

Karakterisasi Galur Haploid Ganda Hasil Kultur Antera Padi

Iswari S. Dewi¹, Ari C. Trilaksana², Tri Koesoemaningtyas², dan Bambang S. Purwoko²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

New genetic variation in rice can be obtained by crossing between subspecies of rice (*Indica*, *Japonica*, and *Javanica*). Variability is a must in breeding materials. The objectives of this research were to evaluate morphological and agronomical characters of doubled-haploid lines derived from anther culture of F₁ and to determine maternal effect from reciprocal crosses. The materials used in the experiment were 144 haploid lines derived from anther culture of F₁ obtained from reciprocal crossing between Asemandi/Taipei 309 and Taipei 309/Asemandi. Asemandi belongs to *O. sativa* subspecies *Javanica*, whilst Taipei 309 is subspecies *Japonica*. Evaluation on morphological and agronomical characters was based on Standard Evaluation System for Rice from IRRI. The results indicated that agronomical characters between haploid lines were varied, but individuals in lines were similar as shown by all morphological and agronomical characters. New characters were also found in leaf and stem angle, awn existence, awn length, awn color, panicle type and exertion, axis type, secondary branch of panicle, and grain type. Maternal effect could be seen only in booting stage, number of sterile tillers and percentage of fertile tillers. Based on number of fertile tillers, number of fertile spikelets, fertility, weight of 100 grains and yield/plant, A/T 12, A/T 57, A/T 200, A/T 274, A/T 282, A/T 321, A/T 333, A/T 348, A/T 399, A/T 75a, and T/A 258 were potential lines to be further selected.

Key words: Anther culture, characterization, doubled-haploid, rice.

ABSTRAK

Variasi genetik yang baru pada padi dapat diperoleh dengan persilangan antar subspecies (*Indica*, *Japonica*, dan *Javanica*). Keragaman merupakan keharusan dalam materi pemuliaan. Tujuan penelitian ini ialah mengevaluasi karakter morfologi dan agronomi generasi awal galur-galur padi haploid ganda yang dihasilkan melalui kultur antera dan memeriksa pengaruh maternal yang mungkin terjadi dari persilangan resiprok. Materi yang digunakan dalam penelitian ini ialah 144 galur haploid ganda yang dihasilkan melalui kultur antera F₁ dari persilangan resiprok antara Asemandi/Taipei 309 dan Taipei 309/Asemandi. Asemandi merupakan padi subspecies *Javanica*, sedangkan Taipei 309 merupakan subspecies *Japonica*. Evaluasi terhadap karakter morfologi dan agronomi dilakukan

berdasarkan *Standard Evaluation System for Rice* dari IRRI. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakter antargalur haploid ganda bervariasi. Namun secara individu di dalam galur tetap serupa, sebagaimana ditunjukkan oleh semua karakter yang diamati. Karakter morfologi yang baru ditemukan pada sudut daun dan batang, keberadaan bulu, panjang bulu, warna bulu, tipe dan eksersi panikel, tipe aksis, cabang sekunder panikel, dan bentuk biji. Pengaruh maternal hanya tampak pada umur bunting, jumlah anakan tidak produktif, dan persentase anakan produktif. Berdasarkan jumlah anakan produktif, jumlah gabah isi/malai, fertilitas, bobot 100 butir, dan hasil/tanaman, maka galur dengan kode A/T 12, A/T 57, A/T 200, A/T 274, A/T 282, A/T 321, A/T 333, A/T 348, A/T 399, A/T 75a, dan T/A 258 sangat potensial untuk diseleksi lebih lanjut.

Kata kunci: Kultur antera, karakterisasi, haploid ganda, padi.

PENDAHULUAN

Pemuliaan tanaman melalui penerapan kultur antera akan menghemat waktu. Melalui kultur antera hibrida F₁, kombinasi gen yang mungkin sulit diisolasi dari populasi bersegregasi pada pemuliaan biasa dapat difiksasi dengan cepat. Tanaman-tanaman haploid ganda hasil kultur antera yang berasal dari mikrospora bersifat homozigos penuh dan *breed true*, karena kedua kopi informasi genetik pada tanaman-tanaman tersebut identik (Niizeki 1997). Tanaman haploid ganda yang terseleksi juga dapat digunakan sebagai tetua intermediet untuk disilangkan lebih lanjut sebagai tetua bagi pembentukan hibrida F₁ (Dewi *et al.* 1996). Untuk memperoleh keragaman genetik yang luas, persilangan antar subspecies padi budi daya dapat dilakukan.

Individu tanaman yang dihasilkan oleh mikrospora yang sama akan mempunyai morfologi yang sama pada generasi selanjutnya. Jika tanaman diploid yang dihasilkan melalui kultur antera menjadi diskrit pada generasi selanjutnya, maka tanaman tersebut tidak diregenerasikan oleh mikrospora, melainkan oleh jaringan somatik, misalnya dari dinding antera atau filamen yang terbawa pada saat

antera dikulturkan (Dewi dan Purwoko 2001, Niizeki 1997).

Penelitian Dewi (2003) tentang kultur antera tanaman F_1 hasil persilangan Asemandi (*Javanica*) dengan Taipei 309 (*Japonica*) dan resiproknya telah menghasilkan 211 tanaman haploid ganda (DH). Selanjutnya setelah dua kali perbanyakan benih diperoleh benih yang cukup memadai untuk evaluasi, yaitu 76 galur asal F_1 Asemandi/Taipei 309 (kode galur A/T) dan 68 galur asal F_1 Taipei 309/Asemandi (kode galur T/A). Menurut Zhang (1989), karakter tanaman haploid ganda akan tetap stabil dari generasi ke generasi, sehingga seleksi dapat dilakukan langsung pada generasi awal. Seleksi tanaman haploid ganda untuk karakter-karakter yang dikendalikan oleh alel dominan tidak disulitkan oleh perbedaan individu diploid homozigos-dominan dengan heterozigos (Fehr 1987). Populasi haploid ganda secara teoritis akan bervariasi seperti pada populasi F_2 atau F_3 .

Penelitian ini bertujuan (1) mengevaluasi karakter agronomi dan morfologi tanaman haploid ganda hasil kultur antera F_1 resiprok Taipei 309/Asemandi, (2) membuktikan keragaman genetik yang luas, sehingga tanaman haploid ganda hasil kultur antera memenuhi syarat sebagai bahan seleksi, (3) mempelajari kemungkinan terjadinya pengaruh maternal dari persilangan resiprok, dan (4) mengidentifikasi galur-galur yang mempunyai potensi untuk diseleksi lebih lanjut.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman yang digunakan ialah padi cv. Asemandi (A), Taipei 309 (T), dan 144 nomor galur DH. Galur DH yang diuji merupakan hasil perbanyakan benih galur DH kultur antera F_1 persilangan Asemandi/Taipei 309 dan resiproknya (Dewi 2003), yaitu 76 galur asal F_1 A/T (kode galur A/T) dan 68 galur asal F_1 T/A (kode galur T/A). Benih DH ditanam di rumah kaca pada pot-pot plastik berisi 10 kg tanah sawah. Penanaman menurut nomor galur dengan tiga ulangan. Setiap ulangan terdiri atas tiga tanaman. Pemupukan (200 kg urea, 100 kg SP36, dan 100 kg KCl), dan pemeliharaan tanaman sesuai dengan keperluan.

