end of the observation, texture and callus color was seen at the end of the observation.

The result showed that not all of the experimental units capable to form callus. Results from the data showed from 18 experimental units, it were 12 experimental units that are capable to form callus. While 6 units inoculated anther

culture experiments did not provide a response to the formation of callus. This is because inoculated anther experiencing the browning so that the callus growth was low and even dead. The result showed that Ciherang anther sources which had carbon 20 g/L indicated with the highest percentage of callus percentage variable (4.90%); the highest callus fresh weight was 0.20 grams; the fastest grow of callus was in 6- days after planting; the callus texture was crumb and the callus color was yellowish white incomparison with other treatment.

Keyword: Callus, Anther, carbon sources, variety, rice (*Oryza sativa* L.)



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, serta hidayah-Nya. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW yang telah menuntun kita pada jalan yang benar. Penulis bersyukur atas terselesaikan dan tersusunnya skripsi yang berjudul “Pengaruh Beberapa Sumber Karbon Terhadap Pembentukan Kalus Pada Kultur Antera Dua Varietas Padi (*Oryza sativa* L.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan sarjana (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Jani Januar, M.T., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D, DIC., selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember;
3. Ir. Raden Soedrajad, M.T., selaku Ketua Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember;
4. Dr. Ir. Slameto, MP., selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota, Dr.Ir.Miswar, M.Si., selaku Dosen Penguji Utama, Halimatus Sa'diyah, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. Ir. Slameto, MP., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Teknisi Laboratorium bapak Budi Kriswanto, SP. yang telah memberikan perhatian dan bantuan kepada saya selama melaksanakan penelitian di Laboratorium Kultur Jaringan;
7. Orangtuaku tercinta, Almarhum Ayahanda Mohammad Syaheri., Ibunda Almutakili, Almarhum Kakek Sabuwang, Nenek Munati, Kakek Hamzah,

Nenek Rahma, Mbak Nurhasiah, Adik Nurfajriah dan Mas Agus Salam yang tak henti-hentinya memberikan dorongan, semangat, serta do'a demi terselesaikannya skripsi ini;

8. Anggita Permata, Khalimatus Solikhah, Fitria Anggriani Lestari, M. David Hermawan, Dodik Surya Pratama sebagai rekan kerja dalam penelitian ini yang selalu membantu dan memberikan semangat;
9. Teman-teman tim Laboratorium Kultur Jaringan Mbak Fitri, Mbak Nely, Putri, Zayyan, Vidda, Pretty, Ayu, Yufika, Hiqma, Deni, Azalia, Devina, Mbak Rani, Rahma, Andre, Awwaliyah, Haris dan Jerry yang tak pernah bosan untuk saling menyemangati.
10. Nur Fatjria Susilowati dan Trias Alfiliatiningsih, adikku kosku yang telah ikut mendukung dan menyemangati.
11. Teman-teman Agroteknologi kelas A 2011 yang selalu rajin untuk saling mengingatkan dan menyemangati.
12. Teman-teman seangkatan 2011 Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah banyak membantu penulis selama studi.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang memberikan bantuan dan dorongan selama mengikuti studi dan penulisan skripsi ini.

Penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga diharapkan adanya saran dan kritik untuk perbaikan selanjutnya. Harapan penulis semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca sebagai sumber informasi.

Jember, 16 Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Padi (<i>Oryza sativa</i> L.)	5
2.2 Kultur Antera.....	10
2.3 Sumber Karbohidrat.....	12
2.4 Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Induksi Kalus Antera	14
2.5 Pengaruh Varietas Terhadap Induksi Kalus Antera.....	16
2.7 Hipotesis	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Tempat dan Waktu Percobaan	18

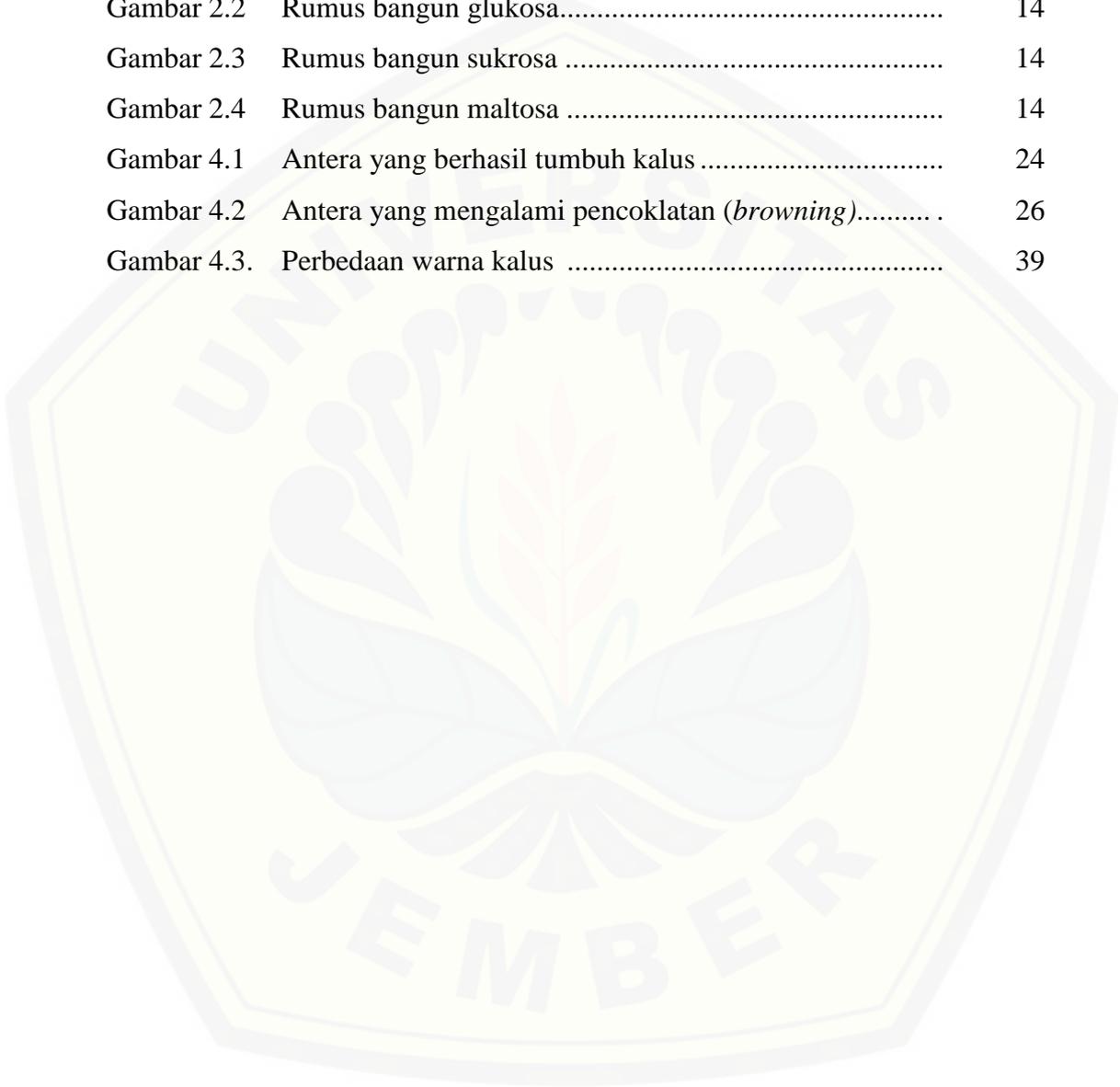
3.2 Bahan dan Alat Percobaan	18
3.3 Metode Percobaan.....	18
3.4 Pelaksanaan Percobaan	19
3.5 Variabel Percobaan	21
3.6 Metode Analisis Data.....	23
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Pembahasan.....	32
4.2.1 Persentase Tumbuh Kalus	32
4.2.2 Berat Segar Kalus	33
4.2.3 Awal Tumbuh Kalus	34
4.2.4 Tekstur Kalus	36
4.2.5 Warna Kalus	37
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Fase utama pertumbuhan tanaman padi dan lama tiap fase	6
Tabel 2.2 Perbandingan sifat padi varietas IR64 dengan varietas padi Ciherang.....	10
Tabel 2.3 Perbandingan waktu pemuliaan antara sistem <i>pedigree</i> dan kultur antera	11
Tabel 3.1 Komposisi media MS	20
Tabel 4.1 Pengaruh sumber karbohidrat dan varietas padi terhadap persentase kalus antera padi selama 70 hst.....	27
Tabel 4.2 Pengaruh sumber karbohidrat dan varietas padi terhadap berat segar kalus antera padi selama 70 hst.....	28
Tabel 4.3 Pengaruh sumber karbohidrat dan varietas padi terhadap waktu terbentuknya kalus antera padi selama 70 hst	29
Tabel 4.4 Pengaruh sumber karbohidrat dan varietas padi terhadap tekstur kalus antera padi selama 70 hst.....	30
Tabel 4.5 Pengaruh sumber karbohidrat dan varietas padi terhadap warna kalus antera padi selama 70 hst.....	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bagian-bagian bunga padi.....	9
Gambar 2.2 Rumus bangun glukosa.....	14
Gambar 2.3 Rumus bangun sukrosa	14
Gambar 2.4 Rumus bangun maltosa	14
Gambar 4.1 Antera yang berhasil tumbuh kalus	24
Gambar 4.2 Antera yang mengalami pencoklatan (<i>browning</i>).....	26
Gambar 4.3. Perbedaan warna kalus	39



