

Regenerasi Tanaman pada Kultur Antera Padi: Pengaruh Persilangan dan Aplikasi Putresin

Plant Regeneration in Rice Anther Culture: the Effect of Crosses and Putrescine Application

Iswari S. Dewi^{1*}, Bambang S. Purwoko², Hajrial Aswidinnoor²,
dan Ida H. Somantri¹

Diterima 9 Februari 2007/Disetujui 31 Juli 2007

ABSTRACT

The efficient use of anther culture in crop improvement depends on the success of plant regeneration techniques and the recovery of sufficient number of either green haploid plants that may be artificially or spontaneously doubled yielding homozygous diploid pure lines in first generation. Putrescine, one of growth regulator polyamines, was known as essential factor in embryogenesis on various plant tissues. The objective of this research was to study the effect of crosses and putrescine application on certain stages of culture most efficient in increasing green plant regeneration. The experiment was arranged factorially. The first factor was reciprocal crosses of Taipei 309 to Asemandi and Asemandi to Taipei 309. The second factor was application of putrescine consisted of control (M0: N6 induction medium and MS regeneration medium); M1: N6 induction medium, MS regeneration medium + 10⁻³ M putrescine; M2: N6 induction medium + 10⁻³ M putrescine, MS regeneration medium; and M3: N6 induction medium + 10⁻³ M putrescine, MS regeneration medium + 10⁻³ M putrescine. The results indicated that the addition of 10⁻³ M putrescine into callus induction and plant regeneration media was the best in increasing number and percentage of responding anther, callus formation, responding calli, green plants and number of total plants. Rice anther culture efficiency, which was indicated by ratio of green plant to responding calli and percentage of green plant to number of anther inoculated, was also increased by the addition of 10⁻³ M putrescine. At that best treatment maternal effect showed in number of calli producing green plantlets, number of green plantlets, and percentage of green plant to number of anther inoculated. F1 from Taipei309/Asemandi was better than F1 from Asemandi/Taipei30.

Key words : Rice, anther culture, putrescine, green plant, reciprocal crosses

PENDAHULUAN

Salah satu prosedur alternatif yang dianjurkan dalam perakitan varietas baru adalah dengan terlebih dahulu membuat galur murni melalui induksi individu haploid ganda spontan (*spontaneous doubled haploid/dihaploid*) atau dengan jalan menggandakan kromosom dari individu haploid. Galur-galur haploid ganda spontan dan tanaman haploid dapat diperoleh melalui salah satu prosedur bioteknologi, yaitu teknik kultur *in-vitro* antera (Dewi *et al.*, 1996; Masyhudi, 1994).

Tanaman haploid pada kultur antera padi umumnya diperoleh melalui proses androgenesis atau embriogenesis tak langsung, yaitu kaulogenesis yang terdiri atas tahap induksi butir tepung sari menjadi embrioid atau kalus dan tahap diferensiasi kalus menjadi tanaman kecil (*plantlet*). Tanaman haploid ganda dapat diperoleh secara spontan dari kultur atau diinduksi dari tanaman haploid melalui pemangkasan (*ratooning*) dan pemberian 0.1-0.3% kolkisin (Chung, 1992; Rush, 1981). Untuk memperoleh galur tanaman

haploid ganda dengan keragaman genetik dan sifat-sifat agronomis yang diinginkan, maka tanaman dengan heterozigositas tinggi (F1 atau F2 yang sudah diseleksi) dapat digunakan sebagai sumber antera (Dewi dan Purwoko, 2001). Dengan kultur antera tanaman haploid ganda homozigos (galur murni) dari tanaman heterozigos segera dapat diperoleh pada generasi pertama. Permasalahan dalam kultur antera tanaman serealialia seperti padi, jagung, dan gandum, ialah rendahnya regenerasi tanaman hijau. Hal ini dapat disebabkan oleh diregenerasikannya tanaman albino atau tidak adanya regenerasi tanaman (Zapata *et al.*, 1983).