Evaluasi karakter morfologi dilakukan terhadap daun, batang, malai dan gabah, sedangkan untuk karakter agronomi terhadap tinggi tanaman, umur, anakan, hasil, dan komponen hasil. Data pada karakter morfologi dan agronomi ditampilkan sesuai pengukuran dan pengamatan mengikuti *Standar Evaluation System (SES) for Rice* dari IBPGR (IRRI 1996). Selanjutnya dilakukan pengujian berdasarkan perbedaan dua populasi yang dibentuk oleh persilangan resiprokal untuk mengetahui pengaruh maternal pada karakter yang muncul. Uji t dilakukan untuk karakter yang bersifat kuantitatif (Campbell 1990), sedangkan uji non parametrik dari Mann-Whitney digunakan untuk karakter yang bersifat kualitatif (Daniel 1989). Jumlah anakan produktif, jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir digunakan sebagai peubah dalam mengidentifikasi galur-galur yang memiliki potensi untuk diseleksi lebih lanjut melalui analisis peubah ganda, yang meliputi analisis komponen utama dan analisis gerombol. Pengolahan data dengan analisis peubah ganda menggunakan metode yang digunakan oleh Surya (2000) dan Yusro (2001) dengan program Minitab Release 11.12.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Morfologi

Karakter morfologi yang diamati pada populasi DH hasil kultur antera F_1 resiprok dan kedua tetua pembentuknya disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2. Keragaman terjadi pada semua karakter yang diamati, kecuali pada karakter perhiasan daun, seperti warna ligula, warna *collar* atau leher daun, dan warna *auricle* atau telinga daun (Tabel 2). Individu yang seragam dalam galur pada populasi DH disebabkan oleh sifat galur DH yang homozigos dan homogen, karena berasal dari mikrospora yang bersifat haploid (Niizeki 1997).

Panjang dan lebar daun merupakan karakter morfologi yang bersifat kuantitatif dan dikendalikan oleh banyak gen secara kumulatif. Selain itu, bentuk daun lebar bersifat dominan terhadap daun sempit (Chang dan Li 1991). Pada populasi DH, tidak ada galur yang memiliki daun sependek Taipei 309

Tabel 1. Karakter morfologi yang bersifat kuantitatif pada populasi DH dan tetua pembentuknya.

Karakter	X $\pm$ SD DH	Kisaran populasi DH*		Nilai tengah tetua**	
		A/T	T/A	Asemandi	Taipei 309
Panjang daun (cm)	58,29 $\pm$ 8,94	39,00-82,00	38,50-83,10	57,00	30,00
Lebar daun (cm)	1,83 $\pm$ 0,27	1,10-2,60	1,20-2,40	2,34	1,25

X $\pm$ SD ialah nilai tengah $\pm$ standar deviasi. * = DH A/T sebanyak 76 galur dan DH T/A sebanyak 68 galur, ** = Asemandi sebanyak 10 tanaman dan Taipei 309 sebanyak 7 tanaman.

Tabel 2. Karakter morfologi yang bersifat kualitatif pada populasi DH dan tetua pembentuknya.

Karakter/skor***	Jumlah galur DH*		Jumlah tanaman tetua**	
	A/T	T/A	Asemandi	Taipei 309
Sudut daun/1 : 3	47 : 29	34 : 34	15 : 0	0 : 7
Sudut daun bendera/1 : 3 : 5 : 7	56 : 18 : 1 : 1	51 : 16 : 1 : 0	15 : 0 : 0 : 0	0 : 7 : 0 : 0
Warna lidah daun (<i>ligule</i>)/1	76	68	15	7
Bentuk ligula/2	76	68	15	7
Warna leher daun (<i>collar</i>)/1	76	68	15	7
Warna telinga daun (<i>auricle</i>)/1	76	68	15	7
Sudut batang/1 : 3 : 5	16 : 44 : 16	13 : 45 : 10	0 : 15 : 0	0 : 7 : 0
Tipe malai/1 : 5 : 9	72 : 2 : 2	62 : 2 : 4	15 : 0 : 0	7 : 0 : 0
Kedudukan malai/1 : 3 : 5 : 7 : 9	41 : 7 : 11 : 17 : 0	33 : 5 : 17 : 12 : 1	15 : 0 : 0 : 0 : 0	7 : 0 : 0 : 0 : 0
Cabang sekunder/1 : 2	14 : 62	18 : 50	0 : 15	0 : 7
Aksis/1 : 2	6 : 70	1 : 67	0 : 15	0 : 7
Pemunculan bulu/0 : 1 : 5 : 7 : 9	18 : 14 : 6 : 13 : 25	16 : 14 : 4 : 7 : 27	0 : 0 : 0 : 0 : 15	7 : 0 : 0 : 0 : 0
Warna Bulu/0 : 1 : 2 : 3 : 4	36 : 11 : 25 : 16 : 6	16 : 13 : 16 : 18 : 5	0 : 0 : 0 : 15 : 0	7 : 0 : 0 : 0 : 0
Bentuk bulir/1 : 2 : 3	38 : 33 : 5	32 : 31 : 5	15 : 0 : 0	0 : 0 : 7

* = DH A/T sebanyak 76 galur dan DH T/A sebanyak 68 galur, ** = Asemandi sebanyak 15 tanaman dan Taipei 309 sebanyak 7 tanaman, *** = karakterisasi dan skor berdasarkan SES (IRRI 1996).

(30 cm), bahkan sebagian galur mempunyai daun yang lebih panjang dibandingkan dengan Asemandi (Tabel 1). Daun terpendek dimiliki oleh galur T/A 40 (38,50 cm) dan terpanjang pada galur T/A 167 (83,10 cm). Sebagian besar galur DH mempunyai daun yang lebih lebar dibandingkan dengan Taipei 309 (1,25 cm), dan hanya beberapa galur yang mempunyai daun yang lebih lebar dari Asemandi (2,34 cm). Galur yang memiliki daun lebih lebar adalah A/T 18 (2,60 cm) dan terkecil A/T 98 (1,10 cm).

Seluruh galur pada populasi DH memiliki sudut daun dan sudut daun bendera tegak (skor 1) dan sedang (skor 3). Sudut daun tegak lebih diinginkan karena berperan dalam meningkatkan luas penerimaan cahaya, selain dapat segera melewati air yang jatuh ke daun sehingga mengurangi beban pada permukaan daun. Sudut daun tegak bersifat rese-sif terhadap sudut daun jatuh dan mungkin berkorelasi dengan hasil tinggi (Chang dan Li 1991). Galur T/A 398 dan A/T 24 mempunyai sudut daun bendera datar dan A/T 28 memiliki sudut daun bendera jatuh (Tabel 2).

Menurut Chang dan Li (1991), sudut batang tegak bersifat rese-sif terhadap sudut batang menyebar (skor 7) dan rebah (skor 9). Sebagian besar galur pada populasi DH ini mempunyai sudut batang sedang (skor 3), sama dengan kedua tetua pembentuknya. Namun telah muncul karakter sudut batang sempit (30°) dan terbuka (60°), baik pada tanaman DH asal F₁ A/T maupun F₁ T/A (Tabel 2).

Semua galur pada populasi DH dan kedua tetua pembentuknya mempunyai skor yang sama pada empat karakter perhiasan daun, yaitu warna ligula putih (skor 1), bentuk ligula terbelah (skor 2), warna leher daun hijau muda (skor 1), dan warna telinga daun hijau atau skor 1 (Tabel 2). Keadaan ini menunjukkan tidak terjadi rekombinasi yang dapat memunculkan sifat yang lain dari kedua tetua, karena karakter yang dimiliki kedua tetua sama untuk keempat karakter perhiasan daun yang diamati.