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Dokumentasi penelitian	44



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman pangan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Jumlah masyarakat yang meningkat menyebabkan nasi sebagai makan pokok sehari-hari mengalami peningkatan sehingga kebutuhan beras menjadi meningkat pula. Jumlah kebutuhan beras yang meningkat tidak diimbangi dengan produksi padi yang meningkat. Penggunaan varietas unggul padi merupakan salah satu faktor yang dapat meningkatkan produksi padi.

Varietas unggul merupakan salah satu komponen utama untuk peningkatan hasil tanaman maupun penanggulangan kendala produksi. Perakitan varietas unggul padi telah banyak dikembangkan oleh para pemuliaan tanaman dengan cara konvensional seperti *pedigree* memerlukan waktu 7-10 tahun (Fehr, 1987). Selain menggunakan pemuliaan tanaman secara konvensional, saat ini telah banyak dilakukan perbanyakan tanaman secara inkonvensional menggunakan bioteknologi. Bioteknologi dapat dimanfaatkan untuk mendukung program perbaikan genetik tanaman terutama dalam peningkatan efisiensi. Bioteknologi yang telah banyak dilakukan menurut Suwarno *et al.* (2000) yaitu seleksi dengan marka molekuler, kultur antera dan penyelamatan embrio dapat dimanfaatkan untuk mendukung program pemuliaan sehingga menjadi lebih efisien. Salah satu bioteknologi yang digunakan untuk mendapatkan varietas unggul padi adalah kultur antera.

Kultur antera adalah salah satu cara yang dapat digunakan untuk mendapatkan galur dengan tipe tanaman baru (Somantri *et al.*, 2001). Teknik ini akan menghasilkan galur murni dari tanaman haploid yang digandakan atau terjadi penggandaan spontan selama masa kultur. Seleksi karakter dapat dilakukan pada generasi satu atau generasi dua sehingga waktu yang digunakan relatif lebih singkat dibandingkan metode pemuliaan konvensional (Dewiet *et al.*, 1996). Secara *in vitro*, teknik ini dapat dilakukan melalui dua tahap yaitu tahap induksi kalus

dari polen yang terdapat dalam antera dan tahap regenerasi tanaman dari kalus (Sasmita *et al.*, 2002).

Kultur antera sudah lama digunakan untuk perakitan padi subspecies *japonica* dan beberapa varietas sudah dilepas di Cina dan Korea (Dewi dan Bambang, 2001). Kendala utama dalam penggunaan kultur antera untuk pemuliaan padi di Indonesia adalah karena tetua yang digunakan dalam pemuliaan padi didominasi oleh padi subspecies *indica*. Hal ini karena polen padi subspecies *indica* secara alami mengandung prekursor etilen yang akan menyebabkan penuaan pada antera. Dewi dan Bambang (2012) menyatakan bahwa antera subspecies *indica* cepat mengalami penuaan sehingga antera mengalami kematian yang tinggi sebelum membentuk kalus.

Padi subspecies *indica* banyak dibudidayakan di Indonesia, contohnya seperti varietas padi IR64 dan varietas padi Ciherang. Akan tetapi, kedua varietas tersebut jika digunakan untuk kultur antera maka respon keduanya akan berbeda. Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian Purnamaningsih (2006) bahwa perbedaan varietas akan memberikan perbedaan yang nyata pada pembentukan kalus antera padi. Dewi *et al.* dalam Sasmita (2002) mengemukakan bahwa pemilihan varietas yang tanggap dalam kultur antera harus diperhitungkan oleh para pemulia tanaman.

Beberapa penelitian membuktikan bahwa dengan menggunakan kultur antera, padi yang dihasilkan lebih baik daripada tetuanya. Lestari dalam Dewi dan Bambang (2012) menyatakan bahwa evaluasi mutu beras 17 galur dihaploid hasil kultur antera F1 menghasilkan galur-galur dengan beras berukuran panjang dan berbentuk sedang dan nilai amilosa >25% sehingga galur-galur tersebut dapat digunakan lebih lanjut untuk bahan pemuliaan dalam upaya pembentukan varietas baru bermutu beras baik. Selain itu, dalam penelitian Utami *et al.* dalam Dewi dan Bambang (2012) untuk mendapatkan sifat ketahanan terhadap penyakit blas dilakukan kultur antera dari persilangan antara IR64 dengan *Oryza rufipogon* sehingga hasilnya mempunyai penampilan agronomi baik dan lebih tahan blas dibandingkan tetuanya yaitu varietas IR64.

Media kultur merupakan salah satu faktor penting untuk pembentukan kalus antera (Bagheri *et al.*, 2009). Salah satu komponen media yang memiliki peran penting adalah gula. Gula merupakan faktor penting dalam keberhasilan dalam kultur *in vitro* sebagai sumber karbon yang digunakan untuk sumber energi. Sumber karbon yang umum digunakan adalah sukrosa. Hampir semua kultur memperlihatkan respon pertumbuhan yang optimum dengan pemberian disakarida dalam bentuk sukrosa. Apabila sukrosa digantikan oleh monosakarida atau disakarida lain maka akan terlihat adanya keragaman yang nyata pada pertumbuhan kultur (Ball *dalam* Sjahril *et al.*, 2011).

Sukrosa dalam media dihidrolisis menjadi monosakarida selama masa kultur. Glukosa dan fruktosa hasil hidrolisis sukrosa masuk ke dalam sel secara terpisah. Kedua monosakarida tersebut digunakan sel untuk metabolisme, selanjutnya digunakan sebagai sumber energi dan sumber karbon. Selain sebagai sumber karbon dan sumber energi, sukrosa yang terserap mempengaruhi tekanan osmotik sehingga menyebabkan pemanjangan sel (Irmawati, 2007). Akan tetapi, Janed *et al.* *dalam* Amrullah (2014) menyatakan bahwa maltosa dapat efektif memacu pertumbuhan kalus pada tanaman padi. Maltosa berperan penting pada androgenesis karena dapat menjaga kestabilan osmosis pada media kultur, sedangkan sukrosa dapat memplasmolisis mikrospora (Prayantini dan Panjisakti, 2013).

Kultur antera adalah salah satu bioteknologi yang diharapkan dapat merakit varietas unggul padi. Penggunaan varietas dan sumber karbon yang baik diharapkan dapat memberikan respon yang baik terhadap pembentukan kalus antera padi. Sehingga dapat digunakan sebagai awal pembentukan tanaman haploid. Pemuliaan tanaman dengan menggunakan kultur antera diharapkan dapat meningkatkan produksi padi dengan diperolehnya varietas unggul padi baru.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas didapatkan rumusan masalah yaitu bagaimana pengaruh varietas dan sumber karbon yang paling baik terhadap pembentukan kalus antera padi.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui varietas dan sumber karbon yang paling baik terhadap pembentukan kalus antera padi.

