

# PEMBENTUKAN TANAMAN PADI HAPLOID GANDA TAHAN PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI (HDB) dan TOLERAN KERACUNAN Fe MENGGUNAKAN PADI LOKAL INDONESIA

## *Development Of Double Haploid Rice Lines Resistant To Bacterial Leaf Blight (blb) And Fe Toxicity Tolerance Using The Indonesian Landraces*

MARJAM M. TODING  
Universitas Sam Ratulangi

### Abstrak

Aksesi-aksesi plasma nutfah padi lokal Indonesia yang sejak lama telah dibudidayakan para petani memiliki alel-alel potensial yang dapat dimanfaatkan. Beberapa aksesi plasma nutfah padi lokal terpilih berdasarkan hasil penelitian allele mining adalah Parekaligolara (*Indica*, IRN: 1541) yang diketahui memiliki alel gen ketahanan terhadap patogen Hawar Daun Bakteri/HDB, Xa7, dan Markuti (*Indica*, IRN: 5754) yang memiliki alel gen toleran keracunan Fe, OsIRT. Plasma nutfah tersebut telah digunakan sebagai material genetik dalam persilangan ganda (IR54/Parekaligolara//Bio110/Markuti: pada pembentukan galur-galur harapan padi baru toleran cekaman biotik (tahan penyakit HDB) dan abiotik (toleran keracunan Fe). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan populasi padi sawah haploid ganda yang memiliki gen ketahanan penyakit hawar daun bakteri (HDB) dan toleran keracunan Fe melalui metode kultur antera dan uji seleksi marka molekuler SSR. Pembentukan populasi haploid ganda tahan HDB dan toleran keracunan Fe melalui teknik kultur antera dengan seleksi marka molekuler SSR. Marka-marka yang digunakan untuk ketahanan HDB, Xa7 adalah RM20589, RM20590, RM20591, Xa7-LD34 dan Xa7-LD40, dan untuk toleran keracunan Fe adalah OsIRT1 dan OsIRT2. Sifat ketahanan terhadap penyakit HDB, strain IV pada populasi ini dikendalikan oleh lebih dari satu gen dominan, sedangkan keragaan genotipe menunjukkan bahwa marka Xa7-LD40 adalah marka yang bersifat ko-segregasi terhadap sifat ketahanan terhadap strain IV. Pada pembentukan tanaman haploid ganda tahan HDB dari 50 tanaman yang diuji menunjukkan 10 tanaman tahan, 25 tanaman agak tahan, dan 15 tanaman peka. Tanaman haploid ganda yang toleran keracunan Fe terdapat 25 tanaman yang toleran, 12 tanaman yang medium toleran (sedang), dan 13 tanaman yang rentan.

**Kata kunci:** Haploid Ganda marka, marka gen Xa7, marka gen OsIRT1, kultur antera.

### Abstrak

*The accessions of Indonesia local rice germplasm which has long been cultivated by farmers has the potential alleles that can be utilized. Some local rice germplasm accessions was selected based on allele mining research is Parekaligolara (Indica, IRN 1541) with known resistance genes to pathogenic allele Bacterial Leaf Blight (BLB), Xa7 and Markuti (Indica, IRN: 5754) which has poisoned tolerant gene alleles Fe, OsIRT. Germplasm has been used as genetic material in a double cross IR54/Parekaligolara//Bio110/Markuti. The formation strains the hope new rice tolerant to biotic (BLB disease resistance) and abiotic (Fe toxicity tolerance). The purpose of this study was to obtain double haploid population of rice that has resistance gene of bacterial leaf blight and Fe toxicity tolerance through anther culture method and SSR molecular marker selection test. Formation of double haploid population for BLB resistance through anther culture technique with SSR molecular marker selection. Marker are used for BLB resistance is : RM20589, RM20590, RM20591, Xa7-LD34 dan Xa7-LD40, and tolerant to Fe toxicity is OsIRT1 and OsIRT2. BLB disease resistant trait is controlled by more than one dominant gene. Where as the genotype performance showed that the marker Xa7-LD40 as co-segregation marker with resistance trait. In the formation of double haploid plants BLB resistance of 50 plants tested showed 10 resistance plants, 25 medium resistance plants, 15 susceptible plant. Double haploid plants are tolerant to Fe toxicity there are 25 plants resistant, 12 plants medium tolerant and 13 plants sensitive.*

**Key word:** Haploid ganda, Xa7 genes marker, OsIRT1 gene marker, anthera culture.

### Pendahuluan

Bagi masyarakat Indonesia, tanaman padi merupakan tanaman budidaya terpenting, karena tanaman padi merupakan penghasil beras yang menjadi makanan pokok utama hampir seluruh penduduk Indonesia. Oleh karenanya, tanaman padi atau berasnya, menjadi faktor penentu kestabilan ekonomi dan politik nasional.

