

## INDUKSI EMBRIOGENESIS MIKROSPORA DALAM RANGKA PROSES PEMULIAAN TANAMAN TOMAT (*Solanum lycopersicum* L.)

Ida Wilujeng Abidah Ubudiyah  
23/524913/PBI/01941

### ABSTRAK

Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) merupakan salah satu komoditas penting dengan produksi di Indonesia pada tahun 2023 mencapai 1,14 juta ton, namun jumlah ini masih rendah dibandingkan potensi produksi global. Peningkatan produksi tomat di Indonesia terhambat oleh varietas unggul produktif dan tahan penyakit yang masih terbatas. Androgenesis melalui embriogenesis mikrospora merupakan salah satu metode untuk mempercepat proses perakitan varietas unggul dengan menyediakan sumber tetua yang berkualitas. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan tahap perkembangan mikrospora yang optimal dan responsif untuk induksi embriogenesis mikrospora dan isolasi gen embrio homolog *RKD4* pada tomat. Metode yang digunakan meliputi: (1) pengamatan perkembangan mikrospora melalui penentuan ukuran kuncup bunga dan karakteristik anatomi untuk diinduksi menjadi mikrospora embriogenik, (2) perlakuan cekaman suhu (4°C, 25°C dan 33°C), (3) perlakuan starvasi karbon menggunakan medium B selama 1 hari terhadap mikrospora. Hasil penelitian menunjukkan, eksplan yang sesuai untuk isolasi mikrospora adalah kuncup bunga dengan ukuran 10,92±0,09 mm untuk F1 Comodor dan 13,42±0,09 mm untuk F1 Fortuna-23 yang mengandung lebih dari 60% mikrospora uniseluler akhir sebagai sumber eksplan. Perlakuan stres suhu, baik dilakukan sendiri maupun dikombinasikan dengan pelaparan sumber karbon, berhasil membelokkan jalur perkembangan mikrospora menuju struktur multiseluler embriogenik yang sangat bergantung pada varietas. Pada F1 Comodor, stres dingin tunggal pada 4°C dalam media NLN adalah yang paling efektif, sedangkan pada F1 Fortuna-23, stres panas tunggal pada 33°C dan kombinasi dengan pelaparan sumber karbon dalam media B memberikan hasil terbaik. Berdasarkan data PCR pada DNA genome tomat, terdapat gen homolog *RKD4* pada tomat yaitu *SIRKD3*. Hasil ekspresi gen menunjukkan *SIRKD3* terekspresi dengan adanya perlakuan stres suhu dan pelaparan karbon.

Kata kunci : embriogenesis mikrospora, stress suhu, pelaparan karbon, tomat, androgenesis, gen *SIRKD3*

## MICROSPORE EMBRYOGENESIS INDUCTION AS A STRATEGY FOR TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) BREEDING

Ida Wilujeng Abidah Ubudiyah  
23/524913/PBI/01941

### ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is an important horticultural commodity, with production in Indonesia reaching 1.14 million tons in 2023. However, this data remains low compared to its global production potential. The increase in tomato production in Indonesia is constrained by the limited availability of high-yielding and disease-resistant elite varieties. Androgenesis through microspore embryogenesis is one approach to accelerate the development of elite varieties by providing high-quality parental lines. This study aimed to determine the optimal and responsive microspore developmental stage for the induction of microspore embryogenesis and to isolate the homologous embryo-related gene *RKD4* in tomato. The methods employed included: (1) observation of microspore development through the determination of flower bud size and anatomical characteristics to induce embryogenic microspores, (2) temperature stress treatments (4°C, 25°C, and 33°C), and (3) carbon starvation treatment using B medium for one day. The results showed that suitable explants for microspore isolation were flower buds measuring  $10.92 \pm 0.09$  mm for F1 Comodor and  $13.42 \pm 0.09$  mm for F1 Fortuna-23, containing more than 60% late uninucleate microspores. Temperature stress treatments, either applied alone or in combination with carbon starvation, successfully redirected microspore development toward embryogenic multicellular structures in a strongly genotype-dependent manner. In F1 Comodor, single cold stress at 4°C in NLN medium was the most effective treatment, whereas in F1 Fortuna-23, single heat stress at 33°C and its combination with carbon starvation in B medium produced the best results. Based on PCR analysis of tomato genomic DNA, a homolog of the *RKD4* gene was identified in tomato, namely *SIRKD3*. Gene expression analysis showed that *SIRKD3* was expressed in response to temperature stress and carbon starvation treatments.