1.4 Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Dapat digunakan sebagai dasar percobaan ilmiah dalam perkembangbiakan secara kultur jaringan khususnya kultur antera padi.
2. Hasil percobaan ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam mengembangkan kultur antera padi dengan sumber karbon dan varietas yang baik sehingga akan membantu untuk mendapatkan varietas padi unggul baru.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.)

Klasifikasi ilmiah dari tanaman padi yang dikutip dari Siregar (1981), yakni:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (Berkeping satu/ monokotil)
Subkelas	: Commelinidae
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae (suku rumput-rumputan)
Genus	: <i>Oryza</i>
Spesies	: <i>Oryza sativa</i> L.

Tanaman padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan penting yang telah menjadi makanan pokok lebih dari setengah penduduk dunia. Padi di Indonesia merupakan komoditas utama dalam menyokong pangan masyarakat. Indonesia sebagai negara dengan jumlah penduduk yang besar menghadapi tantangan dalam memenuhi kebutuhan pangan penduduk. Oleh karena itu, kebijakan ketahanan pangan menjadi fokus utama dalam pembangunan pertanian (Aggraini *et al.*, 2013).

Faktor-faktor yang menyebabkan produksi padi kurang memadai sebagai berikut.

1. Penduduk yang semakin meningkat.
2. Pengurangan lahan pertanian.
3. Sumber genetika yang semakin terbatas.
4. Penyusutan sumber alam.
5. Kejenuhan tanaman padi terhadap input teknologi (Suparyono dan Agus, 1993).

Pertumbuhan tanaman padi dibagi ke dalam tiga fase: (1) vegetatif (awal pertumbuhan sampai pembentukan bakal malai/primordia); (2) reproduktif (primordia sampai pembungaan); dan (3) pematangan (pembungaan sampai gabah matang). Fase vegetatif merupakan fase pertumbuhan organ-organ vegetatif

seperti pertambahan jumlah anakan, tinggi tanaman, jumlah bobot dan luas daun. lama fase ini beragam sehigga menyebabkan adanya perbedaan umur tanaman. Fase reproduktif ditandai dengan memanjangnya beberapa ruas teratas batang tanaman, berkurangnya jumlah anakan (matinya anakan tidak produktif), munculnya daun bendera, bunting dan pembungaan. Inisiasi primordia malai biasanya dimulai 30 hari sebelum heading dan waktunya hampir bersamaan dengan ruas-ruas batang yang terus berlanjut sampai berbunga. Oleh sebab itu, stadia reproduktif disebut juga stadia pemanjangan ruas. Didaerah tropik untuk kebanyakan varietas padi lama fase reproduktif umumnya 35 hari dan fase pematangan sekitar 30 hari. Perbedaan masa pertumbuhan (umur) hanya ditentukan lamanya fase vegetatif (Gambar 2.1.). Sebagai contoh, IR64 yang matang dalam 110 hari mempunyai fase vegetatif 45 hari, sedangkan Ciherang yang matang 115 hari fase vegetatifnya 50 hari (Makarim dan Suhartatik, 2009).

Tabel 2.1 Fase utama pertumbuhan tanaman padi dan lama tiap fase (Makarim dan Suhartatik, 2009)

PERIODE/FASE PERTUMBUHAN PADI			
VEGETATIF	REPRODUKTIF	PEMATANGAN	Varietas
45 hari	35 hari	30 hari	IR64 110 hari
50 hari	35 hari	30 hari	Ciherang 115 hari

Berikut tiga fase pertumbuhan diatas diuraikan menjadi 10 tahapan pertumbuhan yang diberi kode 0-9 (Makarim dan Suhartatik, 2009).

1. Tahap 0 : berkecambah sampai muncul kepermukaan.

Benih biasanya dikecambahkan melalui perendaman selama 24 jam dan diinkubasi juga selama 24 jam. Setelah berkecambah bakal akar dan tunas menonjol keluar menembus kulit gabah. Pada hari ke 2 atau ke 3 setelah benih disebar di pesemaian, daun pertama menembus keluar melalui koleoptil. Akhir tahap 0 memperlihatkan daun pertama yang muncul masih melengkung dan bakal akar memanjang.

2. Tahap 1 : pertunasan.

Tahap pertunasan mulai benih berkecambah sampai dengan sebelum anakan pertama muncul. Selama tahap ini, akar seminal dan lima daun terbentuk, sementara tunas terus tumbuh, dua daun lagi terbentuk. Daun terus berkembang pada kecepatan satu daun setiap 3 sampai 4 hari selama tahap awal pertumbuhan. Kemunculan akar sekunder membentuk sistem perakaran serabut permanen dengan cepat menggantikan radícula dan akar seminal sementara. Bibit umur 18 hari siap untuk di tanam pindah. Bibit memiliki 5 daun dan sistem perakaran yang berkembang dengan cepat.

3. Tahap 2 : anakan.

Tahap ini berlangsung sejak munculnya anakan pertama sampai pembentukan anakan maksimum tercapai. Anakan muncul dari tunas aksial (axillary) pada buku batang dan menggantikan tempat daun serta tumbuh dan berkembang. Setelah tumbuh, anakan pertama memunculkan anakan sekunder. Ini terjadi pada 30 hari setelah pindah tanam. Selain sejumlah anakan primer dan sekunder, anakan tersier tumbuh dari anakan sekunder seiring pertumbuhan tanaman yang bertambah panjang dan besar. Pada tahap ini, anakan terus bertambah sampai pada titik dimana sukar dipisahkan dari batang utama. Anakan terus berkembang sampai tanaman memasuki tahap pertumbuhan berikutnya yaitu pemanjangan batang.

4. Tahap 3 : pemanjangan batang.

Tahapan ini terjadi sebelum pembentukan malai atau terjadi pada tahap akhir pembentukan anakan. Oleh karenanya bisa terjadi tumpang tindih dari tahap 2 dan 3. Anakan terus meningkat dalam jumlah dan tingginya. Periode waktu pertumbuhan berkaitan nyata dengan memanjangnya batang. Batang lebih panjang pada varietas yang jangka waktu pertumbuhannya lebih panjang. Anakan maksimum, memanjangnya batang, dan pembentukan malai pada varietas umur genjah (105 – 120 hari). Pada varietas umur dalam (150 hari), terdapat yang disebut lagi periode vegetatif dimana anakan maksimum terjadi. Hal ini diikuti

oleh memanjangnya batang (internode), dan akhirnya sampai ke tahap pembentukan malai.

5. Tahap 4 : pembentukan malai sampai bunting.

Inisiasi primordia malai pada ujung tunas tumbuh menandai mulainya fase reproduksi. Primordia malai menjadi kasat mata pada sekitar 10 hari setelah inisiasi. Pada tahap ini, tiga daun masih akan muncul sebelum malai pada akhirnya timbul ke permukaan. Pada varietas genjah, malai terlihat berupa kerucut berbulu putih panjang 1,0 sampai 1,5 mm muncul pada ruas buku utama, kemudian padaanakan dengan pola tidak teratur. Dapat terlihat dengan membelah batang. Saat malai terus berkembang bulir terlihat dan dapat dibedakan. Malai muda meningkat dalam ukuran dan berkembang ke atas di dalam pelepah daun bendera menyebabkan pelepah daun mengembung. Penggembungan daun bendera disebut bunting. Bunting terjadi pertama kali pada ruas batang utama. Pada tahap bunting, ujung daun layu (menjadi tua dan mati) dan anakan non produktif terlihat pada bagian dasar tanaman.

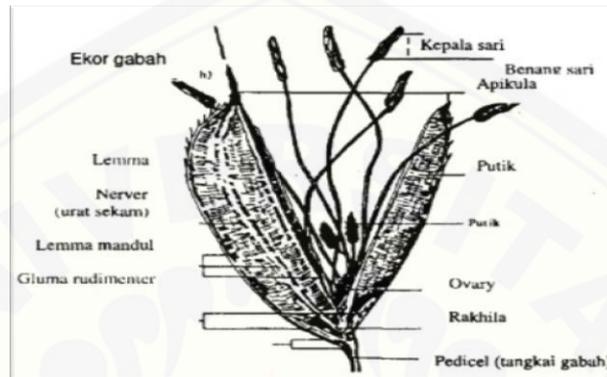
6. Tahap 5 : keluar malai.