Beras sebagai hasil panen padi merupakan makanan pokok bagi penduduk Indonesia dan sebagian besar dunia. Beras adalah gabah yang bagian kulitnya telah dibuang dengan cara digiling sehingga yang tertinggal hanya bulir gabahnya. Bulir gabah yang telah melalui penggilingan tersebut adalah bagian endosperm yang merupakan bagian utama butir beras. Kandungan gizi beras didominasi oleh pati dan mengandung protein, vitamin, mineral, dan air, walaupun demikian beras masih memiliki kandungan gizi yang lengkap dan mencukupi kebutuhan nutrisi

harian (USDA, 2009).

Sebagai negara konsumen beras terbesar di dunia, Indonesia membutuhkan beras yang banyak dan setiap tahun permintaannya semakin meningkat seiring dengan semakin tingginya angka pertumbuhan penduduk. Oleh karena itu penyediaan beras, dalam jumlah yang cukup tetap menjadi prioritas utama dalam pembangunan nasional.

Tabel . Kandungan nutrisi beras menurut USDA Tahun 2009

| No. | Kandungan Nutrisi beras per 100 g |                    |    |                              |               |
|-----|-----------------------------------|--------------------|----|------------------------------|---------------|
| 1   | Energi                            | 1.527 kJ(365 kkal) | 11 | Pantothenic(B <sub>5</sub> ) | 1,014mg(20%)  |
| 2   | Karbohidrat                       | 79 g               | 12 | Vit B <sub>6</sub>           | 0,164mg(13%)  |
| 3   | Gula                              | 0,12 g             | 13 | Folate(B <sub>9</sub> )      | 8 μg(20%)     |
| 4   | Serat pangan                      | 1,3 g              | 14 | Calcium                      | 28 mg (3%)    |
| 5   | Lemak                             | 0,66 g             | 15 | Iron                         | 0,80 mg (6%)  |
| 6   | Protein                           | 7,13 g             | 16 | Magnesium                    | 25 mg (7%)    |
| 7   | Air                               | 11,62 g            | 17 | Phosphor                     | 115mg (16%)   |
| 8   | Thiamin(B <sub>1</sub> )          | 0,070 mg (5%)      | 18 | Mangan                       | 1,088mg(54%)  |
| 9   | Riboflavin(B <sub>2</sub> )       | 0,049 mg (3%)      | 19 | Potasium                     | 115mg (2%)    |
| 10  | Niacin(B <sub>3</sub> )           | 1,6 mg(11%)        | 20 | Zinc                         | 1,09 mg (11%) |

Sumber : USDA, 2009.

Sejalan dengan hal di atas upaya peningkatan produksi beras terus dilakukan, mengingat laju pertumbuhan penduduk meningkat dari 237,6 juta jiwa pada tahun 2010 menjadi 241 juta jiwa tahun 2011 dan ketersediaan beras belum mampu mencukupi kebutuhan dalam negeri. Hal tersebut disebabkan oleh terjadinya peningkatan luas areal yang stagnan, serta akibat adanya alih fungsi lahan pertanian dari lahan-lahan pertanian ke lahan-lahan non pertanian. Luas lahan pertanian tanaman padi tahun 2010 tercatat 13,25 juta ha diperkirakan turun menjadi 13 juta ha tahun 2011 (Berita Resmi Statistik, 2011).

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) ARAM III produksi gabah pada tahun 2011 mencapai 65,39 juta t gabah kering giling (GKG) atau setara dengan 37 juta t beras (Berita Resmi Statistik, 2011). Konsumsi per kapita beras 113 kg per orang per tahun dan total konsumsi beras nasional per tahun 27 juta t. Dalam periode tahun 2000-2010, walaupun produksi gabah meningkat dari 49,4 juta t pada tahun 2000 menjadi 58,4 juta t pada tahun 2010, namun hal itu belum cukup untuk memenuhi kebutuhan yang meningkat. Ketidakseimbangan produksi padi dengan tingkat konsumsi beras nasional terjadi akibat besarnya jumlah penduduk Indonesia dengan laju pertumbuhan penduduk sekitar 1,7% per tahun. Kekurangan produksi nasional terpaksa dipenuhi melalui impor (Hutapea et al., 2010).

