UJI VIABILITAS SERBUK SARI *Hemerocallis fulva* L. (Liliaceae) SETELAH PENYIMPANAN PADA WAKTU DAN SUHU YANG BERBEDA

Ni Kadek Sari Dewi Handayani¹, Eniek Kriswiyanti¹, Ida Ayu Astarini^{1,2}

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Udayana, Bali 2Program Studi Magister Ilmu Biologi, Program Pascasarjana Universitas Udayana, Bali Email: idaastarini@yahoo.com

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tipe bentuk serbuk sari Hemerocallis fulva L., viabilitas dan perkembangan serbuk sari setelah disimpan pada suhu 28°C, 4°C, -20°C, -80°C dengan waktu penyimpanan 0-8 minggu. Penelitian dilakukan mulai bulan Januari - Maret 2010. Sampel serbuk sari diambil dari UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya 'Eka Karya' Bali. Penyimpanan dan pengamatan serbuk sari dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Struktur Perkembangan Tumbuhan (SPT) Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Udayana. Uji viabilitas menggunakan media hanging drop dan media agar yang ditambahkan GA₃. Hasil penelitian menunjukkan tipe bentuk serbuk sari Hemerocallis fulva L.: monosulkat, media, Prolate spheroiodal, (54.25 X 47.47), P/E:1.14, zono, colpate, retikulat. Persentase viabilitas serbuk sari Hemerocallis fulva L. dengan media hanging drop pada kontrol adalah 8.33% menurun pada penyimpanan suhu 4°C minggu ke 1 dan suhu -20°C minggu ke 5 yaitu 4%, sedangkan dengan media agar + GA₃ pada kontrol viabilitasnya 3.17% dan meningkat pada suhu -20°C yaitu 11.67%. Serbuk sari masak Hemerocallis fulva L. dapat diamati pada tingkat uninukleat, binukleat, dan trinukleat. Perkembangan serbuk sari dengan media hanging drop pada kontrol memiliki panjang buluh 115.94 μm dan panjang buluh meningkat pada suhu 4°C dengan lama penyimpanan minggu ke 1 yaitu 256.39 μm, sedangkan pada media agar + GA₃ pada kontrol memiliki panjang buluh 149.82 μm dan pada suhu 28°C, 4°C, -20°C dan -80°C berturut-turut 94.73 μm; 142.1 μm; 95.53 μm; 118.67 μm dengan lama penyimpanan minggu ke 1.

Kata kunci: viabilitas serbuk sari, hanging drop, media agar, GA₃ penyimpanan pollen.

ABSTRACT

This study aims to determine the type of *Hemerocallis fulva* L. pollen, pollen viability and growth after storage at 28°C, 4°C, -20°C, -80°C temperature for 0-8 weeks. The study was conducted from January - March 2010. Pollen samples were taken from UPT. Botanical Gardens Plant Conservation 'Eka Karya' Bali. Pollen storage and observations was carried out at the Laboratory of Plant Biotechnology and Development Structure, Biology Department, Faculty of Science, Udayana University. Viability test were conducted using hanging drop media and agar media with GA3. The results showed that type of *Hemerocallis fulva* L. pollen were: monosulkat, Prolate spheroiodal, (54.25 X 47.47), P/E: 1.14, Zono, colpate, reticulate. Fresh pollen viability on hanging drop media was 8.33%, decreased to 4% after storage at 4°C for one week and -20°C for 5 weeks. Whereas on agar media, control pollen has viability of 3.17% and increased at -20°C to become 11.67%. Mature pollen can be observed at the level of uninukleat, binukleat, and trinukleat. The development of pollen with the media hanging drop on the control has a long reed 115.94 μm and length increased at 4 ° C with storage duration ie 256.39 weeks to 1 μm, whereas on an agar medium + GA3 to control reed 149.82 μm in length and at 28 ° C, 4 ° C, -20 ° C and -80 ° C respectively 94.73 μm; 142.1 μm; 95.53 μm; 118.67 μm at 1 week storage time.

Keywords: pollen viability, hanging drop, agar, GA₃, pollen storage.