Poliamin telah dilaporkan sebagai zat pengatur tumbuh yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, mulai dari perkecambahan biji sampai senesen (Kumar *et al.*, 1997; Walden *et al.*, 1997). Peran poliamin dalam somatik embriogenesis dan regenerasi tanaman telah diteliti pada kultur jaringan wortel dan jagung (Feinberg *et al.*, 1984; Feirer *et al.*, 1984; Santos *et al.*, 1995). Poliamin yang umum ditemukan pada tanaman adalah putresin (butan-1, 4-

¹ Balai Besar Litbang Bioteknologi dan SDG Pertanian, Bogor (*Penulis untuk korespondensi)

² Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura Faperta IPB

diamin), spermidin [N-(3-aminopropil) butan-1,4-diamin] dan spermin [NN'-bis-(3-aminopropil) butan-1,4-diamin]. Putresin merupakan prekursor untuk sintesis spermidin dan spermin berturut-turut lewat penambahan satu dan dua gugus aminopropil. Hasil penelitian Ponce *et al.* (2002), menunjukkan bahwa konsentrasi endogen putresin diduga merupakan faktor pembatas pertumbuhan dalam kultur embrio anggur, sehingga untuk meningkatkan pertumbuhan dianjurkan memberi putresin ke dalam media.

Penelitian Dewi *et al.* (2004) menunjukkan bahwa pemberian 10^{-3} M putresin pada media induksi kalus kultur antera padi Taipei 309 diketahui dapat meningkatkan induksi kalus sebanyak tiga kali lipat dibandingkan media tanpa putresin. Demikian juga penelitian Dewi *et al.* (2006) menunjukkan bahwa aplikasi putresin 10^{-3} M berhasil meregenerasikan tanaman hijau pada kultur antera padi indica yang biasanya sukar meregenerasikan tanaman hijau atau rekalsitran *in-vitro*.

Tujuan penelitian ini ialah untuk mempelajari perlakuan putresin pada tahap kultur tertentu yang lebih efektif dalam meningkatkan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera model sistem F1 persilangan resiprok padi Taipei 309 x Asemandi.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan ialah antera tanaman padi dari persilangan resiprok (F1) antara Taipei 309 (padi subsp. japonica) dengan Asemandi (padi subsp. javanica). Rancangan percobaan yang digunakan ialah rancangan faktorial dengan 20 ulangan. Setiap ulangan terdiri atas satu cawan petri berisi ± 150 antera yang berasal dari 25 buah bulir bunga (*spikelet*). Faktor pertama ialah persilangan resiprok (F1) antara Taipei 309 dengan Asemandi. Faktor kedua ialah aplikasi putresin pada media yang terdiri atas: M0 atau kontrol (media induksi N6 dan media regenerasi MS); M1: media induksi N6, media regenerasi MS + 10^{-3} M putresin; M2: media induksi N6 + 10^{-3} M putresin; media regenerasi MS; dan M3: media induksi N6 + 10^{-3} M putresin, media regenerasi MS + 10^{-3} M putresin. Media induksi kalus ialah media N6 yang diberi NAA 2.0 mg/l dan Kinetin 0.5 mg/l, sedangkan media regenerasi ialah media MS yang diberi NAA 0.5 mg/l dan Kinetin 2.0 mg/l.

Pelaksanaan kultur antera mengikuti metode Dewi *et al.* (1994). Malai berisi antera dikoleksi pada saat fase bunting, kemudian disimpan selama 8 hari dalam ruang bersuhu 5 °C. Sebelum dilakukan inokulasi/penanaman antera dilakukan seleksi pada malai untuk mendapatkan antera yang berisi butir