Tipe malai rapat berkorelasi dengan jumlah gabah yang banyak. Tipe malai terbuka dengan aksis tegak umumnya dimiliki oleh padi liar. Tipe malai rapat bersifat dominan terhadap tipe malai terbuka (Chang dan Li 1991). Tipe malai rapat (skor 1) merupakan tipe malai pada sebagian besar galur DH dan kedua tetua pembentuknya (Tabel 2).

Namun beberapa galur DH juga menunjukkan tipe malai baru, yaitu tipe malai sedang (skor 5) pada A/T 55, A/T252, T/A 15, dan T/A 170 serta tipe malai terbuka (skor 9) pada A/T 287, T/A 172, T/A 244, dan T/A 279.

Kedudukan malai yang jauh di atas daun bendera (skor 1) dimiliki oleh sebagian besar galur pada populasi DH dan kedua tetua pembentuknya (Tabel 2). Kedudukan malai di atas daun bendera berkorelasi dengan jumlah gabah isi (Chang dan Li 1991). Kedudukan malai baru yang berbeda antar-kedua tetua, yaitu sedikit di atas daun bendera (skor 3), sama dengan daun bendera (skor 5), di bawah daun bendera (skor 7), dan jauh di bawah daun bendera (skor 9), tampak pada beberapa galur yang berasal dari F_1 A/T maupun resiproknya.

Percabangan sekunder pada malai sebagian besar populasi DH memiliki tipe jumlah banyak (skor 2), seperti yang dimiliki kedua tetuanya (Tabel 2). Namun pada populasi DH ini juga diperoleh tipe baru dengan skor 0 dan 1. Percabangan sekunder dengan skor 0 dan skor 1 tidak disukai, karena tidak mempengaruhi jumlah gabah (Chang dan Li 1991).

Hampir semua galur DH maupun kedua tetua pembentuknya memiliki tipe aksis jatuh atau skor 2 (Tabel 2). Tipe aksis jatuh disukai oleh pemulia karena berkorelasi dengan jumlah gabah yang banyak (Chang dan Li 1991). Tipe aksis jatuh memang memiliki jumlah gabah yang lebih banyak dibandingkan dengan tipe aksis tegak. Tipe aksis baru yang muncul ialah tipe aksis tegak (skor 1) yang tidak dimiliki oleh kedua tetua pembentuknya.

Bulu panjang dan keseluruhan (skor 9) serta bulu pendek dan keseluruhan (skor 5) berturut-turut merupakan skor terbanyak dan skor yang paling sedikit pada populasi DH (Tabel 2). Kedua tetua memiliki skor yang berlainan, yaitu skor 9 pada Asemandi dan skor 0 atau tidak berbulu pada Taipei 309. Pada populasi DH ini, diperoleh skor 1 (bulu pendek, sebagian), skor 5 (bulu pendek, keseluruhan), dan skor 7 (bulu panjang, sebagian) yang merupakan karakter baru yang muncul.

Karakter warna bulu yang baru, yaitu merah (skor 4) juga diperoleh pada enam tanaman asal F_1 A/T dan lima tanaman asal F_1 T/A, padahal bulu Asemandi berwarna coklat sementara Taipei 309 tidak berbulu. Jika dilihat dari karakter gabah, Ase-

mandi termasuk subspecies *Javanica* yang memiliki bentuk gabah panjang dan besar (*long-large grain*), sedangkan gabah Taipei yang termasuk subspecies *Japonica* berbentuk bulat-pendek tebal (*short-round grain*). Namun muncul karakter bulir baru, yaitu panjang tipis (*long-slender grain*) pada 33 tanaman asal F_1 A/T dan 31 tanaman asal F_1 T/A.

Karakter morfologi baru dapat muncul akibat variasi gametoklonal yang terinduksi selama kultur, terjadinya segregasi dan *independent assortment*, atau karena kondisi yang sangat homozigot sehingga memungkinkan munculnya alel-alel resesif (Huang 1996). Chang dan Bardenas (1965) menduga bahwa pemunculan bulu dengan panjang yang bervariasi dikendalikan oleh sejumlah gen yang bersifat kumulatif. Pemunculan dan panjang bulu memang dipengaruhi oleh tiga gen, yaitu gen *An1*, *An2*, dan *An3* (Chang dan Li 1991). Untuk membuktikan terjadi atau tidaknya variasi gametoklonal dapat dilakukan dengan membandingkan populasi DH dengan populasi F_8 SSD yang merupakan populasi yang identik dengan populasi haploid ganda. Jika tidak muncul, maka karakter tersebut merupakan variasi gametoklonal (Moon *et al.* 1996, Zhuravlev dan Zmeeva 1996, Satish *et al.* 1995).

Karakter Agronomi

Karakter agronomi yang diamati pada populasi DH hasil kultur antera F_1 resiprok dan kedua tetua pembentuknya disajikan pada Tabel 3. Keragaman karakter agronomi terjadi pada semua karakter yang diamati. Keragaman ini dapat terjadi akibat segregasi gen-gen secara acak saat meiosis pada proses pembentukan mikrospora tanaman F_1 yang dikulturkan (Fehr 1987).

Umur bunting pada populasi DH berkisar antara 65 hari setelah benih ditanam (HST), yaitu pada galur AT 282 dan T/A 218 sampai 98 HST pada galur A/T 72 (Tabel 3). Umur berbunga terlama terdapat pada galur A/T 72 (108 HST), sedangkan tercepat pada galur T/A 282 (71 HST). Periode bunting populasi DH dan Asemandi hampir bersamaan, yaitu 6-10 hari, sedangkan Taipei 309 mempunyai periode bunting yang lebih lama, yaitu 14 hari. Umur berbunga yang lebih lama pada Taipei 309 diduga akibat pengaruh fotoperiodisme, yaitu terjadinya perbedaan panjang hari antara daerah subtro-

Tabel 3. Karakter agronomi populasi DH dengan kedua tetua pembentuknya.

Karakter	X $\pm$ SD DH	Kisaran populasi DH		Nilai tengah tetua*	
		A/T	T/A	Asemandi	Taipei 309
Umur bunting (HST)	78,8 $\pm$ 6,7	65,0-98,0	65,0-97,0	78,0	78,0
Umur berbunga (HST)	85,8 $\pm$ 7,2	71,0-108,0	71,0-105,0	85,0	92,0
Umur panen (HST)	116,8 $\pm$ 7,6	101,0-138,0	105,0-138,0	120,0	130,0
Tinggi tanaman (cm)	125,70 $\pm$ 16,42	95,40-171,10	85,90-161,60	151,23	99,59
Tinggi batang (cm)	86,49 $\pm$ 15,96	55,0-133,40	44,70-131,70	115,47	71,37
Jumlah anakan produktif	2,5 $\pm$ 1,0	1,0-6,0	1,0-5,0	2,0	2,8
Jumlah anakan tak produktif	1,0 $\pm$ 1,0	0,0-4,0	0,0-3,0	0,6	0,5
Jumlah anakan total	3,5 $\pm$ 1,4	1,0-7,0	1,0-6,3	2,5	3,3
Persentase anakan produktif (%)	76,9 $\pm$ 21,9	32,5-100,0	25,0-100,0	85,0	88,0
Panjang malai (cm)	18,81 $\pm$ 3,58	9,80-32,30	12,00-26,00	23,27	15,82
Jumlah gabah isi per malai (butir)	115,8 $\pm$ 111,2	0,0-581,0	0,0-346,5	45,2	135,4
Jumlah gabah hampa per malai (butir)	197,0 $\pm$ 116,2	42,0-555,0	10,0-644,0	114,0	100,4
Jumlah gabah total per malai (butir)	312,9 $\pm$ 168,2	56,7-889,0	44,0-792,0	159,2	235,9
Fertilitas (%)	34,4 $\pm$ 22,8	0,0-84,1	0,0-83,4	25,0	54,0
Bobot gabah total (g)	2,642 $\pm$ 2,603	0,0-14,919	0,0-7,925	0,946	2,300
Bobot 100 butir (g)	2,032 $\pm$ 0,693	0,0-3,160	0,0-3,706	2,092	1,698

X $\pm$ SD ialah nilai tengah $\pm$ standar deviasi, *Asemandi sebanyak 10 tanaman dan Taipei 309 sebanyak 7 tanaman.

pis (asal Taipei 309 atau subspecies *Japonica*) dengan daerah tropis (De Datta 1981).