Keywords: microspore embryogenesis, temperature stress, carbon starvation, tomato, androgenesis, *SIRKD3* gene

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar belakang

Tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.) adalah salah satu makanan penting untuk dikonsumsi (Padmanabhan *et al.*, 2016). Produksi tomat Indonesia pada tahun 2023 mencapai 1,14 juta ton, mengalami penurunan 2,13% dibandingkan tahun sebelumnya (BPS, 2024a). Angka ini masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan produksi tomat dunia yang mencapai lebih dari 186,1 juta ton pada tahun 2022 (FAO, 2024), meskipun Indonesia memiliki luas panen tomat yang cukup besar, yaitu 61.255 ha pada tahun 2023 (BPS, 2024b). Rendahnya produksi tersebut menunjukkan bahwa produktivitas tomat nasional masih tertinggal dibandingkan negara lain dengan luas lahan yang lebih kecil. Kondisi ini disebabkan oleh keterbatasan varietas unggul yang berdaya hasil tinggi dan tahan terhadap penyakit, sehingga diperlukan upaya perakitan varietas unggul untuk mendukung peningkatan produksi tomat.

Perakitan suatu varietas dapat dipercepat melalui penerapan kombinasi antara metode pemuliaan konvensional dengan metode pemuliaan modern. Salah satu teknologi pemuliaan modern yang menjanjikan untuk perakitan varietas adalah melalui pendekatan secara bioteknologi menggunakan teknik induksi haploid ganda (Corral-Martínez *et al.*, 2011). Teknologi induksi haploid ganda merupakan suatu teknik untuk menghasilkan tanaman dengan set kromosom ganda melalui induksi haploid, yang membantu mempercepat pemuliaan tanaman dan menghasilkan individu DH dengan genotipe homozigot (Badulescu *et al.*, 2022). Tanaman DH

juga menampilkan keragaman genetik yang lengkap sejak awal seleksi, sehingga meningkatkan efisiensi seleksi, heritabilitas, dan ketepatan evaluasi tanpa adanya heterozigositas sehingga proses seleksi calon tetua dalam perakitan varietas menjadi lebih terarah (Arabzai *et al.*, 2025; Tefera, 2017).

Teknik induksi haploid ganda meliputi, kultur antera (Germanà, 2011; Supena *et al.*, 2006), kultur isolasi mikrospora (Touraev *et al.*, 2009), kultur ovul (Murovec dan Bohanec, 2012) dan kultur ovarium (Tang *et al.*, 2006). Isolasi mikrospora menjadi pilihan yang paling banyak digunakan karena aplikasinya yang efisien (Ahmadi *et al.*, 2015) dengan menghilangkan dinding antera yang dapat menghambat perkembangan mikrospora serta berpotensi menghasilkan berkembangnya jaringan somatik diploid yang tidak diinginkan serta perlakuan dapat secara langsung optimal pada mikrospora (Bhaskara, 2018).

Keberhasilan kultur antera tomat ditentukan oleh genotipe yang digunakan, media kultur (Motallebi-Azar, 2010), fase perkembangan mikrospora, pra perlakuan kuncup, kondisi fisiologi tanaman donor, dan kondisi lingkungan kultur (Supena, *et al.*, 2005). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa induksi haploid ganda dan regenerasi dapat berhasil secara optimal bila menggunakan antera pada fase meiosis, tetrad (Segui-Simarro dan Nuez, 2005) dan uninukleat (Supena *et al.*, 2006). Indrianto *et al.*, (1999), menyatakan bahwa stadia perkembangan mikrospora merupakan hal yang penting dalam induksi embriogenesis mikrospora untuk membelokkan jalur perkembangan gametofitik menjadi sporofitik.

Pembelokan jalur perkembangan mikrospora dapat diinduksi melalui perlakuan cekaman, sehingga cekaman menjadi faktor penting dalam menginisiasi embriogenesis pada kultur mikrospora maupun antera. Jenis cekaman yang umum digunakan meliputi cekaman dingin (*cold shock*), cekaman panas (*heat shock*), dan starvasi sumber karbon (Shariatpanahi *et al.*, 2006). Pada tomat, penerapan cekaman dingin pada kultur antera telah dilaporkan mampu menginduksi pembentukan kalus (Ahmadi *et al.*, 2015; Badulescu *et al.*, 2022; Popescu *et al.*, 2022).