Tahap keluar malai ditandai dengan kemunculan ujung malai dari pelepah daun bendera. Malai terus berkembang sampai keluar seutuhnya dari pelepah daun.

7. Tahap 6 : pembungaan.

Tahap pembungaan dimulai ketika serbuk sari menonjol keluar dari bulir dan terjadi proses pembuahan. Bunga padi memiliki dua jenis kelamin dengan bakal buah yang di atas. Jumlah benang sari ada 6 buah dengan tangkai sarinya pendek dan tipis sedangkan kepala sari besar serta mempunyai kantung serbuk. Memiliki dua tangkai putik dengan dua buah kepala putik yang berbentuk malai dengan warna pada umumnya putih atau ungu (Gambar 2.2). Pada pembungaan, kelopak bunga terbuka, antera menyembul keluar dari kelopak bunga karena pemanjangan stamen dan serbuk sari tumpah. Kelopak bunga kemudian menutup. Serbuk sari jatuh ke putik, sehingga terjadi pembuahan. Struktur pistil berbulu dimana tube tepung sari dari serbuk sari yang muncul akan mengembang ke ovarium. Proses pembungaan berlanjut sampai hampir semua spikelet pada malai mekar.

Pembungaan terjadi sehari setelah keluarnya malai. Pada umumnya kelopak bunga membuka pada pagi hari. Semua spikelet pada malai membuka dalam 7 hari. Pada pembungaan, 3 sampai 5 daun masih aktif. Anakan pada tanaman padi ini telah dipisahkan pada saat dimulainya pembungaan dan dikelompokkan ke dalam anakan produktif dan non produktif.



Gambar 2.1 Bagian-bagian bunga padi (Makarim dan Suhartatik, 2009).

8. Tahap 7 : gabah matang susu.

Pada tahap ini, gabah mulai terisi dengan cairan serupa susu. Gabah mulai terisi dengan larutan putih susu, dapat dikeluarkan dengan menekan/ menjepit gabah di antara dua jari. Malai hijau dan mulai merunduk. Pelayuan (senescence) pada dasar anakan berlanjut. Daun bendera dan daun dua daun di bawahnya tetap hijau.

9. Tahap 8 : gabah setengah matang.

Pada tahap ini, isi gabah yang menyerupai susu berubah menjadi gumpalan lunak dan akhirnya mengeras. Gabah pada malai mulai menguning. Pelayuan (senescence) dari anakan dan daun dibagian dasar tanaman nampak semakin jelas. Pertanaman kelihatan menguning. Seiring menguningnya malai, ujung dua daun terakhir pada setiap anakan mulai mengering.

10. Tahap 9 : gabah matang penuh.

Setiap gabah matang, berkembang penuh, keras dan berwarna kuning. Daun bagian atas mengering dengan cepat (daun dari sebagian varietas ada yang tetap hijau). Sejumlah daun yang mati terakumulasi pada bagian dasar tanaman.

Salah satu contoh padi unggul yang digunakan oleh masyarakat adalah padi varietas Ciherang. Ciherang merupakan hasil persilangan IR64 terhadap beberapa

galur IR lainnya ini, tampil dengan perkasa mengalahkan dominasi IR64 selama kurun waktu 6 tahun dan eksis di Indonesia selama 10 tahun terakhir. Padi Ciherang termasuk dalam padi *indica*. Padi ini merupakan kelompok padi sawah yang sangat cocok ditanam di lahan sawah irigasi dataran rendah. Padi ini dapat ditanam pada musim hujan dan kemarau dengan ketinggian di bawah 500 m dari permukaan laut. Padi Ciherang merupakan hasil persilangan antara varietas padi IR64 dengan varietas/galur lain. Sebagian sifat IR64 juga dimiliki oleh Ciherang termasuk hasil dan mutu berasnya yang tinggi (Tabel 2.1) (BBPTT, 2010).

Tabel 2.2 Perbandingan sifat padi varietas IR64 dengan varietas padi Ciherang

Deskripsi	IR64	Ciherang
Bentuk beras	Panjang, ramping	Panjang, ramping
Bentuk tanaman	Tegak	Tegak
Tekstur nasi	Pulen	Pulen
Kadar amilosa (%)	23	23
Rata-rata hasil (t/ha)	5	6
Potensi hasil	6	8,5
Umur tanaman (hari)	110-120	115-125
Tinggi tanaman (cm)	115-126	107-125
Jumlah anakan produktif (batang)	20-35	14-17
Ketahanan terhadap hama	Tahan wereng coklat bio tipe 1 dan 2	Tahan wereng coklat biotipe 2 dan 3
Tahun lepas	1986	2000

Sumber: BBPTT, 2010.

2.2 Kultur Antera

Pada dasarnya, kegiatan pemuliaan tanaman dapat dilakukan dalam dua cara yaitu secara konvensional dan secara inkonvensional. Cara konvensional dapat dilakukan melalui teknik persilangan yang dilanjutkan dengan seleksi keturunan unggul hasil persilangan, sedangkan cara inkonvensional dapat dilakukan melalui beragam teknik modifikasi sifat genetik tanaman, misalnya yang dilakukan secara *in vitro* termasuk kultur antera dan kultur mikrospora yang dilanjutkan dengan seleksi keturunan unggul (Tabel 2.2) (Suaib, 2012). Kultur antera merupakan pembudidayaan tanaman melalui tehnik kultur secara *in vitro* yang memanfaatkan antera tanaman (Harahap, 2011). Kultur antera menghasilkan tanaman haploid melalui induksi embriogenesis dari pembelahan berulang mikrospora/polen tanaman donor antera yang berasal dari persilangan tetua yang

memiliki karakter yang diinginkan. Kombinasi karakter kedua tetua terjadi pada tanaman haploid, sehingga bila kromosomnya digandakan atau terjadi penggandaan spontan selama kultur akan diperoleh tanaman haploid ganda (DH) yang homozigos atau galur murni (Herawati *et al*, 2008). Aplikasi kultur antera dalam pemuliaan tanaman padi telah berhasil mendapatkan berbagai varietas unggul di Cina dan Korea (Herawati *et al*, 2008).

Tabel 2.3 Perbandingan waktu pemuliaan antara sistem *pedigree* dan kultur antera (Dewi *et al.*, 1996).

Waktu (Musim Tanam)	Sistem <i>Pedigree</i>	Kultur Antera	
1	Hibridisasi	Hibridisasi	
2	F1	F1 dan Kultur Antera	
3	F2		
4	<i>Pedigree</i> (F3-F9) Skринing dan Pengujian	Perbanyak Benih	Skринing dan Pengujian
5		Uji Daya Hasil	
6		Uji Adaptasi Regional	Perbanyak Benih
7			
8	Uji Adaptasi Regional	Perbanyak Benih	
9			
10			
11	Uji Adaptasi Regional		
12	Regional		
13	Perbanyak Benih		
14			
15			

Kegunaan kultur antera diantaranya adalah:

1. Mampu menghasilkan tanaman haploid atau tanaman yang hanya mempunyai satu genom saja yang disebut tanaman monohaploid.
2. Dari tanaman haploid dapat menghasilkan tanaman dihaploid (diploid).
3. Membuat tanaman homozigot.
4. Dikombinasikan dengan penggunaan mutagen kimia atau mutagen fisik dapat menghasilkan tanaman mutan-mutan yang unggul (Hendaryono dan Ari, 1994).

Keberhasilan dalam kultur antera atau polen ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya adalah sebagai berikut.

1. Komposisi media kultur.

2. Tahap perkembangan polen atau umur polen.
3. Kondisi lingkungan tempat eksplan tumbuh (cahaya, suhu).
4. Status biologi eksplan (antera yang berasal dari awal berbunga atau puncak berbunga lebih baik dibandingkan antera bunga terakhir) (Santoso dan Fatimah, 2001).