sari/mikrospora uninukleat. Malai terpilih disterilkan dengan 20% Bayclin. Spikelet yang sudah steril dipotong 1/3 dari pangkalnya dan dikumpulkan pada cawan petri steril. Masing-masing spikelet kemudian dijepit dengan pinset dan diketukkan pada tepi cawan petri yang berisi 25 ml media induksi kalus, sampai antera keluar dan jatuh ke atas media. Selanjutnya kultur diinkubasi di ruang gelap (25 ± 2 °C) untuk menginduksi kalus dari butir sari di dalam antera. Kalus bertekstur kompak ukuran 1-2 mm (Sasmitha *et al.*, 2001) dipindahkan ke dalam botol kultur yang berisi 25 ml media regenerasi. Tanaman hijau yang mencapai tinggi 3-5 cm dipindahkan ke dalam tabung kultur berisi 15 ml media perakaran, yaitu MS + 0.5 mg/l IBA. Setelah akar tumbuh sempurna, tanaman sudah siap untuk diaklimatisasi. Pengamatan meliputi: jumlah antera yang diinokulasi, jumlah antera yang membentuk kalus, jumlah kalus yang terbentuk, jumlah kalus yang menghasilkan tanaman, jumlah tanaman, jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efisiensi metode kultur antera dalam menghasilkan tanaman hijau menentukan kegunaan teknik ini dalam pemuliaan tanaman dan studi genetik. Zhou (1996) menyatakan bahwa produksi tanaman haploid dari kultur antera tergantung pada empat faktor, yaitu: (1). Induksi kalus atau embroid dari mikrospora atau pollen, (2). Regenerasi tanaman dari kalus atau embrioid, (3). Persentase tanaman hijau, dan (4). Penggandaan kromosom, baik secara spontan atau diinduksi oleh kolkisin.

Induksi kalus dan regenerasi tanaman dipengaruhi terutama oleh kultur teknik, walaupun keduanya ada di bawah kontrol genetik. Frekuensi induksi kalus dan pembentukan tanaman hijau dikendalikan oleh banyak gen (gen minor/poligenik). Bila dihubungkan dengan kemampuan meregenerasikan tanaman melalui kultur antera (*anther culturability*), jumlah regenerasi tanaman hijau dikendalikan oleh satu region dari kromosom 10, sedangkan pembentukan kalus dikendalikan oleh satu region dari kromosom 1 (Yamagishi *et al.*, 1998). Oleh karena itu, genotipe tanaman donor mempunyai peran penting dalam menentukan frekuensi produksi tanaman melalui kultur antera (Chung, 1992).

Pada penelitian ini, analisis statistik menunjukkan adanya interaksi antara perlakuan poliamin pada media dengan jenis persilangan terhadap jumlah antera menghasilkan kalus, jumlah kalus total, jumlah kalus menghasilkan tanaman, jumlah tanaman hijau, jumlah tanaman albino, dan persentase jumlah tanaman hijau terhadap jumlah antera yang diinokulasi (Tabel 1).

Tabel 1. Interaksi antara persilangan dengan media kultur antera terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman

Peubah	Persilangan	Media			
		Kontrol	Regenerasi + Putresin	Induksi + Putresin	Induksi + Putresin Regenerasi + Putresin
AMK	Asemandi x Taipei 309	17.3 b	18.9 b	25.6 a	24.6 a
	Taipei 309 x Asemandi	16.3 b	17.8 b	16.5 b	18.8 b
JK	Asemandi x Taipei 309	42.7 d	45.8 cd	87.0 a	80.5 a
	Taipei 309 x Asemandi	57.3 bcd	62.5 bc	55.2 cd	73.6 ab
KMT	Asemandi x Taipei 309	2.4 d	2.6 d	3.4 d	3.3 d
	Taipei 309 x Asemandi	13.7 b	17.5 a	10.0 c	20.2 a
TH	Asemandi x Taipei 309	3.2 d	3.5 cd	4.1 cd	4.2 bcd
	Taipei 309 x Asemandi	4.5 bc	5.3 ab	3.8 cd	6.1 a
TA	Asemandi x Taipei 309	3.8 e	3.7 e	5.3 bcd	4.8 de
	Taipei 309 x Asemandi	6.0 bc	6.5 ab	4.9 cde	7.3 a
% TH/A	Asemandi x Taipei 309	2.8 d	3.0 d	3.5 cd	3.6 cd
	Taipei 309 x Asemandi	4.4 bc	4.8 ab	3.6 cd	5.8 a

Keterangan : AMK= Jumlah Antera Menghasilkan Kalus; JK= Jumlah Kalus; KMT=Jumlah Kalus Menghasilkan Tanaman; TH= Jumlah Tanaman Hijau; TA= Jumlah Tanaman Albino. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada peubah yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%.