Umur panen populasi DH berkisar antara 101 HST pada galur A/T 288 sampai 138 HST pada galur A/T 5 dan T/A 24 (Tabel 3). Berdasarkan pengelompokan umur panen (P) yang dilakukan Lubis *et al.* (1993), galur pada populasi DH terbagi menjadi 27 galur sangat genjah ($P \leq 110$ HST), 39 galur genjah ($110 < P \leq 115$ HST), 63 galur berumur sedang ($115 < P \leq 125$ HST), dan 15 galur berumur dalam ($125 < P \leq 150$ HST). Tidak ada galur DH yang berumur sangat dalam ($P > 150$ HST), sementara Asemandi dan Taipei 309 termasuk berumur sedang.

Tinggi tanaman pada populasi DH berkisar antara 85,90 cm pada galur T/A 43 sampai 171,10 cm pada galur A/T 57 (Tabel 3). Berdasarkan pengelompokan tinggi tanaman (T) yang dilakukan Lubis *et al.* (1993), galur pada populasi DH dapat dibagi menjadi 24 galur pendek ($T \leq 110$ cm), 52 galur sedang ($110 < T \leq 125$ cm), dan 68 galur tinggi ($T > 125$ cm). Asemandi (151,2 cm) termasuk tinggi, sedangkan Taipei 309 (99,6 cm) termasuk pendek. Karakter tinggi tanaman memang dikendalikan oleh gen-gen yang bersifat kumulatif (Chang dan Li 1991). Namun batang ternyata lebih tinggi daripada tinggi tanaman sebenarnya, karena pengukuran yang dilakukan mulai dari permukaan tanah sampai pangkal malai, bukan ke ujung daun tertinggi. Tinggi batang populasi DH berkisar antara 44,70 pada galur T/A 43 sampai 133,40 cm pada galur A/T 418 (Tabel 3). Tanaman dengan batang pendek lebih tahan kerebahan (Chang dan Li 1991).

Jumlah anakan total populasi DH berkisar antara 1-7 anakan (Tabel 3). Galur A/T 87, A/T 285, A/T 287, dan A/T 333 mempunyai jumlah anakan terbanyak (7 anakan). Jumlah anakan yang banyak akan lebih baik bila diimbangi dengan jumlah anakan produktif yang banyak atau jumlah anakan tidak produktif sedikit. Anakan yang tidak produktif tidak menghasilkan malai. Jumlah anakan produktif pada populasi DH berkisar antara 1-6 anakan, sedangkan jumlah anakan tidak produktif berkisar antara 0-4 anakan (Tabel 3). Anakan produktif populasi DH berkisar antara 25-100%, sedangkan pada Asemandi dan Taipei 309 masing-masing adalah 85% dan 88%. Terdapat 54 galur yang mempunyai anakan produktif 100%. Hal ini disebabkan karena ke-54 galur tersebut tidak mempunyai anakan yang tidak produktif atau semua anakan dapat menghasilkan malai.

Panjang malai populasi DH berkisar antara 9,8 cm pada galur A/T 166a sampai 32,3 cm pada galur A/T 320 (Tabel 3). Umumnya malai panjang menghasilkan gabah yang lebih banyak dibandingkan dengan malai pendek. Namun kerapatan gabah ternyata lebih memegang peranan penting dibandingkan dengan panjang malai. Tetua Asemandi yang lebih panjang malainya dibandingkan dengan Taipei 309 mempunyai jumlah gabah yang lebih sedikit (159 butir) dibandingkan dengan Taipei 309 (235,9 butir), karena kerapatan gabah pada Taipei 309 lebih tinggi (Tabel 3).

Gabah merupakan komponen hasil yang terpenting pada tanaman padi, karena itu jumlah gabah

isi dan gabah hampa per malai merupakan karakter agronomi yang pertama kali diseleksi. Galur A/T 274 mempunyai jumlah gabah isi terbanyak, yaitu 581 butir per malai. Terdapat lima galur yang tidak mempunyai gabah isi atau keseluruhan gabahnya hampa, yaitu galur A/T 5, A/T 43, A/T 71, T/A 142, dan T/A 439. Diduga kelima galur tersebut adalah tanaman aneuploid. Menurut Hu *et al.* (1983) dan Christensen *et al.* (1997), selain tanaman haploid dan dihaploid spontan (*spontaneous doubled haploid*), di antara regenerasi asal kultur antera dapat diperoleh tanaman poliploid, mixoploid, dan aneuploid. Tanaman aneuploid secara morfologi serupa dengan tanaman diploid, tetapi perilaku kromosom yang tidak normal dapat menyebabkan laju pembentukan biji lebih rendah pada progeninya. Oleh karena itu tanaman aneuploid dapat bersifat semi atau steril penuh. Jumlah gabah total populasi DH berkisar antara 44 butir/malai pada galur T/A 167 sampai 899 butir per malai pada galur A/T 75a. Standar deviasi jumlah gabah isi, gabah hampa, dan gabah total per malai pada populasi DH menunjukkan adanya variasi yang besar untuk ketiga karakter pengisian gabah antargalur (Tabel 3).

Fertilitas populasi DH berkisar antara 0-84,1% (Tabel 3). Galur dengan fertilitas 0% ialah galur yang tidak menghasilkan gabah isi sama sekali, yaitu A/T 5, A/T 43, A/T 71, T/A 142, dan T/A 439. Terdapat 54 galur yang mempunyai nilai fertilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan tetua Asemendi (fertilitas 25%), 63 galur mempunyai nilai fertilitas di antara kedua tetua pembentukannya, sementara 29 galur mempunyai nilai fertilitas yang lebih tinggi dari Taipei 309 yang fertilitasnya 54%. Fertilitas yang rendah pada populasi DH diduga disebabkan oleh rendahnya fertilitas tanaman *F₁* yang digunakan sebagai eksplan dalam kultur antera. Chang dan Li (1991) melaporkan bahwa dalam persilangan antar subspecies sering terjadi sterilitas pada hibridanya. Diketahui subspecies *Javanica* menunjukkan sterilitas hibrida dengan *Japonica*, dan menunjukkan afinitas seksual yang berbeda dengan *Japonica* maupun *Indica* (Takahashi 1997).

Standar deviasi bobot gabah total menunjukkan bahwa terdapat variasi bobot gabah total yang besar antargalur pada populasi DH (Tabel 3). Bobot gabah total per tanaman pada populasi DH mempun-

nyai kisaran antara 0-14,9 g pada galur A/T 274. Galur A/T 274 mempunyai bobot gabah total tertinggi karena memiliki jumlah gabah isi terbanyak. Secara umum telah terjadi peningkatan nilai rata-rata bobot gabah total pada galur-galur DH dibandingkan dengan kedua tetuanya.