Sementara itu, upaya untuk mencapai produksi gabah yang optimal, menghadapi berbagai permasalahan di antaranya adalah cekaman faktor biotik berupa serangan berbagai organisme pengganggu tanaman (OPT) seperti wereng coklat, penggerek batang padi, tikus sawah, penyakit blas, penyakit busuk batang, penyakit hawar daun bakteri, dan tungro. Salah satu penyakit yang banyak menyerang tanaman padi adalah penyakit Hawar Daun Bakteri (HDB) yang dapat menyebabkan kehilangan produksi sampai 50 %–70 % akibat pengisian gabah terhambat sehingga gabah hampa meningkat (Kadir et al., 2009).

Serangan penyakit hawar daun bakteri terus meningkat dari waktu ke waktu akibat perubahan patotipe *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (Xoo) di lapangan (Ou, 1973). Pergeseran strain tersebut menyebabkan upaya penanggulangannya menjadi sulit. Masalahnya, strain yang tidak menonjol suatu ketika akan menonjol ketika mendapatkan inang yang cocok (Yamamoto et al., 1977). Penggunaan varietas padi tahan dalam menanggulangi penyakit HDB masih terus dikembangkan karena cukup efektif dan efisien, aman, murah dan tidak mencemari lingkungan.

Selain cekaman biotik, tanaman padi juga menghadapi cekaman abiotik. Secara global cekaman abiotik yang dominan adalah kekeringan, salinitas yang tinggi, dan kekurangan atau kelebihan unsur-unsur hara. Salah satu cekaman abiotik pada lahan-lahan marginal yang bersifat asam, yaitu keracunan Fe yang dapat menurunkan tingkat produksi tanaman padi antara 60% - 90% (Suhartini et al., 1992).

Berbagai teknologi telah tersedia untuk meningkatkan produksi padi pada lahan keracunan Fe,

di antaranya melalui perbaikan drainase, pemupukan berimbang, penambahan bahan organik/jerami dan pengapuran (Suhartini et al., 1992). Penggunaan varietas toleran dipandang sebagai cara yang paling efisien sehingga dapat meningkatkan produksi. Pemuliaan tanaman padi dapat diarahkan pada peningkatan produksi padi dan perakitan kultivar yang tahan terhadap serangan penyakit dan toleran Fe pada tanah-tanah marginal dan tanah-tanah masam. Peningkatan produksi padi di lahan marginal dapat diusahakan melalui program intensifikasi yang salah satu alternatif diantaranya adalah melalui penggunaan kultivar tahan terhadap penyakit, dan kultivar yang toleran terhadap keracunan Fe.

Perakitan kultivar tanaman melalui pemuliaan konvensional memerlukan waktu yang lama. Untuk mempercepat perakitan kultivar dapat digunakan bioteknologi yaitu dengan pembentukan galur homozigot (haploid ganda) melalui teknik kultur antera yang dapat menghasilkan galur-galur murni dalam satu generasi. Kultur antera berperan penting dalam mempercepat pembentukan tanaman haploid ganda yang homozigot dari tanaman heterozigot dan juga mempercepat perakitan padi tipe baru (PTB) (Dewi et al., 1996).

Setiap subspecies tanaman padi mempunyai respons yang berbeda dalam menginduksi kalus dan regenerasi tanaman pada kultur antera. Secara umum terdapat suatu penurunan dalam androgenesis diantara subspecies padi dengan urutan sebagai berikut: Japonica > Japonica x Indica > Indica (Masyhudi & Rianawati 1995). Frekuensi regenerasi tanaman hijau pada kultur antera subspecies Japonica adalah 10% dan untuk indica paling tinggi sebesar 3 % (Zhang, 1989), sedangkan untuk persilanganj indica/indica sangat rendah, yaitu hanya 2 % (Zhuo et al., 1996).

## Metode

Bahan-bahan yang digunakan meliputi : Empat aksesori plasma nutfah sebagai tanaman tetua untuk persilangan ganda yaitu : Parekaligolara, Markuti, IR54, Bio110. Isolat Hawar Daun Bakteri, strain IV, Tanah dari Kebun Percobaan Taman Bogo Lampung (pH: 5,4), dan beberapa marka molekuler yang digunakan sebagai primer dalam analisis PCR, yaitu : marka gen Xa7 dan OsIRT1.