Pembentukan Kalus dari Mikrospora pada Kultur antera Padi

Tanaman yang dihasilkan melalui metode kultur antera pada penelitian ini diperoleh secara tidak langsung, yaitu melalui tahap pembentukan kalus yang disebut peristiwa caulogenesis. Peristiwa tersebut juga dinamakan androgenesis, karena eksplan yang diinduksi merupakan sel kelamin jantan (Palmer dan Keller, 1997). Pembentukan kalus dari mikrospora yang terdapat dalam antera melibatkan pembelahan asimetrik normal, tetapi produk mitosis tersebut berfusi membentuk inti diploid tunggal yang kemudian terus membelah membentuk embrioid. Hal ini membuka peluang terjadinya tanaman haploid ganda spontan pada datura dan padi (Zaki dan Dickinson, 1992).

Pada peubah jumlah antera menghasilkan kalus (AMK) tampak bahwa media induksi dan regenerasi yang diberi putresin atau media induksi saja yang diberi putresin dapat meningkatkan jumlah antera yang menghasilkan kalus pada kultur antera F1 persilangan Asemandi x Taipei 309 (Tabel 1). Jumlah antera menghasilkan kalus pada media kontrol adalah 17.3 antera per petri, sedangkan pada perlakuan media induksi diberi putresin dan media induksi dan regenerasi keduanya diberi putresin berturut-turut 25.6 dan 24.6 antera per petri. Sebaliknya, pada media tersebut, kultur antera F1 persilangan resiproknnya, yaitu F1 Taipei 309 x Asemandi tidak memberikan peningkatan jumlah antera menghasilkan kalus.

Pada kultur antera F1 persilangan Asemandi x Taipei 309, media induksi diberi putresin atau media induksi dan regenerasi diberi putresin dapat meningkatkan jumlah kalus dua kali lipat dibandingkan

kontrol. Sementara, pada kultur antera F1 persilangan resiproknnya, yaitu F1 Taipei 309 x Asemandi peningkatan jumlah kalus hanya dijumpai pada media induksi dan regenerasi yang diberi putresin (Tabel 1), yaitu dari 57.3 kalus per petri pada kontrol menjadi 73.6 kalus per petri. Hal ini sejalan dengan penelitian Dewi *et al.* (2004) yang menunjukkan bahwa dibandingkan poliamin lain, seperti spermidin dan spermin, pemberian putresin pada media induksi kalus meningkatkan jumlah kalus yang terbentuk pada kultur antera padi, karena putresin berpengaruh dalam proses pembelahan sel. Dengan adanya peningkatan produksi kalus, maka peluang untuk mendapatkan tanaman hijau akan lebih besar. Peningkatan regenerasi tanaman hijau amat penting, karena jumlah tanaman hijau yang banyak akan mempercepat atau memperbesar kemungkinan untuk memperoleh galur murni yang diinginkan.

Regenerasi Tanaman dari Kalus Hasil Kultur Antera Padi

Pada padi, terdapat perbedaan yang nyata dalam regenerasi tanaman hijau baik diantara genotipe maupun diantara subspecies (Zhou, 1996). Menurut Yamagishi *et al.* (1998) *anther culturability* pada padi (*Oryza sativa* L.) merupakan sifat kuantitatif yang dikendalikan oleh genome inti, sedangkan menurut Niizeki (1997) penyebab terjadinya perbedaan dalam *anther culturability* antar subspecies padi adalah akibat perbedaan kandungan asam amino alanin pada antera. Pada subspecies indica kandungan asam amino alaninnya lebih rendah dibandingkan subspecies yang lain. Oleh karena itu, istilah *high anther culturability*

mengacu pada genotipe padi yang mudah menghasilkan tanaman hijau (Chung, 1992).

Meskipun jumlah kalus pada kultur antera F1 persilangan Asemandi x Taipei 309 dapat ditingkatkan dengan pemberian putresin, tetapi penambahan putresin tersebut pada berbagai tahap media kultur tidak dapat meningkatkan jumlah kalus menghasilkan tanaman (Tabel 1). Sebaliknya pada kultur antera F1 persilangan resiproknya, yaitu F1 Taipei 309 x Asemandi, pemberian putresin pada media regenerasi saja atau media induksi dan regenerasi dapat meningkatkan jumlah kalus menghasilkan tanaman, yaitu dari 13.7 kalus pada kontrol menjadi berturut-turut 17.5 dan 20.2 kalus per petri.