ISSN: 2302-5697

PENDAHULUAN

Hemerocallis merupakan tanaman hias anggota famili Liliaceae yang hidup secara luas di dataran tinggi dan digunakan sebagai tanaman bunga pot, kebun dan lainnya. Hemerocallis fulva L. memiliki morfologi bunga berwarna oranye dengan ukuran bunga ± 15 cm, benang sari berjumlah 6 dengan panjang 4-7 cm. Putik berbentuk silindris dengan panjang ± 8 cm. Mahkota halus dan lonjong dengan enam helai berwarna oranye (Gambar 1) (Anonim, 2009a).



Gambar 1. Hemerocallis fulva L.

Hemerocallis dikenal dengan nama daylily, karena masing-masing bunga hanya mampu bertahan selama satu hari sedangkan satu rumpun bunga hanya mampu bertahan 10-12 hari. Mayoritas tanaman Hemerocallis yang ada saat ini adalah berwarna oranye dan kuning. Keterbatasan warna yang signifikan akan mengurangi nilai pasar dari bunga tersebut. Oleh karena itu persilangan untuk kultivar baru dengan variasi warna bunga dan bentuk bunga sangat diperlukan. Persilangan intergenerik antar Hemerocallis dan Lilium perlu rangka peningkatan dilakukan dalam ornamentasi tanaman Hemerocallis. hibrida yang dihasilkan diharapkan mempunyai bunga dengan waktu mekar lebih panjang dan keanekaragaman warna bunga dan bentuk yang bervariasi (Ahn et al., 2002).

Seringkali tanaman yang disilangkan memiliki kematangan bunga jantan dan betina yang tidak bersamaan. Oleh karena itu untuk menjaga viabilitas serbuk sari perlu dilakukan penyimpanan serbuk sari pada suhu tertentu, agar serbuk sari tetap viabel pada saat penyilangan dilakukan (Astarini, 1997).

ISSN: 2302-5697

Uji viabilitas serbuk sari dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu uji perkecambahan (*in vitro*) dan uji histokimia (uji warna) (Bhojwani dan Bhatnagar, 1999). Uji perkecambahan serbuk sari secara *in vitro* dapat dilihat pada tanaman anggrek, dimana pemberian hormon giberelin akan mempengaruhi perkecambahan benih anggrek terutama pada jenis anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) (Yusnida dkk, 2006).

Suhu dan waktu penyimpanan serbuk sari akan mempengaruhi viabilitasnya. Salah satunya adalah penyimpanan serbuk sari pada kelapa sawit, dimana serbuk sari kelapa sawit yang disimpan dalam botol vakum pada suhu -18°C dapat bertahan selama 2-3 bulan bahkan sampai 1 tahun dengan daya berkecambah pada awal penyimpanan akhir penyimpanan 89% pada Penyimpanan rendah pada suhu tidak menyebabkan perubahan kandungan air serbuk sari, karena air tersebut terikat dan tidak membeku (Widiastuti dan Endah, 2008).

Pada umumnya suhu rendah lebih baik untuk perkecambahan serbuk sari namun ini juga tergantung pada genotip yang digunakan. Serbuk sari *Prunus* sp. akan mempertahankan kemampuan perkecambahannya jika disimpan pada suhu 2° - 5°C selama 4 sampai 5 tahun, sedangkan serbuk sari dengan media gula yang di simpan pada suhu 5°C akan bertahan selama 1 tahun (Parfitt and Almehdi, 1984).

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan Januari - Maret 2010. Sampel polen diambil di UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya 'Eka Karya' Bali-LIPI. Sampel yang diambil adalah serbuk sari atau polen dari bunga *Hemerocallis fulva* L. Penyimpanan serbuk sari dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Udayana dan pengamatan serbuk sari dilakukan di Laboratorium Struktur Perkembangan Tumbuhan (SPT) Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Udayana Jimbaran.

Serbuk sari tersebut diambil secara acak dari individu berbeda tetapi dalam satu jenis yang sama lalu diletakkan di dalam *petri dish* dan dikeringanginkan selama 1 - 3 menit, setelah itu

dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf dan disimpan pada suhu yang berbeda yaitu suhu kamar (28°C), *refrigerator* (4°C), *freezer* (-20°C), dan (-80°C) dimana masing-masing perlakuan terdiri dari 3 ulangan.