### Metode Kultur Antera

- » Persiapan Eksplan : Tanaman padi (F1 dc) yang ditanam di rumah kaca dalam ember plastik pada fase bunting, malai dengan jarak antara aurikel daun bendera dan daun kedua  $\pm$  8-10 cm digunakan sebagai sumber eksplan. Malai tersebut dicuci dengan air, kemudian dibungkus dengan tissue basah dan dimasukkan kedalam plastik, selanjutnya disimpan pada suhu  $\pm$  10°C selama 8-10 hari.
- » Pembuatan Media : Media induksi kalus dan media regenerasi menggunakan media dasar N6 (Chu, 1978) atau MS (Murashige and Skoog., 1962), sebagai berikut :

Media induksi kalus : N6 ( 2 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin + 60 g/l sukrosa + 0,16 g/l putresin).

Media regenerasi : MS ( 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l kinetin + 40 g/l sukrosa + 0,16 g/l putresin)

- » Sterilisasi dan Inokulasi : eksplan dibuka selubungnya dan diseleksi. Spikelet padi yang digunakan sebagai sumber anter adalah yang berwarna kuning kehijauan dan ukuran anteranya tidak melebihi ½ filament spikeletnya. Eksplan kemudian disterilisasi menggunakan clorox 20% selama 20 menit dan ducuci dengan air steril. Inokulasi dilakukan dengan memotong ⅓ bagian dari dasar spikelet dan dikumpulkan dalam cawan petri yang steril. Potongan spikelet, diinokulasi pada cawan petri yang berisi media induksi kalus. Kemudian disimpan dalam ruang gelap dengan suhu 25°C.
- » Perakaran : Tanaman hijau yang terbentuk dari kalus dan berukuran 3 cm atau lebih dipindahkan ke media perakaran (media MS). Di media perakaran tanaman tumbuh membentuk akar yang lebih kuat sehingga dapat diaklimatisasi.
- » Aklimatisasi : tahap aklimatisasi meliputi tiga proses yaitu : 1. aklimatisasi di tabung reaksi berisi air steril yaitu penanaman tanaman (planlet) hasil kultur antera; 2. aklimatisasi dengan memindahkan tanaman ke bak persemaian berisi tanah lumpur; 3. aklimatisasi dengan memindahkan tanaman ke ember dan ditanam di rumah kaca untuk dievaluasi lebih lanjut.

### Hasil Dan Pembahasan

#### Uji Toleran Keracunan Fe

Benih genotip yang diuji ditanam secara berbaris dalam bak-bak plastik dengan media tanam terdiri atas campuran tanah dan pupuk kandang (pupuk dari fermentasi kotoran sapi) dengan perbandingan 1:1. Dalam setiap bak ditanam 4 genotip, dan untuk setiap genotip ditanam 3 individu tanaman.

Untuk memperoleh ketepatan seleksi dilakukan metode stripe check, yaitu menempatkan tanaman pembanding rentan (IR64) dan toleran (Mahsuri) memanjang sejajar dengan plot-plot bahan yang diuji, sehingga homogenitas lahan berkeracunan Fe dapat diketahui.

Pengamatan gejala dapat dilakukan pada stadia awal pertumbuhan hingga stadia primordial. Pengujian di rumah kaca menggunakan tanah dengan kandungan Fe tinggi (250 ppm). Tanah diambil dari Tamanbogo, Lampung, Sumatera Selatan). Setiap pot ditanam 4 tanaman (2 tanaman uji dan 2 tanaman kontrol, Mashuri dan IR54) dengan 2 ulangan. Pemupukan dilakukan pada waktu tanam: N(Nitrogen 1g), P(Phosfat 1g), K(Kalium 0,4 g). Parameter yang diamati adalah : skor toleransi keracunan Fe, vigor tanaman dan jumlah anakan.

#### Uji Ketahanan Hawar Daun Bakteri

Benih genotip yang akan diuji ditanam di rumah kaca, dengan dosis pemupukan 2 g N + 0,69 P2O5 + 0,69 K2O / pot. Jumlah tanaman per pot sebanyak 3 tanaman. Isolat HDB strain IV yang diperoleh dari tanaman padi Cisadane terlebih dahulu dikulturkan

dalam medium ferrous sulfate (WF) sesuai dengan metode Wakimoto (1989). Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%; etanol absolut; bacto-peptone; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; Sukrosa; Bacto-agar.