Pola yang hampir sama terjadi pada peubah jumlah tanaman hijau (Tabel 1). Pada kultur antera F1 persilangan Asemandi x Taipei 309, penambahan putresin baik pada media induksi saja atau regenerasi saja atau pada media induksi dan regenerasi tidak meningkatkan jumlah tanaman hijau secara nyata (walaupun terjadi penambahan sampai satu tanaman per petri). Sementara pada kultur antera F1 persilangan resiproknya, yaitu F1 Taipei 309 x Asemandi, pemberian putresin pada media induksi dan regenerasi nyata meningkatkan jumlah tanaman hijau dari 4.5 tanaman pada kontrol menjadi 6.1 tanaman per petri atau terjadi peningkatan lebih dari 35%.

Pada kultur antera F1 persilangan Asemandi x Taipei 309, pemberian putresin pada media induksi atau pada media induksi dan regenerasi telah meningkatkan jumlah tanaman albino, meskipun perbedaannya hanya antara 1.0 sampai 1.5 tanaman petri). Oleh karena itu pemberian putresin dapat meningkatkan jumlah tanaman total, tetapi tidak dapat menghilangkan

albinisma. Hal ini disebabkan albinisma bukan hanya dipengaruhi oleh kondisi fisiologis (komposisi media, suhu inkubasi, intensitas cahaya) kultur saja tetapi juga oleh genotipe tanaman (Chung, 1992).

Persentase tanaman hijau terhadap jumlah antera diinokulasi menunjukkan adanya interaksi antara faktor persilangan dengan jenis media (Tabel 1). Peubah ini menunjukkan efisiensi sistem, yaitu antara media dan tahap kultur dimana putresin diberikan. Pada kultur antera F1 persilangan Asemandi x Taipei 309 pemberian putresin pada media induksi saja atau pada media regenerasi saja atau pada media induksi dan regenerasi tidak dapat meningkatkan persentase tanaman hijau terhadap jumlah antera diinokulasi. Sementara, pada kultur antera F1 hasil persilangan resiproknya, yaitu F1 Taipei 309 x Asemandi, pemberian putresin pada media induksi dan regenerasi justru dapat meningkatkan persentase tanaman hijau terhadap jumlah antera diinokulasi dari 4.4% pada kontrol menjadi 5.8%.

Bila ditinjau dari faktor tunggal, terdapat perbedaan pada peubah rasio tanaman hijau per kalus menghasilkan tanaman antara kultur antera F1 persilangan Asemandi x Taipei dengan persilangan Taipei x Asemandi, tetapi media yang berbeda tidak berpengaruh terhadap rasio tanaman hijau per kalus menghasilkan tanaman (Tabel 2). Selain itu tampak persilangan resiprok memberikan tanggap yang berbeda dalam persentase kalus yang menghasilkan tanaman dan jumlah tanaman total, yaitu pada media induksi dan regenerasi yang diberi putresin persentase antera menghasilkan kalus dan jumlah tanaman total meningkat (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh persilangan dan aplikasi putresin terhadap induksi kalus dan regenerasi tanaman pada kultur antera padi