Media perkecambahan serbuk sari menggunakan media gula agar yaitu 0.8% agar larutan gula. Pembuatan media dalam 2% perkecambahan serbuk sari pada metode Hanging drop adalah menggunakan larutan atau gula dan garam anorganik. Untuk larutan gula disiapkan sebanyak 20.5 g dalam 50 ml aquades dan untuk garam disiapkan 0.417 g Ca (NO₃)₂, 0.200 g H₃BO₃, 0.101 g KNO₃, dan 0.217 g MgSO₄-7H₂0 ke dalam 1 liter air (Anonim, 1997). Dioleskan media agar yang telah ditambahkan GA3 pada gelas benda dengan menggunakan kuas. Setelah media agar dingin, taburkan serbuk sari pada gelas benda yang telah berisi media agar tersebut. Inkubasi pada suhu kamar (28°C) selama 24 jam lalu diberi pewarna aceto orcein dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10.

Media gula dan garam yang sudah siap dicampur dan diaduk menggunakan pipet tetes dalam penutup fuji film. Media gula diberikan 2 tetes dan larutan garam sebanyak 6 tetes. Lalu diteteskan di atas gelas benda. Setelah itu diambil serbuk sari dari tanaman bunga mekar dan ditaburkan di atas gelas benda. Selanjutnya gelas benda dibalik dengan hati-hati sehingga tetesan tersebut berada pada bagian atas dari tutup fuji film tersebut. Diinkubasi pada suhu kamar (28°C) dan dibiarkan selama 24 jam, lalu diberi pewarna *aseto orcein* dan ditutup dengan gelas penutup, diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10 (Anonim, 1997).

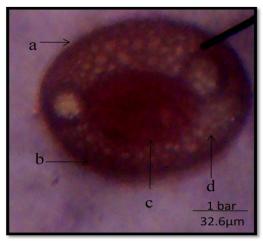
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan pengukuran serbuk sari *Hemerocallis fulva* L. memiliki karakteristik panjang axis polar (P) yaitu 54.25 \pm 7.29 dan diameter bidang equatorial (E) yaitu 47.47 \pm 4.32 sehingga termasuk kelompok *media* yaitu butir serbuk sari berdiameter antara 25 μ m – 50 μ m (Erdtman, 1952) dengan indeks P/E yaitu 1.14.

Pada serbuk sari untuk menentukan apertura dapat diamati bagian dari lapisan eksin. Apertura

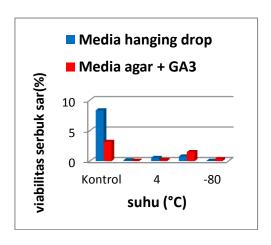
pada serbuk sari Hemerocallis fulva L. memiliki jumlah apertura 1 atau disebut mono dengan bentuk colpate (colpus) artinya apertura berupa celah atau torehan yang memanjang dengan sudut tegak lurus terhadap bidang ekuator. Apertura merupakan suatu area yang tipis pada eksin yang berhubungan dengan perkecambahan serbuk sari (Gambar 2). Posisi aperturnya disebut zono karena aperturnya terdapat pada bidang ekuatorial (Erdtman, 1952). Sedangkan tipe ornamentasinya adalah tipe retikulat artinya unsur ornamentasi membentuk pola seperti jala (permukaan agak kasar). Pencandraan tipe ornamentasi eksin dibuat berdasarkan ukuran, bentuk dan susunan unsur ornamentasinya (Kapp, 1969 and Moore & Webb, 1978).

ISSN: 2302-5697



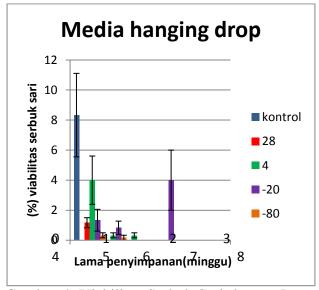
Gambar 2. Serbuk sari *Hemerocallis* fulva L. Perbesaran: 306.6X Keterangan: a. Eksin b. Intin c. Apertura d. Ornamentasi

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menggunakan dua media yaitu media hanging drop dan media agar + GA3 pada (kontrol) dan penyimpanan yaitu pada (28°C), (4°C), (-20C) dan (-80C) selama 1 sampai 8 minggu diperoleh hasil sebagai berikut:



Gambar 3. Viabilitas Serbuk Sari pada Suhu yang berbeda

Gambar 3 menunjukkan pada media hanging drop viabilitas tertinggi ditunjukkan pada kontrol dimana viabilitasnya 8.33% kemudian menurun berturut-turut pada suhu 28°C, 4°C, -20°C, -80°C menjadi 0.15%; 0.54%; 0.77%; 0.06%. Hasil tersebut serupa dengan media agar + GA₃, dimana kontrol lebih tinggi viabilitasnya yaitu 3.17% dan selanjutnya terjadi penurunan viabilitas berturutturut pada suhu 28°C, 4°C, -20°C, -80°C menjadi 0.06%; 0.19%; 1.48%; 0.33%. Jika dibandingkan antara media agar + GA₃ dan media hanging drop untuk viabilitas serbuk sari, media hanging drop lebih baik dibandingkan dengan media agar. Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan pengaruh desikasi.



Gambar 4. Viabilitas Serbuk Sari dengan Lama Penyimpanan yang Berbeda

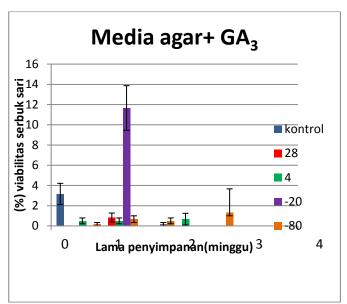
Gambar 4 menunjukkan penyimpanan suhu 28°C pada media *hanging drop* memiliki persentase viabilitas 1.17% pada minggu ke 1 selanjutnya hingga minggu ke 8 viabilitasnya menurun hingga 0%. Hasil tersebut sesuai pendapat Albre dan Gibernau (2003) yang mengatakan bahwa pada umumnya dengan kondisi alami seperti suhu kamar serbuk sari akan tetap viabel dengan jangka waktu dua hari saja. Namun serbuk sari *almond* jika disimpan pada suhu kamar 22°C perkecambahannya menurun tajam setelah minggu ke 5 (Gomez., *et al*).

ISSN: 2302-5697

Penyimpanan suhu 4°C pada *Hemerocallis fulva* L. minggu 1 mencapai 4%, kemudian pada minggu ke 2 dan ke 3 sebanyak 0.33% selanjutnya menurun 0% pada minggu ke 4 hingga ke 8. Menurunnya viabilitas serbuk sari selain pengaruh suhu dan lama penyimpanan juga tergantung spesies.

Penyimpanan selama 1 dan 2 minggu pada suhu -20°C diperoleh berturut-turut 1.33% dan 0.83% dan menurun menjadi 0% pada minggu ke 4. Setelah itu pada minggu ke 5 meningkat kembali sebesar 4% dan menurun hingga minggu ke 8 yaitu 0%. Adanya peningkatan pada minggu ke 5 kemungkinan berkaitan dengan dormansi, dimana peranan suhu dapat mematahkan dormansi. Pada umumnya dormansi suhu memerlukan periode perlakuan yang lebih panjang dibandingkan dormansi fisik lainnya (Utomo, 2006).

Gambar 5 menunjukkan pengujian dengan media agar + GA₃ pada kontrol viabilitasnya mencapai 3.17%. sedangkan dengan penyimpanan minggu ke 2 pada suhu kamar 28°C, viabilitas serbuk sari hanya 0.83% dan menurun hingga minggu ke 8 yaitu 0%. Penyimpanan serbuk sari suhu pada 4°C pada minggu 1 dan ke 2 adalah 0.50% dan menurun pada minggu ke 3 sebesar 0% lalu meningkat kembali pada minggu ke 4 yakni 1% selanjutnya menurun kembali sebanyak 0% hingga minggu ke 8. Penurunan viabilitas yang terjadi pada penyimpanan suhu 4°C pada *Hemerocallis fulva* L. sama seperti yang terjadi pada *Boronia heterophyla*.



Gambar 5. Viabilitas serbuk sari dengan Media $Agar + GA_3$

Menurut Astarini (1997) untuk penyimpanan serbuk sari *Boronia heterophyla* pada suhu *refrigerator* 4°C viabilitas akan cenderung berkurang antara 54-70% sesudah penyimpanan selama 60 hari. Perven (2007) juga membuktikan bahwa serbuk sari *Papilionaceae* yang disimpan pada suhu 4°C memperlihatkan perkecambahan hingga 76% pada minggu pertama, tetapi menurun dengan cepat setelah 48 minggu.