2.3 Sumber Karbohidrat

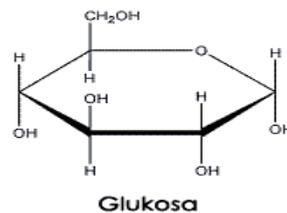
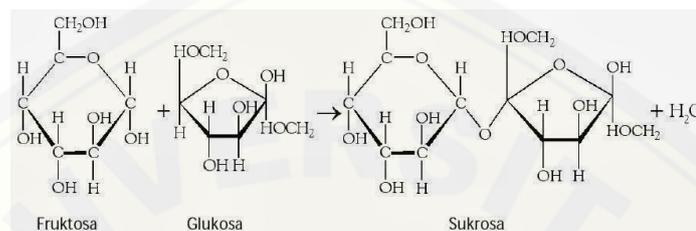
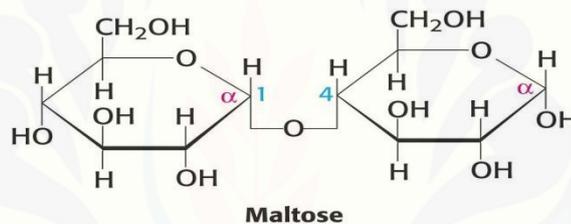
Energi yang terkandung dalam karbohidrat itu pada dasarnya berasal dari energi matahari. Karbohidrat dalam hal ini glukosa, dibentuk dari karbon dioksida dan air dengan bantuan sinar matahari dan klorofil dalam daun. Selanjutnya glukosa yang terjadi diubah menjadi amilum dan disimpan pada bagian lain, misalnya pada buah atau umbi. Proses pembentukan glukosa dari karbon dioksida dan air disebut proses fotosintesis. Kemudian karbohidrat juga tidak hanya sebagai sumber energi utama bagi makhluk hidup, tetapi juga sebagai senyawa yang menyimpan energi kimia. Selanjutnya karbohidrat juga merupakan pusat metabolisme tanaman hijau dan organisme fotosintetik lainnya. Molekul karbohidrat tersusun atas unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H) dan oksigen (O). Unsur-unsur tersebut bergabung dalam suatu ikatan kimia dengan rumus umum $(CH_2O)_n$. Jumlah n berbeda tergantung jenis karbohidrat yang disusunnya (Vintania, 2014).

Tumbuhan di alam bebas mencukupi kebutuhan gula dengan mengasimilasi CO_2 pada proses fotosintesa dengan pertolongan klorofil dan sinar matahari untuk menjadi glukosa kemudian dijadikan pati, selulose dan persenyawaan persenyawaan lain. Pada kultur *in vitro*, sel dan jaringan tumbuhan belum sempurna dalam melakukan asimilasi *fotoautotrof* sehingga diperlukan gula sebagai sumber karbon dan energi. Selain sebagai sumber energi bagi sel dan jaringan, gula juga berfungsi sebagai penjaga keseimbangan tekanan osmotik potensial didalam medium. Semua medium kultur *in vitro* dilengkapi sumber karbon dan energi. Salah satu sumber karbon yang biasa digunakan adalah sukrosa. Sukrosa ataupun D-glukosa biasanya diberikan pada konsentrasi 20.000-30.000 mg L^{-1} , namun konsentrasi yang lebih tinggi kadang diberikan untuk

tujuan-tujuan tertentu. Hampir semua kultur memperlihatkan respon pertumbuhan yang optimum dengan pemberian disakarida dalam bentuk sukrosa. Apabila sukrosa digantikan oleh monosakarida atau disakarida lain maka akan terlihat adanya keragaman yang nyata pada pertumbuhan kultur (Ball *dalam* Sjahril *et al.*, 2011). Sukrosa bersifat labil terhadap pemasanan dengan sterilisasi menggunakan autoclaf akan menghasilkan kombinasi glukosa dan fruktosa. Pilihan dan takaran gula pada media kultur tergantung pada macam jaringan tanaman yang dikulturkan dan tujuan dari pengkulturkan tersebut (Zulkarnain, 2011).

Karbohidrat selalu ada dalam media kultur jaringan kecuali media yang dibuat memiliki tujuan yang spesifik. Karbohidrat dalam kultur jaringan merupakan sumber karbon yang dijadikan sebagai energi untuk pertumbuhan eksplan. Selain sebagai sumber energi, sumber karbon juga berfungsi sebagai tekanan osmotik media (Gunawan, 1988). Menurut George dan Sherrington dalam Gunawan (1988), 4/5 bagian dari potensial osmotik dalam media White disebabkan oleh gula, sedangkan dalam media MS setengah dari potensial osmotiknya disebabkan oleh gula.

Sukrosa dalam media dihidrolisis menjadi monosakarida selama masa kultur. Glukosa dan fruktosa hasil hidrolisis sukrosa masuk ke dalam sel secara terpisah. Kedua monosakarida tersebut digunakan sel untuk metabolisme, selanjutnya digunakan sebagai sumber energi dan sumber karbon. Selain sebagai sumber karbon dan sumber energi, sukrosa yang terserap mempengaruhi tekanan osmotik sehingga menyebabkan pemanjangan sel (Irmawati, 2007). Pengaruh maltosa dan sumber karbohidrat alternatif lainnya telah didokumentasikan dalam beberapa sistem kultur jaringan. Tetapi alasan mengenai keunggulan maltosa masih belum diketahui. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa maltosa meningkatkan kestabilan osmotik pada media kultur dibandingkan dengan sukrosa (Amrullah, 2014).

Gambar 2.2 Rumus bangun glukosa (Alberts *et al.*, 1994)Gambar 2.3 Rumus bangun sukrosa (Alberts *et al.*, 1994)Gambar 2.4 Rumus bangun maltosa (Alberts *et al.*, 1994)

2.4 Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Induksi Kalus Antera

Maltosa memberikan respon yang lebih baik dibandingkan sukrosa ataupun kombinasi antara glukosa dan fruktosa. Maltosa terbukti merupakan sumber karbon yang lebih baik dibandingkan dengan sukrosa pada kultur antera *Avena sativa* dan *A. sterilis* (Kiviharju dan Pehu dalam Zulkarnain, 2007). Bishnoi *et al.* dalam Zulkarnain (2007) juga berhasil mendapatkan regenerasi pucuk dalam frekuensi yang besar dari dalam kalus yang berasal dari kultur antera *O.sativa* dengan penambahan 3% maltosa ke dalam medium MS yang dipadatkan dengan agar. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh sumber karbon lebih bersifat osmotik daripada sebagai respon terhadap sumber karbohidrat. Telah diketahui bahwa sumber karbon yang berbeda menghasilkan potensi osmotik yang berbeda pula di dalam medium dikarenakan perbedaan berat molekulnya. Potensi osmotik medium merupakan faktor kunci untuk penyerapan air dan konstituen lain oleh

antera atau pun mikrospora yang dikulturkan, sehingga mempengaruhi keberhasilan androgenesis (Zulkarnain, 2007).

Kalus merupakan kumpulan sel yang tidak teratur dan tidak berbentuk, terjadi karena pembelahan sel yang sangat aktif. Pada tanaman utuh kalus dapat terbentuk akibat pelukaan atau adanya stres. Di dalam kultur jaringan, kalus diinisiasi dengan meletakkan bagian yang terkecil dari tanaman utuh (eksplan) di bawah kondisi aseptik (Zulkarnain, 2011). Menurut Prayantini dan Panjisakti (2013), hasil penelitian pada subspecies padi *japonica* memperlihatkan bahwa komposisi media induksi kalus berpengaruh terhadap jumlah kalus yang terbentuk. Secara umum *japonica* diketahui memiliki respon di tahap *in vitro* lebih baik dibandingkan *indica*, akan tetapi bila menggunakan komposisi media yang kurang sesuai, maka jumlah kalus yang terbentuk juga akan berkurang. Ciuhao memperlihatkan respon yang lebih baik bila menggunakan maltosa sebagai sumber karbon pada media induksi kalus. Penggunaan maltosa dikombinasikan dengan AgNO_3 dapat meningkatkan persentase jumlah kalus yang terbentuk hingga tiga kali lipat (10% meningkat menjadi 32%). Maltosa berperan penting pada androgenesis dikarenakan maltosa dapat menjaga kestabilan osmosis pada media kultur, sedangkan sukrosa dapat memplasmolisis mikrospora (Prayantini dan Panjisakti, 2013). Maltosa memiliki kemampuan untuk mendegradasi glukosa secara lambat dibandingkan sukrosa, sehingga mampu menginduksi kalus lebih baik dibandingkan sukrosa (Xie *et al.* dalam Prayantini dan Panjisakti, 2013).