Tanaman di rumah kaca yang akan diinokulasi berumur 30-45 hari setelah tanam serta telah menunjukkan adanya pertumbuhan anakan maksimum. Koloni bakteri dari media agar yang telah tumbuh selama 48 jam ditambah air steril sebanyak 5-10 cc, kemudian diaduk secara perlahan dengan menggunakan ose hingga semua bakteri dalam tabung tercampur merata, dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Gunting steril dicelupkan ke dalam tabung erlenmeyer yang telah berisi suspensi dan kemudian digunakan untuk menggantung ujung daun tanaman sepanjang 0,5-1,0 cm. Untuk menjaga kelembaban di rumah kaca, maka satu hari setelah inokulasi tanaman diberi air dengan sprinkle buatan dan untuk mencatat kelembaban dipasang alat Termo-Higrograp.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan metode kultur antera, dari F1 persilangan ganda dapat diperoleh kalus yang terbentuk. Dari jumlah 57.112 antera terbentuk kalus 2802 kalus. Dari kalus yang terbentuk tadi dihasilkan 248 tanaman hijau dan sisanya tanaman albino dan tanaman mati. Dari 248 tanaman hijau dihasilkan 198 tanaman yang haploid dan 50 tanaman yang haploid ganda (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil kultur antera dari persilangan ganda F1

| Σ Malai | Σ Petri | Σ kalus | Σ antera | Σ tanaman hijau | Σ tanaman haploid | Σ tan haploid ganda |
|---------|---------|---------|----------|-----------------|-------------------|---------------------|
| 564     | 562     | 2802    | 57112    | 248             | 198               | 50                  |

Pembentukan embrioid atau kalus yang pertama pada kultur antera terjadi pada 4-6 minggu. Pembentukan tanaman hijau jumlahnya kecil jika dibandingkan dengan jumlah tanaman albino dan yang mati, namun hal ini tidak dipandang sebagai suatu masalah besar yang menghambat tujuan dari kultur antera padi. Hal yang lebih penting dalam kultur antera adalah peningkatan regenerasi tanaman hijau, karena akan mempercepat atau memperbesar kemungkinan bagi pemulia tanaman untuk memperoleh galur yang diinginkan.

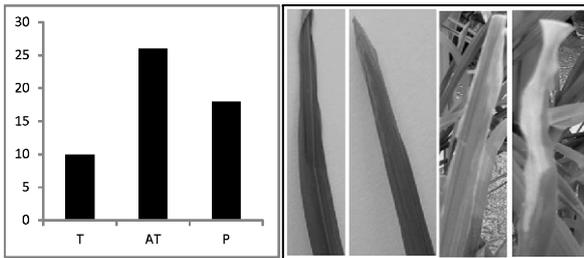
Putresin adalah zat pengatur tumbuh jenis poliamin yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman hijau. Dari kalus yang dihasilkan dalam kultur antera hanya sebagian kecil yang dapat menghasilkan tanaman. Permasalahannya dalam kultur antera pada tanaman padi dan tanaman sereal lainnya seperti jagung, dan gandum adalah rendahnya regenerasi tanaman hijau. Proporsi tanaman hijau atau albino tersebut selain tergantung pada genotipa tanaman juga kondisi kultur, misalnya suhu inkubasi (Chung, 1992). Dari studi molekuler, gen inti maupun sitoplasmik dan interaksinya mungkin mempengaruhi produksi tanaman albino pada kultur antera (Sopory dan Munshi, 1996).

Selain faktor genotipe, beberapa faktor lain baik fisiologi, fisik atau kimia juga mempengaruhi keberhasilan dalam mendapatkan tanaman hijau melalui kultur antera. Walaupun demikian pengaruh dari faktor fisiologis tetap tidak dapat diabaikan, kemungkinan perubahan fisiologis lebih berpengaruh

dibandingkan perubahan genetik yang terjadi (Zapata et al., 1983). Perbedaan kondisi fisiologis yang diakibatkan oleh variabel seperti suhu, panjang hari, dan intensitas cahaya mempengaruhi terbentuknya tanaman hijau pada kultur antera.