Perlakuan	AMK		Kalus			Tanaman						
	Jumlah	% AMK ¹	Total	KMT	% KMT ¹	Total ¹	TH	TA	% TH ¹	% TA ¹	Rasio TH per KMT	% TH/A
Persilangan												
Asemandi x Taipei 309	21.5 a	15.4	63.3 a	2.9 b	4.6	8.2	3.8 b	4.4 b	46.3	53.7	1.3 a	2.72 b
Taipei 309 x Asemandi	17.3 b	15.3	62.2 a	15.4 a	24.6	11.1	4.9 a	6.2 a	44.1	55.9	0.3 b	4.33 a
Pemberian Putresin												
Kontrol	16.8 b	13.4	50.0 b	8.1 bc	16.2	8.8	3.9 b	4.9 b	44.3	55.7	0.5 a	3.12 b
Regenerasi +Putresin	18.3 ab	14.4	54.2 b	10.0 ab	18.5	9.5	4.4 ab	5.1 ab	46.3	53.7	0.4 a	3.45 b
Induksi + Putresin	21.0 ab	16.4	69.6 a	6.7 c	9.6	9.1	4.0 b	5.1 ab	44.0	56.0	0.6 a	3.12 b
Induksi + Putresin, Regenerasi + Putresin	21.7 a	17.3	77.1 a	11.7 a	15.2	11.3	5.2 a	6.1 a	46.0	54.0	0.5 a	4.15 a
Interaksi	*	-	*	*	-	-	*	*	-	-	tn	*

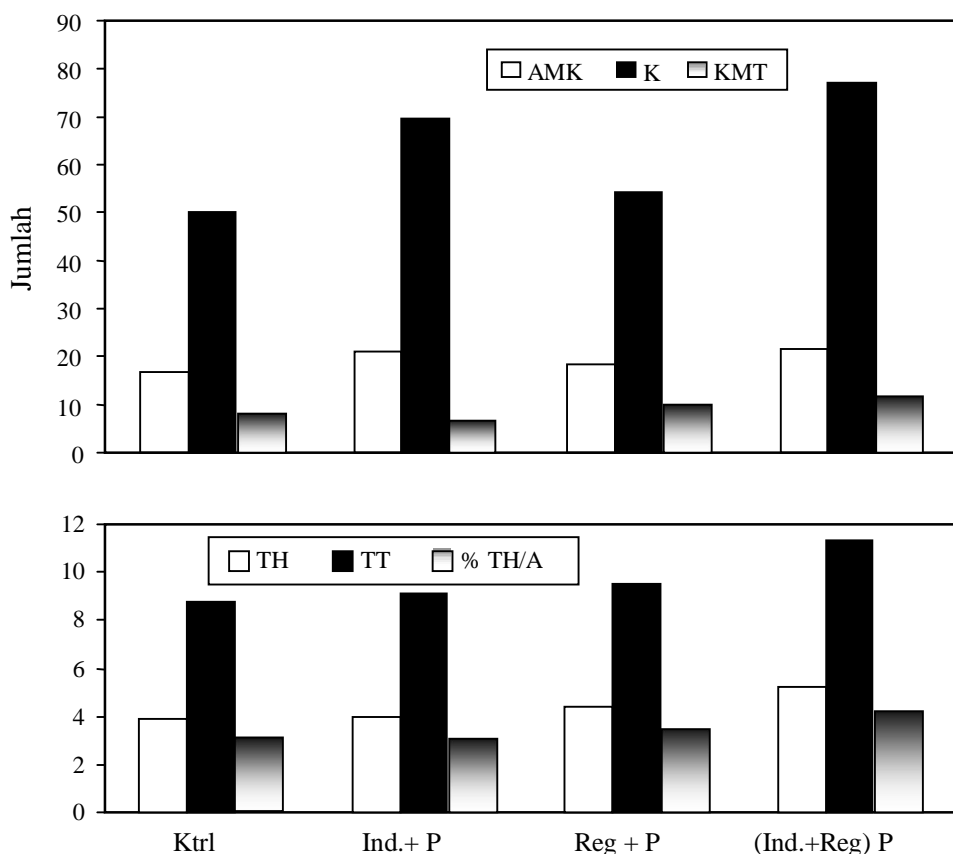
Keterangan : AMK = Antera Menghasilkan Kalus; KMT= Kalus Menghasilkan Tanaman; TH = Tanaman Hijau; TA = Tanaman Albino; Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan peubah yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%; ¹ = tidak diuji statistik; ; Tanda * = berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%; tn = tidak berbeda nyata

Dengan demikian, hasil percobaan ini memperkuat laporan sebelumnya mengenai latar belakang genetik tetua yang mempengaruhi induksi kalus dan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi (Chung, 1992; Dewi *et al.*, 1994). Taipei 309 ialah padi subspecies *japonica*, sedangkan Asemandi subspecies *javanica*. Padi *japonica* lebih responsif dalam kultur antera dibandingkan *javanica*, sehingga padi subspecies *japonica* disebut mempunyai *high antherculturability* (Chung, 1992; Zapata *et al.*, 1983).