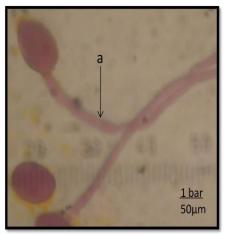
Penyimpanan pada suhu -20°C viabilitas serbuk sari baru terlihat pada minggu ke 2 yakni 11.67% dan minggu ke 3 sebanyak 0.17% setelah itu menurun kembali hingga 0% pada minggu ke 8. Suhu -20°C cocok untuk memelihara viabilitas serbuk sari selama penyimpanan pada Zaitun (olive) selama 1 tahun, *Citrus* untuk 3 tahun, *Vitis vinifera* selama 4 tahun dan *Prunus persica* untuk 9 tahun (Parfitt and Almehd, 1984). Sedangkan pada penyimpanan -80°C pada minggu 1, 2, dan 3 memiliki viabilitas serbuk sari berturut-turut 0,17%; 0,67%; 0.5% dan kembali menurun 0% pada minggu ke 4. Pada minggu ke 5 viabilitas cenderung meningkat mencapai 1.33%.

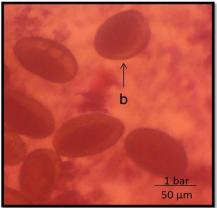
Peningkatan dan penurunan viabilitas yang terjadi pada serbuk sari pada *Hemerocallis fulva* L. pada setiap minggunya, berkaitan dengan adaptasi pada suhu dan lama penyimpanan. Karena menurut Kafizadeh, *et al.* (2008) selain pengaruh peningkatan dan penurunan suhu juga disebabkan

jangka waktu yang pendek dimana sangat berpengaruh terhadap fisiologi tumbuhan tersebut.

ISSN: 2302-5697

Gambar 6a menunjukkan serbuk sari *Hemerocallis fulva* L. yang viabel ditandai dengan keluarnya buluh dan panjang buluh sama atau lebih panjang dari diameter serbuk sari. Selanjutnya Gambar 6b menunjukkan serbuk sari *Hemerocallis fulva* L. tidak viabel karena panjang buluh serbuk sari lebih kecil dibandingkan dengan diameter serbuk sari (Pearson and Harney, 1984).

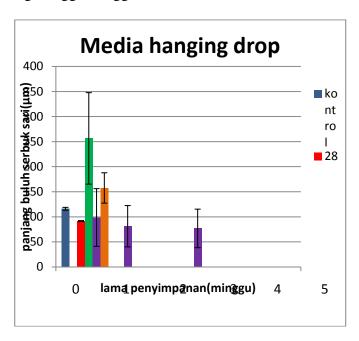




Gambar 6. Serbuk Sari H. fulva

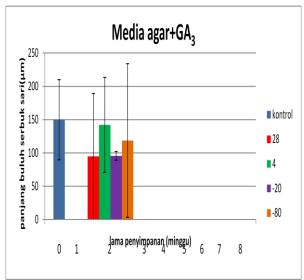
Gambar 7 menunjukkan panjang buluh serbuk sari *Hemerocallis fulva* L. dengan media *hanging drop* pada perlakuan kontrol mampu membentuk buluh sepanjang 115.94 μm. Penyimpanan suhu 28°C pada minggu ke 1 memiliki panjang buluh 91.39 μm selanjutnya tidak membentuk buluh sampai minggu ke 8. Pada suhu 4°C buluh yang memanjang pada minggu ke 1 yaitu 256.39 μm dan tidak membentuk buluh hingga minggu ke 8. Namun pada suhu -20°C dengan penyimpanan minggu ke 1 dan minggu ke 2 berturut-turut 98.58 μm dan 81.18 μm, tetapi tidak membentuk buluh

pada minggu 3 dan minggu ke 4. Pada minggu ke 5 buluh serbuk sari diperoleh panjang buluh 76.81 µm dan selanjutnya hingga minggu ke 8 buluh tidak terbentuk lagi. Pada suhu -80°C hanya dapat membentuk buluh pada minggu 1, dengan panjang buluh hanya 52.5 µm dan tidak terbentuk buluh lagi hingga minggu ke 8.