Pembelokan jalur perkembangan mikrospora dikendalikan oleh mekanisme molekuler, namun pada tomat keterkaitan antara perlakuan cekaman dan perubahan jalur perkembangan mikrospora masih belum banyak dikaji. Studi mengenai embriogenesis zigotik dan somatik pada *Arabidopsis thaliana* menunjukkan bahwa proses tersebut dipengaruhi oleh gen *RKD* yang mengode faktor transkripsi bermotif konservatif *RWP-RK* (Chardin *et al.*, 2014). Gen *RKD*, khususnya *RKD4* pada *A. thaliana* berperan dalam aktivasi gen embriogenesis awal, serta overekspresi gen *RKD4* dapat memicu terjadinya embriogenesis somatik (Waki *et al.*, 2011). Pada tanaman lain seperti padi (Purwestri *et al.*, 2023) dan jeruk (Shimada *et al.*, 2018), protein bermotif *RWP-RK* juga terlibat dalam pengaturan embriogenesis, namun belum ada penelitian mengenai motif dan pengaruh gen *RKD* terhadap embriogenesis mikrospora pada tomat. Penelitian ini dilakukan untuk menginduksi embriogenesis mikrospora pada tomat dengan perlakuan stress suhu dan starvasi sukrosa serta mengetahui peran serta motif gen *RKD* terhadap embriogenesis mikrospora pada tomat.

## B. Rumusan permasalahan

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan permasalahan dari penelitian ini adalah

1. Bagaimanakah fase perkembangan mikrospora tomat berdasarkan ukuran kuncup bunga dan anatomi untuk menentukan fase yang paling responsif terhadap induksi embriogenesis mikrospora?
2. Bagaimanakah pengaruh cekaman suhu dan starvasi sumber karbon terhadap pembelokan jalur perkembangan mikrospora gametofitik menuju jalur sporofitik sehingga terbentuk mikrospora embriogenik?
3. Apakah terdapat homolog *AtRKD4* pada tanaman tomat dengan fungsi yang sama untuk induksi embriogenesis?

## C. Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan permasalahan tersebut, tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mendapatkan dan mengidentifikasi fase perkembangan mikrospora tomat berdasarkan ukuran kuncup bunga dan anatomi untuk menentukan fase yang paling responsif terhadap induksi embriogenesis mikrospora.
2. Mengevaluasi pengaruh cekaman suhu dan starvasi sumber karbon terhadap perubahan jalur perkembangan mikrospora dari gametofitik ke sporofitik untuk menghasilkan mikrospora embriogenik.
3. Menganalisa homolog *AtRKD4* pada tomat untuk mengetahui pengaruhnya terhadap embriogenesis.

#### D. Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah mendapatkan informasi tentang fase perkembangan mikrospora serta metode induksi embriogenesis mikrospora yang optimal dan memperoleh struktur gen embrio homolog *RKD4* pada tomat. Hasil penelitian ini diharapkan berkontribusi dalam pengembangan metode induksi haploid ganda pada tomat untuk mendukung proses pemuliaan tanaman dalam memperoleh galur murni sebagai sumber tetua untuk menghasilkan varietas unggul.

#### E. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian meliputi beberapa kegiatan berikut :

1. Pemilihan stadia perkembangan mikrospora fase uniseluler akhir hingga biseluler awal berdasarkan ukuran kuncup.
2. Persentase pembelokan jalur perkembangan mikrospora tomat dari gametofitik menuju sporofitik melalui perlakuan cekaman suhu dan kombinasi pelaparan sumber karbon dengan ditandainya pembelahan inti sel mikrospora menuju struktur multiseluler.
3. Isolasi DNA genome tomat untuk mengetahui ada tidaknya gen homolog *RKD4* pada tomat dan dilakukan sequencing dan blasting untuk mengetahui kesamaan motif asam amino RWP-RK antara *S. lycopersicum* dan *A. thaliana*.
4. Analisa ekspresi gen *SIRKD3* pada mikrospora tomat yang sudah melalui perlakuan cekaman stres dan pelaparan sumber karbon untuk mengetahui ada atau tidaknya keterkaitan antara gen *SIRKD3* dengan respon mikrospora embriogenik.