Lebih lanjut hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya pengaruh tetua betina dalam induksi dan regenerasi tanaman sebagaimana telah dilaporkan sebelumnya oleh Niizeki (1997) dan Sasmita *et al.* (2002). Pada Tabel 1, tampak tanggap tanaman F1 yang tetua betinanya Taipei 309 lebih baik dibandingkan Asemandi. Pemberian putresin di media induksi kalus dan media regenerasi pada kultur antera model

persilangan padi (F1) Taipei 309 x Asemandi memberikan jumlah tanaman hijau terbanyak dibandingkan perlakuan putresin pada media induksi saja atau media regenerasi saja atau pada media tanpa putresin (kontrol). Nilai tersebut lebih baik jika dibandingkan kultur antera model persilangan padi F1 Asemandi x Taipei 309.

Pada kultur antera model Persilangan (F1), pemberian 10^{-3} M putresin di media induksi kalus dan regenerasi tanaman memberikan nilai terbaik dalam jumlah antera menghasilkan kalus, jumlah kalus, jumlah kalus menghasilkan tanaman, jumlah tanaman hijau dan tanaman total serta persentase tanaman hijau terhadap jumlah antera yang diinokulasi dibandingkan perlakuan putresin pada media induksi saja atau media regenerasi saja atau pada media tanpa putresin (Gambar 1).



Gambar 1. Pengaruh putresin di media kultur antera terhadap pembentukan kalus dan regenerasi tanaman hijau

Keterangan : AMK = Antera Menghasilkan Kalus; K = Kalus; KMT = Kalus Menghasilkan Tanaman; TH = Jumlah Tanaman Hijau; TT = Jumlah Tanaman Total; % TH/A = Persentase Tanaman Hijau terhadap jumlah antera yang diinokulasi; Ktrl. = Kontrol (tanpa putresin); Ind + P = putresin pada media induksi saja; Reg. + P = putresin pada media regenerasi saja; (Ind. + Reg.) + P = putresin pada media induksi dan regenerasi

KESIMPULAN

Pemberian 10^{-3} M putresin terbaik ialah ke dalam media induksi kalus dan regenerasinya. Peningkatan jumlah dan persentase antera yang dapat menghasilkan kalus sebesar 1.3 kali, pembentukan kalus sebesar 1.5 kali, kalus yang dapat menghasilkan tanaman sebesar 1.4 kali, jumlah tanaman hijau sebesar 1.3 kali dan tanaman total sebesar 1.3 kali. Keefisienan kultur antera yang berdasarkan rasio tanaman hijau terhadap jumlah antera yang ditanam juga meningkat sebesar 1.3 kali. Pada cara aplikasi putresin terbaik tersebut, persilangan Taipei 309 x Asemendi memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan persilangan Asemendi x Taipei 309. Pengaruh maternal tampak pada peningkatan persentase kalus yang menghasilkan tanaman (6.1 kali), jumlah tanaman hijau (1.5 kali), dan rasio tanaman hijau terhadap jumlah antera yang ditanam (1.6 kali).