Bobot 100 butir gabah merupakan komponen hasil terpenting setelah jumlah gabah isi, kerapatan gabah pada malai, dan panjang malai. Galur dengan bobot 100 butir tertinggi adalah A/T 13, yaitu 3,4 g. Asemendi mempunyai bobot 100 butir yang lebih besar (2,1 g) dibandingkan dengan Taipei 309 (2 g).

Semua karakter agronomi yang diamati pada populasi tanaman haploid ganda generasi pertama (DH) bervariasi, di antaranya ada yang serupa dengan salah satu tetuanya, ada yang intermediat, ada yang melebihi kedua tetuanya seperti dalam jumlah gabah isi/malai serta bobot 100 butir (Tabel 3). Dari pengalaman penggunaan kultur antera dalam pemuliaan padi sejak 1976, tim peneliti Cina menemukan bahwa kultur antera dapat digunakan bukan saja untuk perakitan varietas baru, tetapi juga untuk memperoleh genotipe baru yang spesifik yang sebelumnya tidak pernah ditemukan, baik pada varietas lokal maupun pada koleksi plasma nutfah, misalnya varietas padi tahan penyakit blas, toleran suhu rendah, dan toleran tanah salin. Hal tersebut menunjukkan bahwa kultur antera juga dapat berperan dalam pembentukan plasma nutfah baru (Shen *et al.* 1983).

Pengaruh Maternal

Pada Tabel 4 disajikan hasil uji t untuk menganalisis perbedaan antara dua populasi DH, yaitu populasi asal kultur antera *F₁* Asemendi/Taipei 309 (A/T) dan *F₁* Taipei 309/Asemendi (T/A). Terjadi perbedaan yang nyata antara kedua populasi tersebut pada karakter umur bunting dan persentase anakan produktif. Jumlah anakan tidak produktif menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pada ketiga karakter tersebut terjadi pengaruh maternal.

Pengaruh maternal yang terjadi pada karakter umur bunting menyebabkan galur-galur pada populasi DH yang berasal dari *F₁* A/T, dalam hal ini Asemendi sebagai tetua betina, relatif lebih cepat bunting dibandingkan dengan populasi DH yang

berasal dari F₁ T/A, di mana Asemandi sebagai tetua jantan. Pola serupa terjadi pada persentase anakan produktif, di mana galur-galur yang berasal dari F₁ A/T mempunyai persentase relatif lebih rendah dibandingkan dengan populasi DH yang berasal dari F₁ T/A. Pengaruh sebaliknya terjadi pada karakter jumlah anakan tidak produktif, yaitu galur-galur yang berasal dari F₁ T/A, di mana Asemandi sebagai tetua jantan, mempunyai jumlah anakan tidak produktif lebih sedikit dibandingkan dengan galur-galur yang berasal dari F₁ A/T, di mana Asemandi sebagai tetua betina. Pengaruh maternal yang hanya terjadi pada ketiga karakter tersebut tidak mutlak mempengaruhi pemilihan tetua betina untuk persilangan. Menurut Dewi *et al.* (2001), pengaruh maternal pada persilangan subspecies *Javanica* dan *Japonica* lebih berperan dalam regenerasi tanaman hijau pada kultur antera persilangan resiprokalnya. Hal serupa juga dijumpai oleh Sasmita *et al.* (2002) dalam penelitian yang menggunakan persilangan subspecies *Indica*.

Analisis Peubah Ganda

Karakter komponen hasil, yaitu jumlah anakan produktif, jumlah gabah isi per malai, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir digunakan sebagai peubah untuk mengidentifikasi galur-galur yang memiliki potensi untuk diseleksi melalui analisis peubah ganda (*multivariate analyses*). Dari hasil analisis komponen utama diperoleh nilai korelasi antar peubah yang cukup tinggi (Tabel 5).

Korelasi yang cukup tinggi terjadi antara fertilitas dengan jumlah gabah isi, bobot gabah total dengan jumlah gabah isi, bobot gabah total dengan fertilitas, dan bobot 100 butir dengan fertilitas (Tabel 5). Oleh karena itu perlu dilakukan transformasi kelima peubah tersebut ke dalam komponen-komponen utamanya. Analisis komponen utama dengan menggunakan matrik korelasi menghasilkan lima komponen utama. Nilai Eigen, proporsi keragaman, dan keragaman kumulatif masing-masing komponen utama tersebut disajikan pada Tabel 6.

Nilai Eigen atau nilai akar ciri merupakan salah satu ukuran kesesuaian untuk memperoleh gambaran kelayakan penggunaan komponen utama.

Tabel 4. Hasil uji t terhadap karakter agronomi pada populasi DH.

Karakter	X $\pm$ SD DH		Nilai p
	A/T	T/A	
Umur bunting (HST)	77,7 $\pm$ 7,1	80,1 $\pm$ 6,1	0,028*
Umur berbunga (HST)	84,8 $\pm$ 7,7	86,8 $\pm$ 7,2	0,100
Umur panen (HST)	116,8 $\pm$ 78,4	116,7 $\pm$ 6,5	0,930
Tinggi tanaman (cm)	125,04 $\pm$ 15,92	126,44 $\pm$ 17,05	0,610
Tinggi batang (cm)	86,33 $\pm$ 15,46	86,68 $\pm$ 16,62	0,900
Jumlah anakan produktif	2,5 $\pm$ 0,9	2,6 $\pm$ 1,0	0,300
Jumlah anakan tak produktif	1,2 $\pm$ 1,2	0,7 $\pm$ 0,8	0,0018**
Jumlah anakan total	3,7 $\pm$ 1,6	3,3 $\pm$ 1,2	0,120
Persentase anakan produktif (%)	72,7 $\pm$ 23,3	81,6 $\pm$ 19,2	0,014*
Panjang malai (cm)	18,9 $\pm$ 4,1	18,7 $\pm$ 2,9	0,830
Jumlah gabah isi per malai (butir)	117,3 $\pm$ 133,1	114,2 $\pm$ 81,1	0,870
Jumlah gabah hampa per malai (butir)	191,9 $\pm$ 119,1	202,8 $\pm$ 110,8	0,580
Jumlah gabah total per malai (butir)	309,2 $\pm$ 183,2	317,0 $\pm$ 150,8	0,780
Fertilitas (%)	32,9 $\pm$ 24,2	36,0 $\pm$ 21,1	0,410
Bobot gabah total (g)	2,821 $\pm$ 3,424	2,442 $\pm$ 1,890	0,420
Bobot 100 butir (g)	2,084 $\pm$ 0,752	1,974 $\pm$ 0,620	0,340

X $\pm$ SD DH adalah nilai tengah $\pm$ standar deviasi, * = uji t berbeda nyata pada taraf α 5%, ** = uji t berbeda sangat nyata pada taraf α 5%.

Tabel 5. Korelasi antarpeubah komponen hasil dengan analisis komponen utama.