Gambar 7. Panjang buluh Sebuk sari dengan media Hanging drop

 GA_3 (Gambar Pada media agar + pertumbuhan buluh menunjukkan terpanjang diperoleh pada kontrol yaitu 149.82 µm. Untuk perlakuan penyimpanan suhu 28°C, 4°C, -20°C, -80°C hanya membentuk buluh pada penyimpanan minggu ke 2. Panjang buluh berturut – turut tersebut yaitu 94.73 µm, 142.1 µm, 95.53 µm dan 118.67 µm, sedangkan pada minggu 1,3-8 minggu tidak membentuk buluh serbuk sari dikarenakan pengaruh adaptasi dari serbuk sari tersebut terhadap perlakuan suhu dan lama penyimpanan. Menurut Ashari (2002) panjang buluh serbuk sari akan sangat menentukan kemampuan dari buluh serbuk sari untuk mencapai kantong embrio.



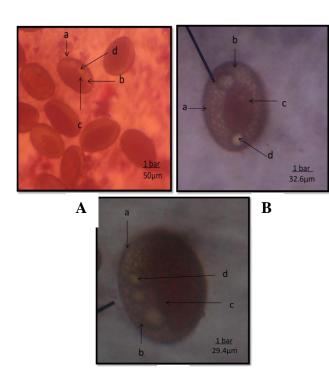
ISSN: 2302-5697

Gambar 8. Panjang buluh Sebuk sari dengan Media Agar + GA3

Buluh yang panjang pada media agar + GA $_3$ disebabkan karena adanya pengaruh hormon giberelin yang ditambahkan pada media agar tersebut dan hormon auksin yang terdapat pada serbuk sari. Karena ditambahkannya GA $_3$ pada media agar, akan menyebabkan terjadinya pemanjangan buluh serbuk sari dan meningkatkan polinasi (Bhojwani dan Bhatnagar, 1999).

Adanya perbedaan panjang buluh serbuk sari *Hemerocallis fulva* L. pada perlakuan suhu dan lama penyimpanan disebabkan karena perbedaan media pertumbuhan yang digunakan yaitu menggunakan media *hanging drop* dan media agar yang ditambahkan GA₃ serta kandungan dalam media tersebut yang berbeda.

Dari hasil serbuk pengamatan sari Hemerocallis fulva diketahui L. juga perkembangan mikrospora serbuk sari yaitu terdiri dari satu inti (uninukleat), dua inti (binukleat), dan tiga inti (trinukleat) (Gambar 9). Pada serbuk sari Hemerocallis fulva L. paling banyak ditemukan adalah satu inti dan dua inti dibandingkan dengan tiga inti. Ini disebabkan serbuk sari trinukleat sampai kali berespirasi 2 lebih 3 dibandingkan serbuk sari uninukleat dan binukleat.



Gambar 9. Tahap perkembangan Serbuk sari *H. fulva* L. Perbesaran: A. 200X; B. 306.6X; C. 340X

C

Keterangan:

- A. Tahap perkembangan uninukleat;
- B. Tahap perkembangan binukleat;
- C. Tahap perkembangan trinukleat
- a. Eksin; b. intin; c. apertura; d. inti

SIMPULAN

- 1. Tipe bentuk serbuk sari *Hemerocallis fulva* L.: *monosulkat*, *media*, *Prolate spheroiodal*, (54.25μm X 47.47μm), P/E:1.14, *zono*, *colpate*, *retikulat*.
- 2. Secara umum persentase viabilitas serbuk sari rendah dengan waktu penyimpanan yang relatif singkat. Persentase viabilitas serbuk sari *Hemerocallis fulva* L. dengan media *hanging drop* pada kontrol adalah 8.33% menurun pada penyimpanan suhu 4°C minggu ke 1 dan suhu 20°C minggu ke 5 yaitu 4%. sedangkan dengan media agar + GA₃ pada kontrol viabilitasnya 3.17% dan meningkat minggu ke 2 pada suhu 20°C yaitu 11.67%.

3. Serbuk sari masak *Hemerocallis fulva* L. dapat diamati pada tingkat uninukleat, binukleat, dan trinukleat. Perkembangan serbuk sari dengan media *hanging drop* pada kontrol memiliki panjang buluh 115.94 μm dan panjang buluh meningkat pada suhu 4°C dengan lama penyimpanan minggu ke 1 yaitu 256.39 μm, sedangkan pada media agar + GA₃ pada kontrol memiliki panjang buluh 149.82 μm dan menurun pada suhu 28°C, 4°C, -20°C dan -80°C berturutturut 94.73 μm; 142.1 μm; 95.53 μm; 118.67 μm dengan lama penyimpanan minggu ke 1.