DAFTAR PUSTAKA

- Chung, G.S. 1992. Anther culture for rice improvement in Korea. *In* K Zheng, T Murashige (eds.). Anther Culture for Rice Breeders. Seminar and Training for Rice Anther Culture at Hangzhou, China, p. 8 – 37.
- Dewi, I.S., A.D. Ambarwati, M.F. Masyhudi, T. Soewito, Suwarno. 1994. Induksi kalus dan regenerasi kultur antera padi (*Oryza sativa* L.). Risalah Hasil Penelitian Tanaman Pangan 2: 136 – 143.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko. 2001. Kultur antera untuk mendukung program pemuliaan tanaman padi. *Bul. Agron.* 29(2): 59-63.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, I.H. Somantri. 2004. Kultur antera padi pada berbagai media mengandung poliamin. *J. Biotek. Pertan.* 9(1): 14-19.
- 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(1): 30-35.
- Dewi, I.S., I. Hanarida, S. Rianawati. 1996. Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia. *Indon. Agric. Res. And Dev. J.* 18 : 51-56.
- Feinberg, A.A., J.H. Choi, W.P. Lubich, Z.R. Sung. 1984. Developmental regulation of polyamine metabolism in growth and differentiation of carrot culture. *Planta.* 162: 532-539.
- Feirer, R.P., G. Mignon, J.D. Litvay. 1984. Arginine decarboxylase and polyamines required for embryogenesis in the wild carrot. *Science* 223: 1433-1455.
- Kumar, A., T. Altabella, M.A. Taylor, A.F. Tiburcio. 1997. Recent advances in polyamine research. *Trends in Plant Sci.* 2: 124-130.
- Masyhudi, M.F. 1994. Kultur antera tanaman padi. *Bull. Penel. Puslitbangtan* 9: 18-37.
- Niizeki, H. 1997. Anther (Pollen Culture). Chapt. I. Tissue Culture. *In* Div. III. Biotechnology and Genetic Resources. *In* T Matsuo, Y Futsuhara, F Kikuchi, H Yamaguchi (eds.) Science of the Rice Plant. Vol. 3. Genetics. Food and Agriculture Policy Research Center. Tokyo. Japan, pp. 691-705.
- Palmer, C.E., W.A. Keller. 1997. Pollen embryos. p. 392-422. *In* K.R. Shivanna and V.K. Sawhney (eds.). Pollen Biotechnology for Crop Production and Improvement. Cambridge Univ. Press. UK.
- Ponce, M.T., M.E. Guinazu, R. Tizio. 2002. Improved in vitro embryo development of stenopermic grape by putrescine. *Biocell.* 26(2): 263-266.
- Rush, M.C. 1981. Selected methods for use in rice anther and pollen culture. Paper presented at the Tissue Culture Workshop. Dacca, Bangladesh. March 9-14, 1981.
- Santos, M., N. Boget, J.M. Torne. 1995. Endogenous polyamine content during *in-vivo* maturation and *in-vitro* culture of maize pollen. *Plant Growth Regul.* 16: 19-26.
- Sasmita, P., B.S. Purwoko, S. Sujiprihati, I. Hanarida. 2002. Kultur antera padi gogo hasil persilangan kultivar dengan galur toleran naungan. *Hayati.* 9: 89-93.
- Sasmita, P., I.S. Dewi, B.S. Purwoko. 2001. Pengaruh generasi kalus terhadap regenerasi tanaman pada kultur antera padi (*Oryza sativa* L.) kultivar Gajah Mungkur. *Sain Teks (edisi Khusus):* 179-188.
- Walden, R., A. Coerdeiono, A.F. Tiburcio. 1997. Polyamines: small molecules triggering pathways in plant growth and development. *Plant Physiol.* 113: 1009-1013.
- Yamagishi, M., M. Otani, M. Higashi, Y. Fukuta, K. Fujui, M. Yano, T. Shimada. 1998. Chromosomal regions controlling anther culturability in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica.* 103: 227-234.

- Zaki, M.A., H.G. Dickinson. 1992. Gene expression during microsporogenesis. p. 17- 29. *In* M. Cresti and A. Trezzi (*eds.*). Sexual Plant Propagation. Springer-Verlag. UK.
- Zapata, F.J., G.S. Khush, J.P. Crill, M.H. Neu, R.O. Romero, L.B. Torrizo, M. Alejar. 1983. Rice anther culture at IRRI. *In* Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Proceedings of a workshop co-sponsored by the Institute of Genetics, Academia Sinica and the International Rice Research Institute. Science Press, Beijing, China, pp. 27-46.
- Zhou, H. 1996. Genetics of green plantlet regeneration from anther culture of cereals. p. 169-187. *In* Jain, S.M., S.K. Sopory, and R.E. Veilleux (*eds.*). In Vitro Haploid Production in Higher Plants. Vol. 2. Applications. Kluwer Acad. Publ. Netherlands.