Peubah	Jumlah anakan produktif	Jumlah gabah isi	Fertilitas	Bobot gabah total
Jumlah gabah isi	0,341	-	-	-
Fertilitas	-0,021	0,740	-	-
Bobot gabah total	0,316	0,973	0,740	-
Bobot 100 butir	0,013	0,375	0,547	0,475

Metode Jolliffe menyarankan penggunaan batas nilai Eigen $\geq 0,7$ untuk mendapatkan n komponen utama (Everitt dan Dunn 1991). Dari hasil analisis komponen utama terdapat dua komponen utama, yaitu KU1 dan KU2 yang memiliki nilai Eigen $\geq 0,7$ (Tabel 4). KU1 dapat menerangkan keragaman awal sebesar 60,6%, sedangkan KU2 sebesar 22,2%. KU1 dan KU2 secara kumulatif dapat menerangkan 82,2% keragaman data awal. Korelasi antarpeubah dengan KU1 dan KU2 disajikan pada Tabel 7.

KU1 berkorelasi positif dengan jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir (Tabel 7). Dengan demikian bila suatu galur mempunyai nilai KU1 yang tinggi, maka galur tersebut akan mempunyai jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir yang tinggi pula. KU2 berkorelasi negatif dengan jumlah anakan produktif, sehingga bila suatu galur memiliki nilai KU2 rendah, maka galur tersebut memiliki jumlah anak-

an produktif yang banyak. Nilai KU1 dan KU2 untuk setiap galur DH setelah diolah menghasilkan plot nilai KU1 dan KU2 seperti yang disajikan pada Gambar 1. Plot ini selanjutnya digunakan untuk menjelaskan ciri gerombol pada analisis gerombol selanjutnya.

Penggerombolan galur DH disajikan dalam bentuk dendrogram (Gambar 2). Pemotongan pada tingkat 78,8% menghasilkan sembilan gerombol. Pada tingkat kemiripan ini, tetua Asemendi dan Taipei 309 dapat dipisahkan ke dalam gerombol yang berbeda, sehingga identifikasi tiap-tiap gerombol menjadi lebih mudah dilakukan. Kategori gerombol berdasarkan nilai rata-rata komponen utama disajikan pada Tabel 8, sedangkan nilai rata-rata komponen hasil untuk setiap gerombol disajikan pada Tabel 9.

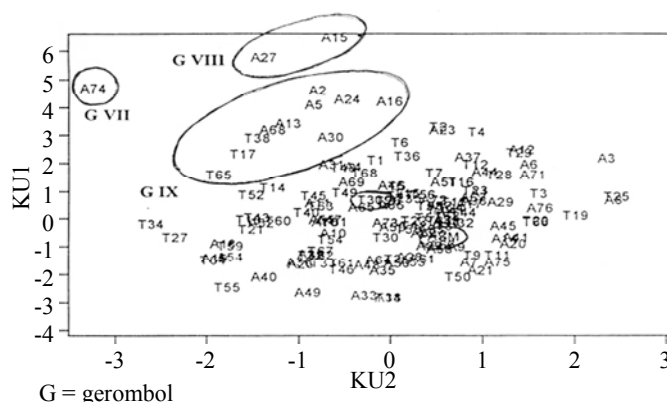
Gerombol I dan II mempunyai jumlah anggota berturut-turut 34 dan 45 galur DH. Galur-galur tersebut memiliki jumlah anakan produktif, jumlah

Tabel 6. Nilai Eigen, proporsi keragaman, dan keragaman kumulatif komponen utama.

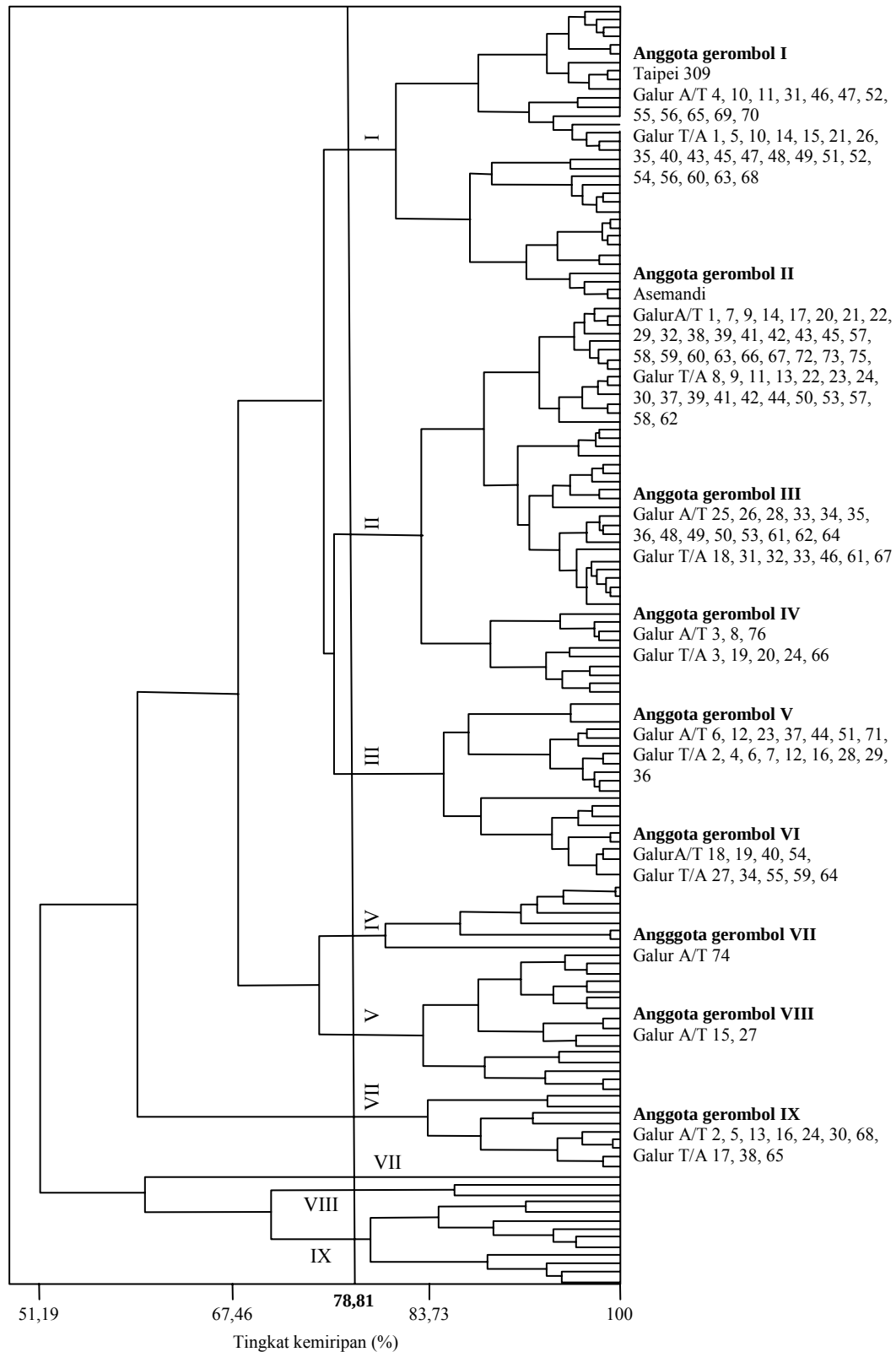
Komponen utama	Nilai Eigen	Proporsi keragaman	Keragaman kumulatif
KU1	3,0294	0,606	0,606
KU2	1,1091	0,222	0,828
KU3	0,6255	0,125	0,953
KU4	0,2168	0,043	0,996
KU5	0,0191	0,004	1,000

Tabel 7. Korelasi antara peubah komponen hasil dengan KU1 dan KU2.