ISSN: 2302-5697

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai viabilitas serbuk sari *H. fulva* L. dengan mengkombinasikan pengaruh suhu dan kandungan air (*moisture content*) pada serbuk sari dengan jarak waktu pengamatan yang lebih pendek.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya 'Eka Karya' Bali-LIPI yang telah memberi izin pengambilan sampel pada saat penelitian berlangsung.

KEPUSTAKAAN

Ahn, M.S., Lim, H.C., Choi, D.C., Choi, J.S., Choi, Y.G and Park, Y.J. 2002. Basal media, growth regulators and addition agents on callus formation regeneration for anther culture of *Hemerocallis* spp. Kor, J, Hort, Sci 3(1):124-129.

Albre, J., A. Quilichini dan M. Gibernau. 2003. Pollination Ecology of *Arum italicum* (Araceae). Available at :http://www.edb.upstlse.fr/equipe3/AQ/pdf/ital%2 0 pollination. pdf. Opened: 17.01.2010

Anonim, 2009a. Hemerocallis fulva L.

Available at :http://www.plantamor.com/index.php?plant=667. Opened: 29.07.09

Anonim, 1997. Wisconsin Fast Plant, Universitas of Wisconsin-Madison, College of Agricultural and Life Sciences Departement of Plant Pathology, 1630 Linden Drive Madison WI 53706

Ashari, S. 2002. Pengantar Biologi Reproduksi Tanaman. Cetakan ke 1. PT Rineka Cipta. Jakarta

- Astarini, I.A. 1997. Intraspesifik and Interspesifik Hybridisation of *Boronia heterophyla* F. Muell. MSc Thesis. Plant sciences. Faculty of Agriculture, The University of Western Australia, Perth-Australia.
- Bhojwani, S. S. And S.P. Bhatnagar. 1999. The Embryology Of Angiosperm. Fourth Revised Edition. Vikas Publishing House. PVT. LTD. Delhi.
- Erdtman, G. 1952. Pollen Morphology and Plant Taxonomy Angiospermae (An intruduction to Palinology I) The Chronica Botanica CO. Waltham, Mass. USA.
- Grauda, D. and A. Balode. 2004. Use of *In Vitro* Methods In Intersection Hybridisation of *Lilium L*. Acta Universitatis Latviensis Biology 676:167-172.
- Gomez, M. P., F. Dicenta and E. Ortega. Departement de Mejora y Patologia Vegetal, CEBAS-CSIC Murcia- Spain. 361-363.
- Kafizadeh, N., J. Carapetian dan K. M. Kalantari. 2008. Effects of Heat Stress on Pollen Viability and Pollen Tube Growth in Pepper. Available at: http://www.medwellonline.net/fulltext/rjbs/2008/1 159-1162.pdf. Opened: 29.05.2010
- Kapp, R.O. 1969. How to Know Pollen and Spores.W.M.C. Brown Company Publishers Dubuque,Lowo.

Parfitt, D.E and A.A. Almehdi. 1984. Liquid Nitrogen Storage of Pollen From Five Cultivated *Prunus* Spesies. Departement of Pomology. University of California, Davis, CA 95616. 19(1):69-70.

ISSN: 2302-5697

- Pearson, H.M and Harney, FM. 1984. Pollen Viability in Rosa. Hort Science.19: 710-1711
- Perven, A. 2007. Pollen Germination Capacity, Viability and Maintenance of *Pisum sativum* (Papilionaceae). Department of Botany, University of Karachi, Karachi, 75270-Pakistan. Midldle-East Journal of Scientific Research 2 (2);79-81.
- Utomo, B. 2006. Ekologi Benih.

 Available at: http://www. ibrary.usu.
 ac.id/index.php/component/index.php? Opened:
 03.01.2010
- Widiastuti, A., dan R.P. Endah. 2008. Viabilitas serbuk Sari dan pengaruhnya terhadap keberhasilan pembentukan buah Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Biodivesitas. 9(1):25-38.
- Yusnida B., W. Syafii dan Sutrisna. 2006. Pengaruh Pemberian Giberelin (GA3) Dan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Biji Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* BL) Secara *In Vitro*. 2(2):41-46.