#### Evaluasi Tingkat Ketahanan Terhadap Penyakit HDB Secara Fenotipe dan Genotipe Pada Populasi Haploid Ganda

Dari persilangan ganda F1 yang dilanjutkan dengan kultur antera menghasilkan tanaman haploid ganda 50 tanaman. Tanaman berumur 1,5 bulan diberi perlakuan inokulasi HDB. Hasil pengamatan secara fenotipe diperoleh 10 tanaman bersifat tahan HDB, 25 tanaman agak tahan, dan 15 tanaman bersifat peka (Gambar 1).



**Gambar 1.** Keragaan fenotipe tingkat ketahanan terhadap penyakit HDB (strain IV) galur-galur haploid ganda. T=Tahan, AT=Agak Tahan, P=Peka

Keragaan fenotip tingkat ketahanan HDB merupakan ekspresi gen Xa7 yang diekspresikan dalam kondisi lingkungan rumah kaca. Secara keragaan fenotip, ketahanan tanaman terhadap HDB pada setiap tanaman bervariasi terhadap patogen. Variasi alel gen Xa7 yang terdapat pada padi lokal Parekaligolara yang merupakan alel dominan yang berkaitan dengan protein kinase domain berkontribusi dalam membentuk sifat ketahanan terhadap penyakit HDB strain IV dan strain VIII (Utami et al., 2010), sedangkan strain HDB yang digunakan dalam pengujian fenotipe adalah strain IV yang merupakan salah satu strain HDB yang virulen dan dominan di lokasi-lokasi endemik penyakit HDB di Indonesia. Pada hasil penelitian ini terdapat kendala untuk mengetahui aksi gen Xa7 karena populasi sedikit, tetapi variasi genetik dapat dilihat dari uji fenotipe ketahanan HDB dan seleksi dengan marka molekuler.

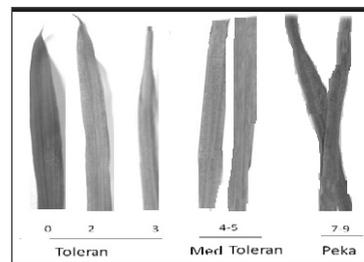
Tanaman haploid ganda yang diperoleh, memiliki gen Xa7 berdasarkan analisis marka-marka molekuler yang digunakan menunjukkan tanaman memiliki gen ketahanan Xa7 walaupun dalam lokus yang berbeda. Pada tanaman yang diidentifikasi dengan beberapa marka molekuler yang memiliki gen Xa7 menyebabkan tanaman tahan terhadap HDB.

#### Evaluasi Tingkat Toleransi Terhadap Keracunan Fe Secara Fenotipe dan Genotipe Pada Populasi Haploid Ganda

Populasi haploid ganda yang digunakan dalam penelitian adalah turunan dari silang ganda yang salah satu tetuanya, Markuti merupakan varietas padi lokal terpilih yang memiliki alel gen salah satu pengendali sifat toleran terhadap cekaman keracunan Fe, yaitu gen OsIRT. Sifat toleran terhadap cekaman keracunan Fe ini ditunjukkan dengan adanya respons bronzing pada

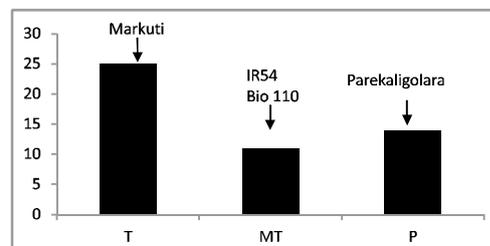
daun tanaman uji setelah diperlakukan dengan media tumbuh tanah masam yang mengandung ion Fe tinggi diatas kadar normal (> 120 ppm). Dari 50 individu tanaman populasi haploid ganda yang diuji menunjukkan adanya variasi respons toleransi terhadap cekaman kadar Fe tinggi. Keragaan variasi respons tersebut seperti ditunjukkan pada Gambar 2.

Gejala visual keracunan besi adalah akibat adanya akumulasi oksidasi polifenol membentuk bronzing pada daun tanaman padi. Gejala bronzing kelihatan secara penuh pada daun-daun yang bertindak sebagai sumber fotosintesis dimulai dengan adanya noda coklat kecil yang terus menyebar dari ujung daun ke pangkal daun. Gejala lebih lanjut yang terlihat adalah ujung daun menguning dan mengering, diikuti dengan laju respirasi yang sangat tinggi yang pada akhirnya seluruh daun menjadi kekuningan dan berwarna coklat yang disebut karat, atau daun akan berwarna coklat ungu, kaku dan keras, hal ini suatu menunjukkan kondisi tingkat keracunan besi yang sangat parah (Yoshida, S. 1981).