Peubah	KU1	KU2
Jumlah anakan produktif	0,302	-0,888
Jumlah gabah isi	0,940	-0,173
Fertilitas	0,859	0,321
Bobot gabah total	0,958	-0,114
Bobot 100 butir	0,631	0,418



Gambar 1. Plot nilai komponen utama 1 dan komponen utama 2.



Gambar 2. Dendrogram populasi tanaman haploid ganda.

Tabel 8. Kategori nilai rata-rata komponen utama untuk setiap gerombol.

Gerombol	KU1		KU2	
	Nilai KU	Kategori	Nilai KU	Kategori
I	0,2890	Sedang	-0,5799	Sedang
II	-0,6270	Sedang	0,6735	Sedang
III	-2,1040	Rendah	-0,3666	Sedang
IV	0,2680	Sedang	1,9560	Tinggi
V	1,8820	Tinggi	0,8740	Sedang
VI	4,3533	Tinggi	-0,9940	Sedang
VII	5,7950	Tinggi	-3,2379	Rendah
VIII	3,0020	Tinggi	-1,0030	Sedang
IX	1,6320	Tinggi	-1,9180	Sedang

Tabel 9. Nilai rata-rata komponen hasil untuk setiap gerombol.

Gerombol	Jumlah anakan produktif	Jumlah gabah isi	Fertilitas (%)	Bobot gabah total (g)	Bobot 100 butir (g)
I	3,1	141,4	37,29	2,746	1,964
II	1,9	68,3	31,38	1,464	2,064
III	2,3	9,9	4,143	0,153	1,279
IV	1,3	73,8	46,78	2,134	3,038
V	2,2	197,5	55,51	5,023	2,440
VI	3,7	27,2	5,56	0,428	1,260
VII	6,0	400,0	44,99	11,211	2,803
VIII	4,0	541,0	80,50	13,986	2,616
IX	3,5	329,6	66,73	8,077	2,587

gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir dalam kategori sedang (Tabel 8). Namun bila dilihat dari nilai rata-rata peubah, kecuali bobot 100 butir, galur DH pada gerombol I mempunyai jumlah anakan produktif, jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total yang lebih tinggi dibandingkan dengan gerombol II (Tabel 9). Tetua Taipei 309 termasuk ke dalam gerombol I, sedangkan tetua Asemendi termasuk ke dalam gerombol II. Oleh karena itu gerombol I terdiri atas DH yang mempunyai kemiripan komponen hasil dengan tetua Taipei 309, sedangkan gerombol II terdiri atas galur DH yang mempunyai kemiripan komponen hasil dengan tetua Asemendi (Gambar 2).

Gerombol III mempunyai anggota sebanyak 21 galur DH. Gerombol ini terdiri atas galur-galur yang mempunyai jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir dalam kategori rendah dan jumlah anakan produktif dalam kategori sedang (Tabel 8 dan 9).

Gerombol IV terdiri atas delapan galur DH dan termasuk dalam kategori KU1 sedang dan KU2 tinggi (Tabel 8). Hal ini menunjukkan bahwa galur DH pada gerombol ini mempunyai jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir dalam kategori sedang dan jumlah anakan produktif tergolong rendah.

Gerombol V yang termasuk kategori tinggi untuk KU1 dan sedang untuk KU2 (Tabel 8) mempunyai anggota sebanyak 16 galur DH. Galur pada gerombol ini mempunyai jumlah anakan produktif dalam jumlah sedang, tetapi jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot gabah 100 butir tergolong tinggi (Tabel 9).

Gerombol VI berlawanan dengan gerombol III, mempunyai kategori tinggi untuk KU1 dan kategori sedang untuk KU2 (Tabel 8). Gerombol ini mempunyai anggota sebanyak sembilan galur DH. Berdasarkan KU-nya, anggota pada gerombol VI mempunyai jumlah anakan produktif tergolong tinggi dengan jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir tergolong sedang (Tabel 9).

Gerombol VII hanya beranggotakan satu DH, yaitu galur A/T 75a. Gerombol ini mempunyai nilai KU terbaik, yaitu kategori tinggi untuk KU1 dan kategori rendah untuk KU2 (Tabel 8). Hal ini menunjukkan bahwa galur A/T 75a mempunyai jumlah anakan produktif, fertilitas, jumlah gabah isi, bobot gabah total, dan bobot 100 butir yang tinggi (Tabel 9). Berdasarkan nilai rata-rata komponen hasil tampak bahwa gerombol VII mempunyai jumlah anakan produktif dan bobot 100 butir tertinggi di antara semua gerombol (Tabel 9).

Tabel 10. Karakter agronomi beberapa galur terpilih.

Galur	Bobot gabah total (g)	Bobot 100 butir (g)	Jumlah gabah isi/malai	Jumlah anakan produktif
A/T 12	10,781	2,216	487	3
A/T 57	9,689	2,556	379	4
A/T 200	7,766	2,572	302	4
A/T 274	14,919	2,568	581	3
A/T 282	9,777	2,923	335	3
A/T 321	10,459	2,582	405	3
A/T 333	13,054	2,606	501	4
A/T 348	7,757	2,288	339	3
A/T 399	7,314	2,337	313	4
A/T 75 a	11,211	2,803	400	6
T/A 258	7,627	2,501	305	4

Gerombol VIII mempunyai kategori yang sama dengan gerombol V dan IX, yaitu untuk KU1 dalam kategori tinggi dan KU2 dalam kategori sedang (Tabel 8). Anggota gerombol VIII hanya terdiri dari dua galur DH, yaitu A/T 274 dan A/T348. Berdasarkan nilai KU1 pada Tabel 8, gerombol VIII mempunyai jumlah anakan produktif, jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot 100 butir yang lebih tinggi dibandingkan dengan gerombol V dan IX. Dibandingkan dengan semua gerombol ternyata gerombol VIII memiliki nilai rata-rata jumlah gabah isi, fertilitas dan bobot gabah total tertinggi (Tabel 9).

Gerombol IX yang terdiri atas 10 galur DH termasuk ke dalam kategori KU1 tinggi dan KU2 sedang (Tabel 8). Kategori KU ini sama dengan kategori KU pada gerombol V dan VIII. Dibandingkan dengan gerombol V, nilai rata-rata komponen hasil untuk gerombol IX lebih tinggi, sehingga gerombol ini mempunyai jumlah anakan produktif, jumlah gabah isi, fertilitas, bobot gabah total, dan bobot gabah 100 butir lebih tinggi (Tabel 9).

Berdasarkan hasil analisis komponen utama dan analisis gerombol, galur DH anggota gerombol VII, VIII, dan IX mempunyai komponen hasil yang lebih baik dibandingkan dengan gerombol lainnya. Galur-galur dalam gerombol VII, VIII, dan IX memiliki bobot gabah total $\geq 4,123$ g, bobot 100 butir $\geq 1,987$, jumlah gabah isi ≥ 208 butir, fertilitas $\geq 39\%$, dan jumlah anakan produktif ≥ 3 anakan.

Galur T/A 135 dan T/A 516 yang merupakan anggota gerombol IX mempunyai bobot gabah total < 7 g, bobot 100 butir < 2 g, dan jumlah gabah isi < 300 butir, sehingga berpeluang untuk disisihkan. Dari anggota ketiga gerombol, yaitu gerombol VII, VIII, dan IX, yang memiliki bobot gabah total

$\geq 7,314$ g, bobot 100 butir $\geq 2,216$ g, jumlah gabah isi ≥ 302 butir, dan jumlah anakan produktif ≥ 3 anakan terpilih galur A/T 12, A/T 57, A/T 200, A/T 274, A/T 282, A/T 321, A/T 333, A/T 348, A/T 399, A/T 75a, dan T/A 258 sebagai galur yang mempunyai potensi untuk diseleksi lebih lanjut. Nilai komponen hasil untuk galur-galur DH tersebut disajikan pada Tabel 10.