Pemberian glukosa 30g/L adalah konsentrasi terbaik dalam membentuk kalus dibandingkan dengan glukosa 0 g/L, 10 g/L dan 60 g/L. Sedangkan pemberian sukrosa 60 g/L merupakan konsentrasi yang terbaik dalam membentuk kalus. Pemberian sukrosa, glukosa atau karbohidrat jenis yang lain dapat memacu pembentukan kalus dalam kultur *in vitro* melalui energi dan beberapa kerangka karbon yang dihasilkan. Kedua bahan tersebut menjadi bahan dasar penting dalam pembentukan berbagai jenis asam amino, asam nukleat, zat pengatur tumbuh, protein dan bahan lain yang berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman secara *in vitro* (Winarto *et al.*, 2009).

2.5 Pengaruh Varietas Terhadap Induksi Kalus Antera

Sifat ketergantungan pada genotipe yang nyata terhadap respon androgenik dilaporkan oleh Mityko *et al.* dalam Zulkarnain (2007) pada kultur antera tanaman cabai (*Capsicum annuum*). Selain itu, ketergantungan pada genotipe juga ditemukan pada tanaman *timothy* (Guo *et al.* dalam Zulkarnain, 2007). Walaupun dasar kontrol genetiknya masih belum diketahui, jelas bahwa faktor-faktor genetik berinteraksi dengan faktor-faktor lain untuk mengontrol embriogenesis mikrospora (Palmer dan Keller *dalam* Zulkarnain, 2007).

Pemilihan genotipe sebagai sumber eksplan berdasarkan daya induksi kalus dan regenerasi tanaman dalam kultur antera padi sangat penting (Sasmita *et al.*, 2002). Dewi *et al.* dalam Sasmita *et al.* (2002) mengemukakan bahwa pemilihan varietas yang tanggap dalam kultur antera harus diperhitungkan oleh pemulia tanaman. Untuk mendapatkan padi gogo unggul dan toleran naungan melalui kultur antera diperlukan eksplan antera F1 hasil persilangan antara padi gogo yang memiliki karakter agronomi baik dengan padi gogo toleran naungan (Sasmita *et al.*, 2002).

Tidak semua antera dapat membentuk kalus. Antera yang dapat membentuk kalus berwarna putih kekuningan, sedangkan yang tidak dapat membentuk kalus berwarna coklat kehitaman dan mati. Pada penelitian yang dilakukan oleh Somatri *et al.* (2002) menyatakan bahwa varietas suatu padi mempengaruhi induksi kalus antera padi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Purnamaningsih (2006) menyatakan bahwa varietas dan formulasi media yang digunakan berpengaruh terhadap induksi pembentukan kalus dan diameter kalus. Kemampuan padi varietas T-309 paling tinggi dalam membentuk kalus dibandingkan dengan yang lainnya, sedangkan IR64 mempunyai kemampuan paling rendah. Berbedanya kemampuan T-309 dengan yang lainnya disebabkan karena T-309 termasuk ke dalam kelompok padi subspecies *japonica* sedangkan yang lainnya termasuk ke dalam subspecies *indica*. Berbagai hal menunjukkan bahwa padi subspecies *japonica* lebih mudah dan responsif untuk dikulturkan secara *in vitro* daripada padi subspecies *indica* (Purnamaningsih, 2006).

Untuk menghasilkan tanaman haploid ganda pada tanaman sereal, seperti padi, lebih sering dilakukan melalui kultur antera dibandingkan dengan melalui kultur tepung sari. Hal ini disebabkan frekuensi pembentukan tanaman hijau sangat. Para ahli di Cina dapat menghasilkan tanaman hijau paling tinggi sebesar 3,0% untuk *indica* (Zhang dalam Dewi *et al.*, 2006), sedangkan untuk persilangan *indica/indica* lebih rendah lagi, yaitu sebesar 2,0% (Zhuo *et al.* dalam Dewi *et al.*, 2006). Kultur antera pada keturunan pertama hasil persilangan ditujukan untuk mempercepat tahap seleksi untuk mendapatkan galur haploid ganda (Prayantini dan Panjisakti, 2013).

Perkembangan kultur antera pada tanaman padi banyak dilakukan pada subspecies *japonica*. Seperti yang dinyatakan pada penelitian Niizeki dan Ono (1968), teknik kultur antera pertama kali berhasil dilakukan pada jenis *japonica*. Setelah jenis *japonica* ternyata ada pengembangan kultur antera pada padi jenis *indica*. Akan tetapi padi jenis *indica* masih jarang dilakukan kultur antera. Hal tersebut diperkuat dengan pernyataan Dewi *et al.* (2006) bahwa padi subspecies *indica* merupakan genotipe yang sulit menghasilkan regenerasi tanaman hijau melalui kultur antera karena secara alami mengandung prekursor etilen mempercepat penuaan pada antera.

2.6 Hipotesis

Terdapat pengaruh sumber karbon dan varietas yang paling baik untuk terhadap pembentukan kalus antera padi.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Percobaan

Percobaan ini akan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Maret 2015 sampai November 2015.

3.2 Bahan dan Alat Percobaan

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah malai padi yang masih terbungkus daun bendera untuk diambil anteranya (varietas ciherang dan IR64), media MS, sumber karbon (glukosa 20 g/L, sukrosa 20 g/L dan maltosa 20 g/L), zat pengatur tumbuh (NAA 2ppm dan kinetin 1ppm), agar sebagai bahan pematat dan bahan desinfektan (alkohol 70%), HCl, NaOH dan plastik wrap. Alat yang digunakan terdiri dari glass ware (botol kultur, gelas ukur, petridish, beaker glass, dan erlenmeyer), alat diseksi (pinset dan gunting), pipet volumetrik, *hot plate dan magnetic stirer*, timbangan analitik, pH meter, *autoclave*, lemari pendingin, *laminar air flow* (LAF), bunsen dan hand sprayer.

3.3 Metode Percobaan

Percobaan yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui varietas dan sumber karbon yang paling baik pada kultur antera padi. Berikut merupakan tahapan percobaan tersebut.

1. Percobaan yang dilakukan menggunakan dua varietas padi yaitu padi varietas Ciherang dan padi varietas IR64. Sedangkan sumber karbon yang digunakan dalam media kultur MS yaitu glukosa 20g/L, sukrosa 20g/L dan maltosa 20 g/L. Sehingga kombinasi percobaan yang didapatkan sebanyak 6 kombinasi. Ulangan untuk penelitian ini 3 kali sehingga total unit percobaan sebanyak 18 unit.
2. Penanaman antera padi pada masing-masing kombinasi perlakuan yaitu sebanyak 18 unit.

3. Pengamatan antera padi sampai 70 hari setelah tanam dengan variabel pengamatan yaitu awal terbentuknya kalus (hari), presentase kalus yang terbentuk (%), berat segar kalus (g), warna dan tekstur kalus.
4. Setelah dilakukan pengamatan selama 70 hari setelah tanam, data yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan analisis data deskriptif.

3.4 Pelaksanaan Percobaan

3.4.1 Tahap Penanaman Padi di Lapang

Penyemaian benih padi pada bak persemaian selama 12-18 hari. Setelah persemaian, bibit padi tersebut dipindah ke bak yang sudah diisi tanah sebagai medianya dan dikondisikan sesuai dengan kondisi padi di lahan. Setiap bak diisi bibit padi sebanyak 4 dengan jarak antar bak satu dengan yang lainnya adalah 50cm. Setelah dua minggu dilakukan pemupukan dasar dengan pupuk urea dan NPK sesuai dengan yang dianjurkan yaitu 0,75g/tanaman dan 3,75g/tanaman. Pada umur 20 hari setelah tanam dipupuk dengan urea sebanyak 1g/tanaman. Setelah padi berumur 30 hari setelah tanam dipupuk dengan urea dan NPK yaitu sebanyak 0,75g/tanaman dan 3,75 g/tanaman. Setelah itu dilakukan perawatan sampai padi memasuki fase bunting sekitar 46-60 hari setelah tanam karena pada fase tersebut akhir dari fase vegetatif yang akan memasuki fase generatif.