**Gambar 2.** Keragaan variasi respons toleran terhadap kadar Fe tinggi pada populasi haploid ganda turunan persilangan ganda: IR54/Parekaligolara//Bio110/Markuti. Variasi respons ditunjukkan sebagai skor tingkat bronzing pada daun individu tanaman populasi haploid ganda, sesuai dengan sistem IRRI 1997.

Dari 50 total individu tanaman haploid ganda yang diuji tingkat toleransi terhadap cekaman keracunan Fe, 50% individu tanaman bersifat toleran (T) dan 50% yang lainnya memiliki tingkat toleran yang bersifat medium toleran (MT) sebanyak 10 tanaman dan 15 tanaman bersifat peka (P). Dengan demikian rasio segregasi sifat toleran terhadap cekaman keracunan Fe pada populasi haploid ganda ini diperoleh 2 : 1 : 1 berturut-turut untuk tanaman yang bersifat toleran : medium toleran : peka. Secara keseluruhan segregasi sifat toleran terhadap cekaman keracunan Fe pada populasi haploid ganda tersebut diilustrasikan pada Gambar 3.

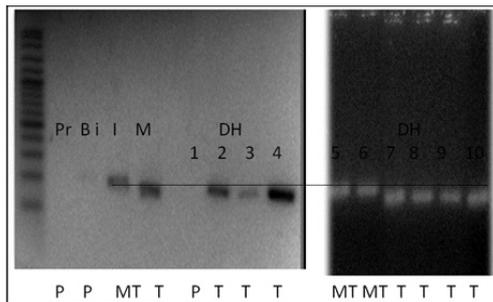


**Gambar 3.** Segregasi sifat tingkat toleransi populasi haploid ganda turunan persilangan ganda Ir54/ Parekaligolara//Bio110/Markuti terhadap cekaman keracunan Fe. T=Toleran, MT=Medium Toleran, P=Peka

Pada gambar 3 ditunjukkan bahwa beberapa tetua dari populasi haploid ganda yang digunakan dalam penelitian ini memiliki respons tingkat toleran terhadap

cekaman keracunan Fe yang beragam. Varietas padi lokal Markuti (Indica, IRN:5754) yang merupakan sumber alel gen OsIRT (Utami et al, 2009) menunjukkan respons toleran. Dua varietas lainnya, yaitu IR54 dan Bio110 termasuk dalam kategori medium toleran. Sedangkan satu varietas lokal lainnya, yaitu Parekaligolara menunjukkan respons peka terhadap cekaman keracunan Fe. Hal ini mengindikasikan bahwa sifat toleran terhadap keracunan Fe pada populasi haploid ganda terutama disumbangkan oleh tetua Markuti. Meskipun demikian dua varietas tetua yang lain, IR54 dan Bio110 berpeluang juga berkontribusi membentuk sifat toleran terhadap keracunan Fe, karena varietas tersebut bersifat medium toleran.

Total tanaman populasi haploid ganda (DH0) yang dianalisis sebanyak 50 galur beserta 3 tanaman kontrol, yaitu Markuti (kontrol tetua/donor alel gen OsIRT), Parekaligolara, Bio110 dan IR54 (kontrol tanaman tetua persilangan ganda), Mahsuri (kontrol tanaman toleran keracunan Fe) dan IR64 (kontrol tanaman rentan keracunan Fe). Hasil yang diperoleh dari 50 tanaman double haploid, 25 tanaman toleran, 10 tanaman medium toleran dan 15 tanaman yang rentan. Keseluruhan tanaman di atas dianalisis keragaan genotipenya dengan analisis PCR menggunakan marka molekuler penanda gen OsIRT1. Hasil analisis tersebut ditunjukkan seperti pada gambar 4.



**Gambar 4.**Salah satu keragaan genotipe dari beberapa tanaman haploid ganda (DH1 sampai dengan Dh10) beserta tanaman kontrol (Pr:Parekaligolara, Bi:Bio110. I:IR54 dan M:Markuti) berdasarkan analisis PCR menggunakan marka OsIRT1. Pada bagian bawah adalah respons fenotipe tingkat toleran dari masing-masing tanaman di atas terhadap keracunan Fe. P=Peka, MT=Medium Toleran, T=Tahan.