KESIMPULAN

Populasi haploid ganda yang dihasilkan melalui kultur antera F_1 Asemendi/Taipei 309 dan resiproknya sangat bervariasi dan memenuhi syarat sebagai bahan seleksi. Karakter agronomi antargalur dalam populasi tanaman haploid ganda (DH) pada penelitian ini terbukti mempunyai keragaman yang besar. Dijumpai beberapa karakter morfologi baru pada populasi DH yang diamati, yang sebelumnya tidak ada pada kedua tetua pembentuknya, Pengaruh maternal hanya terjadi pada karakter umur bunting, jumlah anakan tidak produktif, dan persentase anakan produktif. Berdasarkan jumlah anakan produktif, jumlah gabah isi/malai, fertilitas, bobot 100 butir, dan hasil/tanaman, maka galur dengan kode A/T 12, A/T 57, A/T 200, A/T 274, A/T 282, A/T 321, A/T 333, A/T 348, A/T 399, A/T 75a, dan T/A 258 berpotensi untuk diseleksi lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Campbel, R.C. 1990. Statistics for biologists. 3rd ed. Cambridge Univ. Press. Cambridge, UK. 446 p.
- Chang, T.T. and E.A. Bardenas. 1965. The morphology and varietal characteristics of the rice plants. Tech. Bull. 4. IRRI, Los Banos. The Philippines.

- Chang, T.T. and C.C. Li. 1991. Genetics and Breeding. In Luh, B.S. (Ed.). Rice. Van Nostrand Reinhold. NY, USA. p. 23-101.
- Christensen, J.R., E. Borrino, A. Olesen, and S.B. Andersen. 1997. Diploid, tetraploid, and octoploid plants from anther culture of tetraploid orchard grass, *Dactylis glomerata* L. Plant Breeding 116:267-270.
- Daniel, W.W. 1989. Statistika Non Parametrik Terapan. Terjemahan oleh A.T. Kantjono. Gramedia, Jakarta. 617 hlm.
- De Datta, S.K. 1981. Principles and Practices of Rice Production. John Wiley and Sons. NY, USA. 618 p.
- Dewi, I.S. 2003. Peranan fisiologis poliamin dalam regenerasi tanaman pada kultur antera padi (*Oryza sativa* L.). Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 123 hlm.
- Dewi, I.S. dan B.S. Purwoko. 2001. Kultur antera untuk mendukung program pemuliaan tanaman padi. Bul. Agron. 29:59-63.
- Dewi, I.S., I. Hanarida, and S. Rianawati. 1996. Anther culture and its application for rice improvement program in Indonesia. Indon. Agric. Res. Aad Dev. J. 18:51-56.
- Dewi, I.S., B.S. Purwoko, H. Aswidinnoor, dan I. Hanarida. 2001. Peningkatan regenerasi tanaman hijau pada kultur antera padi Taipei 309 dan persilangan Taipei 309 x Asemendi dengan poliamin. Prosiding. Kongres IV dan Simposium Nasional PERIPI, 23-24 Oktober 2001. PERIPI Komda Yogyakarta dan Faperta Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Everitt, B.S. and G. Dunn. 1991. Applied Multivariate Data Analyses. Edward Arnold. London. 304 p.
- Fehr, W.R. 1987. Principles of Cultivar Development. Vol. I. McGraw-Hill, inc, NY. 536 p.
- Hu, H., Z.Y. Xi, and J.K. Jing. 1983. Production of whet pollen-derived aneuploid plants through anther culture. In Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement. Proceedings of a Workshop Cosponsored by The Institute of Genetics, Academia Sinica and The International Rice Research Institute. Science Press, Beijing, China. p. 173-182.
- Huang, B. 1996. Gametoclonal variation in crop improvement. 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. p. 73-91.
- IRRI, 1996. Standard Evaluation System for Rice. International Rice Testing Program (IRTP). IRRI, Philippines. 52 p.
- Lubis, E., Z. Harahap, M. Diredja, dan B. Kustianto. 1993. Perbaikan varietas padi gogo. Dalam Syam, M., Hermanto, A. Musaddad, dan Sunihardi (Eds.). Kinerja Penelitian Tanaman Pangan. Pusat Litbang Tanaman Pangan. Badan Litbang Pertanian, Bogor. hlm. 437-447.
- Moon, H.P., K.H. Kang, S.H. Choi, and S.N. Ahn. 1996. Genetic variation of a single pollen-derived doubled haploid population in rice. In Khush, G.S. (Ed.). Rice Genetics III. Proc. 3rd Rice Genetics symp. IRRI, Manila. p. 493-498.
- Niizeki, H. 1997. Anther (pollen culture). Chapt. I. Tissue culture. In Div. III. Biotechnology and Genetic Resources. In Matsuo, T., Y. Futsuhara, F. Kikuchi, and H. Yamaguchi (Eds.). Science of The Rice Plant. Vol. 3. Genetics. Food and Agriculture Policy Research Center. Tokyo. Japan. 3:691-705.
- Sasmita, P., B.S. Purwoko, S. Sujiprihati, dan I. Hanarida. 2002. Kultur antera padi persilangan kultivar dan aksesori toleran naungan. Hayati 9:19-23.
- Satish, P., O.L. Gamborg, and M.W. Nabors. 1995. Rice anther culture. Callus initiation and androclonal variation in progenies of regenerated plants. Plant Cell. Rep. 14:423-436.
- Shen, J.H., M.F. Li, Y.Q. Chen, and Z.H. Zhang. 1983. Improving rice by anther culture. 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. p. 183-205.
- Surya, R. 2000. Pengujian dan seleksi galur galur mutan tanaman sorghum (*Sorghum bicolor* L.) dengan analisis gerombol. Skripsi. Jurusan Statistika, FMIPA, Institut Pertanian Bogor. 17 hlm.
- Takahashi, N. 1997. Adaptation to environments and ecotype differentiation. Chapt. 3. Differentiation of Ecotypes in Cultivated Rice in Div. I. Origin and Differentiation of Rice. In Matsuo, T., Y. Futsuhara, F. Kikuchi, and H. Yamaguchi (Eds.). Science of the Rice Plant. Vol. 3. Genetics. Food and Agriculture Policy Research Center. Tokyo. Japan. p. 112-118.
- Yusro. 2001. Pengelompokan varietas/galur tanaman sorghum (*Sorghum bicolor* L.) berdasarkan ciri ciri usan Skripsi. Jurusan Statistika, FMIPA, Institut Pertanian Bogor. 11 hlm.
- Zhuravlev, Y.N. and V.N. Zmeeva. 1996. Gameto- and somaclonal variation in rice cultivars of the Russian Far East. In Khush, G.S. (Ed.). Rice Genetics III. Proc. 3rd Intl. Rice Genetics Symp. 16-20 Oct. 1995. IRRI, Manila. p. 505-510.
- Zhang, Z.H. 1989. The Practibility of anther culture breeding in rice. In A.Mujeeb-Kaji and L.A. Stich (Eds.). Review of Advances in Plant Biotechnology, 1985-1988. International Maize and Wheat Improvement Center-International Rice Research Institute. p. 31-42.