3.4.2 Tahap Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam kultur jaringan ini yaitu media MS (*Murashige and Skoog*) ditambah dengan sumber karbon sebagai perlakuan yaitu glukosa 20g/L, sukrosa 20g/L dan maltosa 20g/L pada erlenmeyer. Kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh NAA 2ppm dan kinetin 1ppm. Setelah itu ditambahkan aquadest hingga 1000ml kemudian diaduk menggunakan magnetic stirer agar larutan menjadi homogen. pH larutan diatur pada kondisi 5,8. Apabila pH dibawah 5,8 cukup ditambah larutan NaOH dan jika pH diatas 5,8 ditambahkan HCl. Setelah kondisi pH stabil, larutan ditambah dengan agar untuk pematat sebanyak 8 g/L. Selanjutnya dimasukkan ke dalam autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 psi (*pound per square inch*) selama ± 20 menit. Setelah

selesai di autoclave, larutan MS 1000ml tersebut dituangkan ke dalam petridish di LAF dan disimpan di rak inkubasi.

Tabel 3.1. Komposisi media MS

Jenis stok	Pengambilan (ml)	Jenis bahan kimia	MS (mg/l)
A	20	NH ₄ NO ₃	1650
B	20	KNO ₃	1900
C	10	CaCl 2H ₂ O	440
D	10	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
		KH ₂ PO ₄	170
E	5	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
		NaEDTA	37,3
		MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3
		ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
		H ₃ BO ₃	6,2
F	5	KI	0,83
		Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,25
		CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
		CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
	10	Mio-inositol	100
		Niacin	0,5
Vitamin	1	Pyridoksin HCl	0,5
		Thiamine HCl	01
		Glycine	2,0

3.4.3 Tahap Sterilisasi Alat dan Ruang

Setiap alat yang digunakan memiliki cara tersendiri agar steril. Alat-alat yang terbuat dari logam seperti gunting, pinset dan petridish dibungkus dengan plastik tahan panas. Semua alat tersebut disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama ± 20 menit. Setelah selesai semua alat disimpan dalam oven. Sterilisasi ruang dilakukan dengan penyinaran *LaminarAir Flow* (LAF) menggunakan lampu UV sebelum pelaksanaan penanaman selama ±1 jam. Tujuan dilakukan penyinaran UV yaitu untuk membunuh kontaminan yang bersifat *air borne* (yang dibawa oleh udara). Tindakan selanjutnya melakukan penyemprotan LAF dengan menggunakan alkohol 70% dan dibersihkan menggunakan tissue. Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini harus steril agar terhindar dari kontaminasi.

3.4.4 Persiapan Eksplan

Pengambilan antera padi sebagai bahan tanam ada kriteria yang harus diperhatikan. Kriteria antera padi yang digunakan yaitu padi telah memasuki masa bunting (masak fisiologis) dalam keadaan bulir gabah muda masih tertutup oleh daun malai dan daun bendera atas dengan daun bendera dibawahnya antara 7-12 cm. Malai yang telah memenuhi kedua kriteria tersebut digunting dari pangkal dekat dengan tanah.

3.4.5 *Pre Cold Treatment*

Malai yang diambil dari lapang dibilas pada air mengalir. Selanjutnya disemprot dengan alkohol 70% agar malai steril. Setelah disemprot dengan alkohol 70% di bungkus dengan menggunakan plastik polietilen dan di *seal*. Langkah terakhir memasukkan malai yang sudah di *packing* ke dalam lemari pendingin dengan suhu 5⁰C selama 5 hari.

3.4.6 Penanaman Antera Padi

Malai yang dipilih adalah malai dengan bulir yang memiliki panjang antera dan filamennya tidak melebihi setengah panjang bulir dan berwarna kuning muda kehijauan. Bulir gabah muda (*spikelet*) dari malai yang sudah steril kemudian sepertiga dari pangkalnya dipotong dengan gunting dan dikumpulkan pada cawan petri steril (Sasmita, 2007). Selanjutnya antera diinokulasi kedalam media induksi kalus yang telah disiapkan sebelumnya. Inokulasi dilakukan dengan cara mengetukkan spikelet pada tepi cawan petri menggunakan pinset. Selanjutnya antera yang diinokulasi pada media disimpan di rak kultur gelap dengan suhu 25±2⁰C.

3.5 Variabel Percobaan

Pengamatan yang dilakukan pada tiap variabel memiliki perbedaan waktu pengamatan. Adapun variabel yang diamati:

1. Awal terbentuknya kalus (hari);

Waktu terbentuknya kalus dihitung sejak hari pertama eksplan dikulturkan. Pengamatan dilakukan dengan cara mengamati perkembangan eksplan mulai penanaman hingga terbentuknya kalus. Pengamatan bertujuan untuk mengetahui waktu eksplan mulai berkalus pada masing-masing media kombinasi perlakuan.

2. Persentase kalus yang terbentuk (%);

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang membentuk kalus. Hal ini bertujuan untuk mengetahui berapa persen kalus yang mampu dibentuk oleh tiap-tiap perlakuan. Pengamatan dilakukan dari hari saat munculnya kalus hingga akhir pengamatan. Persentase eksplan berkalus didapatkan dari jumlah eksplan yang membentuk kalus per petridish pada 70 hst dibagi dengan jumlah eksplan per petridish dikalikan 100%. Berikut perhitungan eksplan berkalus:

$$\text{Persentase eksplan berkalus (\%)} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang berkalus}}{\text{Jumlah eksplan per petridish}} \times 100\%$$

3. Berat segar kalus (g);

Berat segar kalus diukur dengan dengan cara menimbang pada timbangan analitik. Berat segar kalus ditimbang pada akhir pengamatan. Meletakkan petridish kosong diatas timbangan analitik dan distabilkan (nilai yang tertera pada timbangan analitik 0) setelah itu kalus yang tumbuh ditimbang pada setiap unit percobaan.

4. Warna dan tekstur kalus;

Pengamatan warna kalus dilakukan dengan indikasi warna kalus terang menandakan kondisi kalus yang baik dan warna gelap atau coklat menandakan bahwa kalus tersebut mulai menurun perkembangannya yaitu dengan menggunakan *Munsell Chart for Tissue Culture*. Sedangkan pengamatan struktur kalus berdasarkan analisis kualitatif meliputi data visual yang dianalisis dengan metode deskriptif yaitu bertekstur kompak atau remah (*friable*).

3.6 Metode Analisis Data

Metode analisis data yang akan digunakan dalam percobaan adalah metode analisis data secara deskriptif. Metode ini telah digunakan pada beberapa penelitian tentang kultur anthera padi. Prayantini dan Panjisakti (2013) pada penelitiannya yang bertujuan mengetahui media dan pra perlakuan yang sesuai untuk padi subspecies *japonica* dan *indica*, metode analisis data yang digunakan adalah metode deskriptif.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian kultur anthera padi yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada beberapa kombinasi perlakuan sumber karbon dan varietas padi yang paling baik dalam membentuk kalus adalah kombinasi perlakuan anthera padi varietas Ciherang dengan sumber karbon yang digunakan yaitu maltosa 20 g/L. Hal ini dapat ditunjukkan pada semua variabel yaitu persentase kalus, berat segar kalus, awal terbentuknya kalus, tekstur kalus dan warna kalus bahwa kombinasi tersebut yang paling baik.