**Simpulan**

Berdasarkan hasil-hasil penelitian di atas secara garis besar dapat disimpulkan bahwa alel gen Xa7 dan OsIRT dari persilangan ganda padi lokal Ir54/Parekaligolara//Bio110/Markuti dapat dimanfaatkan dalam pembentukan galur-galur tahan terhadap penyakit hawar daun bakteri dan toleran terhadap keracunan Fe dengan populasi haploid ganda melalui analisis fenotipe dan genotipe menggunakan marka molekuler. Beberapa kesimpulan yang diperoleh dari beberapa kegiatan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Metode kultur antera dari hasil persilangan ganda subspecies indica menghasilkan tanaman haploid ganda sebanyak 50 tanaman hijau fertil yang memiliki variasi ketahanan penyakit HDB dan toleran keracunan Fe.
2. Keragaan fenotipe dan genotipe galur-galur tanaman padi F2 hasil silang ganda dari tetua-tetua IR54/Parekaligolara//Bio110/Markuti

menunjukkan adanya segregasi untuk sifat ketahanan terhadap penyakit HDB dan sifat toleran terhadap keracunan Fe. Diantara segregasi tersebut diperoleh beberapa tanaman yang memiliki sifat ketahanan terhadap penyakit HDB, strain IV dan toleran keracunan Fe. Hasil ini menunjukkan juga bahwa alel-alel gen target Xa7 dan OsIRT terdeteksi pada populasi haploid ganda ini berdasarkan evaluasi fenotipe dan seleksi menggunakan marka molekuler Xa7-LD40 untuk alel gen Xa7 dan marka molekuler OsIRT1 untuk alel gen OsIRT.

3. Marka molekuler yang digunakan RM 20589, RM 20590, RM 20591, LD-34, LD-40, OsIRT1 dan OsIRT2 bersifat co-segregasi dengan sifat ketahanan penyakit hawar daun bakteri dan toleran keracunan Fe.

**Daftar Pustaka**

Berita Resmi Statistik. No 69/II/Th XIV, I November 2011.  
 Chung, GS. 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 Cultur at Hangzhou, China*. P. 8-37.  
 Dewi, IS., Hanarida, I., Rianawati, S. 1996. *Anther Culture and Its Application for Rice Improvement Program in Indonesia*. Indon. Agric. Res. And Dev.J. 18 : 51-56.  
 Hutapea, J., AZ Mashar. 2010. *Ketahanan Pangan dan Teknologi Produktifitas menuju Kemandirian Pertanian Indonesia*. <http://www.wordpress.com/Biologonline/2010Mei>.  
 Kadir, TS., I Hanarida., DW Utami., S Koerniati., AD Ambarwati., A Apriana., S Sisharmini. 2009. *Evaluasi ketahanan populasi haploid ganda silangan IR64 dan Oryza rufipogon terhadap Hawar Daun Bakteri pada stadia bibit*. J. Plasma Nutfah 15(1) 13-19.  
 Murashige, T., Skoog F. 1962. *A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue*. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.  
 Ou, SH. 1973. *Rice in Breeding Plants for Disease Resistance, Concepts and Applications*. The Pennsylvania State University Press, Univ. Park and London, p. 91-109.  
 Sopory, SK., Munshi M. 1996. *Anther Culture. In Vitro Haploid Production in Higher Plants*. Vol. 1. p. 145-176.  
 Suhartini, T., WS. Ardjasa, dan Suwarno. 1992. *Evaluasi Potensi Hasil Varietas dan Galur Harapan Padi pada Lahan Keracunan Fe*. Dalam Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus. 1992. Vol. 3. Padi. AARP dan Badan Litbang Pertanian.  
 USDA. 2009. *Dipetik Mei 29, 2012, dari United States Department of Agriculture* : <http://www.usda.gov>.  
 Utami, DW., EM Septiningsih., TS Kadir., A.Nasution., I Hanarida dan T. Suhartini. 2009. *Pencarian alel baru gen-gen untuk ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik*. In. Laporan Tahun 2009. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Kementrian Pertanian, 39-44.  
 Utami, DW., Endang S., Triny S., Fatimah., S Yuriah. 2010. *Pencarian Alel untuk Identifikasi Gen Ketahanan Penyakit Hawar Daun Bakteri Xa7 pada Plasma Nutfah Padi Lokal Indonesia*. *Jurnal Agro Biogen*. Vol.6, no.1, April 2010.