5.2 Saran

Kendala yang dihadapi dalam penelitian kultur anthera ini adalah adanya pencoklatan pada anthera yang dikulturkan. Sebaiknya perlu digunakan arang aktif atau kombinasi dari zat pengatur tumbuh dalam media kultur agar mengurangi tingkat pencoklatan pada anthera.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., D. Bray., J. Lewis., M. R., K. Roberts dan J.D. Watson. 1994. *Biologi Molekular*. Jakarta: Gramedia.
- Amrullah, M. 2014. *Aplikasi Kultur Antera Pada Tanaman Padi*. Medan: Universitas Negeri Medan.
- Anggraini, F., A. Suryanto dan N. Aini. 2013. Sistem Tanam dan Umur Bibit pada Tanaman Padi Sawah (*Oryza sativa* L.) Varietas Inpari 13. *Produksi Tanaman*, 1(2).
- Bagheri, N., N. Babaelan-Jelodar and A. Ghanbari. 2009. Evaluation of Effective Factors in Anther Culture of Iranian Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars. *Biharean Biologist*, 3(2): 119-124.
- Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 2010. Macam Varietas Unggul. <http://bbpadi.litbang.deptan.go.id>. Diakses pada tanggal 01 Desember 2014.
- Dewi I, S dan B.S. Purwoko. 2012. Kultur Antera Untuk Percepatan Perakitan Varietas Padi di Indonesia. *Agrobiogen*, 8(2): 78-88.
- Dewi I.S. dan B.S. Purwoko. 2001. Kultur Antera Untuk Mendukung Program Pemuliaan Tanaman Padi. *BulAgron*, 29:59-63.
- Dewi, I. S., B.S. Purwoko., H. Aswidinnoor., I.H. Somantri dan M.A. Chozin. 2006. Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera Beberapa Aksesori Padi *Indica* Toleran Aluminium. *Agrobiogen*, 2(1): 30-35.
- Dewi, I.S., I.Hanarida dan S. Rianawati. 1996. Anther Culture and its Application for Rice Improvement Program in Indonesia. *Indonesia Agriculture Reseach and Development*, 18: 51-56.
- Efendi, D. 2005. Rekayasa Genetika untuk Mengatasi Masalah-masalah Pascapanen. *Bul Agron*, 33(2): 49-56.
- Fehr, W.R. 1987. *Principles of Cultivar Development*. New York: Macmillan Company.
- Gunawan, L.W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Harahap, Fauziyah. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Medan : Universitas Negeri Medan.

- Hendaryono, D.P S dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Herawati, R., Purwoko, B,S., Khumaida, N., Dewi, I.S. 2008. Pembentukan Galur Haploid Ganda Padi Gogo dengan Sifat-Sifat Tipe Baru melalui Kultur Antera. *Bul Agron*, 36 (3): 181-187.
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Agrobiogen*, 4(2): 83-88.
- Irmawati. 2007. Pertumbuhan dan Kandungan Reserpin Kultur Kalus *Rauvolfia verticilata* (Lour.) Baillon Pada Variasi Konsentrasi Sukrosa dalam Media MS. *Karya Ilmiah Penelitian*, Universitas Sebelas Maret.
- Makarim, K. A dan E.Suhartatik. 2009. *Morfologi dan Fisologi Tanaman Padi*. <http://bbpadi.litbang.deptan.go.id>. Diakses tanggal 10 April 2016.
- Niizeki, H dan K. Ono. 1968. Induction of Haploid Rice Plants From Anther Culture. *Proc Japan Acad*, 44:554-557.
- Prayantini, D. C dan P. Basunanda. 2013. Induksi Haploid Ganda pada Padi *japonica* (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*), *indica* (*Oryza sativa* L.ssp. *indica*) dan Hibrida *japonica* x *indica*. *Pertanian*, 16(1): 14-29.
- Purnamaningsih, R. 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regeneraasi Empat Varietas Padi melalui Kultur *In vitro*. *AgroBiogen*, 2(2):74-80.
- Santoso, U dan F. Nursandi. 2002. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Sasmita, P. 2007. Aplikasi Teknik Kultur Antera pada Pemuliaan Tanaman Padi. *Apresiasi Hasil Penelitian Padi*.
- Sasmita, P., B.S. Purwoko., S. Sujiprihati dan I. Hanarida. 2002. Kultur Antera Padi Gogo Hasil Persilangan Kultivar dengan Galur Toleran Naungan. *Hayati*, 9(3): 89-93.
- Siregar, H. 1981. *Budidaya Tanaman Padi di Indonesia*. Bogor: Sastra Hudaya.
- Sjahril, R., E. L. Sengin., Y. Musa., A. Dachlan., K. Mantja dan Feranita. 2011. *Pembiakan In Vitro*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Somantri, Ida H., A.D. Ambarwati dan A. Apriana. 2001. Perbaikan Varietas Padi melalui Kultur Antera. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*.

- Suparyono dan Agus S. 1993. *Padi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Supena, E.D.J., Suharsono dan I.M. Soedharma. 2009. Induksi Androgenesis Kedelai Melalui Antera Pada Media Dua Lapis Untuk Pengembangan Teknologi Haploid Dalam Percepatan Proses Pemuliaan. *Ringkasan Eksekutif Hasil-Hasil Penelitian*.
- Suwarno., E.Lubis., Alidawati., L.H. Somantri., Minantyorini dan M. Bustamam. 2000. Perbaikan Varietas Padi melalui Seleksi dengan Markah Molekuler dan Kultur Antera. *Prosiding Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*.
- Turham, H. 2004. Callus Inductions and Growth in Transgenic Potato Genotypes. *African Biotechnology*, 3(8):375-378.
- Vintania, T. 2014. *Paper Biokimia Karbohidrat*. Jakarta: Universitas Sahid Jakarta.
- Widjojo, H. 1990. Kultur Anther Pepaya dan Kultur Pucuk Pepaya (*Carica papaya* L.) Secara *In Vitro*. *Karya Ilmiah Penelitian*, Institut Pertanian Bogor.
- Winarto, B., N.A. Mattjik., A. Purwito dan B. Marwoko. Kultur Antera Anthurium: Pengaruh Sukrosa dan Glukosa Terhadap Keberhasilan Induksi Pembentukan Kalus dan Regenerasinya. *Berk.Penel.Hayati*, 14: 165-171.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan Kalus Remah dari Eksplan Daun Ramin (*Gonytilus bancanus* (Miq) Kurz.). *Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(3): 181-194.
- Yi, G., Y. Won., J.Ko., H. Park., J. Cho., B. Oh., S. Yang., S.C. Kim and M.H. Nam. 2003. Effects of Cold Shock Pretreatment and Carbohydrate Sources on Anther Culture of Rice. *Plant Biotechnol*, 30(4): 369-373.
- Yusnita. 2004. *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Zulkarnain. 2007. Pemanfaatan Metode Kultur Antera dalam Pemuliaan Tanaman. *Agronomi*, 8(1): 1-10.
- Zulkarnain. 2011. *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian



Larutan stok MS dan ZPT



Sumber karbon yang digunakan



Pembuatan Media



Malai padi yang akan digunakan



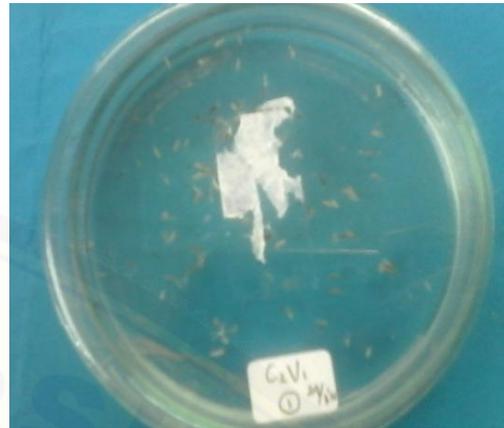
Spikelet terpilih untuk diambil anternya



Penanaman anter padi



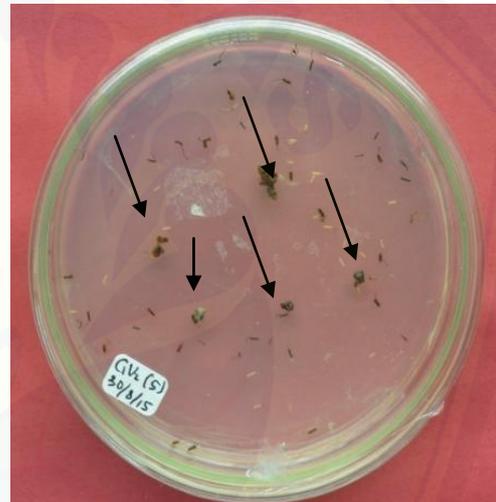
Pengantukan spikelet agar anter jatuh ke media perlakuan



Antera yang telah ditanam pada media perlakuan



Munsell Chart Colour For Tissue Culture



Anter yang tumbuh kalus



Penimbangan kalus dengan timbangan analitik



Tempat inokulasi antera