

PENGARUH VARIASI MEDIA TERHADAP VIABILITAS POLLEN TANAMAN TEBU (*Saccharum Sp.*)

¹Septarini Dian Anitasari, ²Ajeng Retno Winingsih, ³Waris, ⁴Dwi Nur Rikhma Sari,
⁵Ida Ayu Astarini, ⁶Made Ria Defiani
^{1,2,3,4}Pendidikan Biologi, FPMIPA, IKIP PGRI Jember
^{5,6}Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Udayana
¹septarini@ikipjember.ac.id, ²ajengretno0101@gmail.com., ³drs_waris@yahoo.com,
⁴rikhmasari_dnrs@ikipjember.ac.id., ⁵idaastarini@yahoo.com , ⁶maderia.unud.ac.id

Abstract

Plant sugar cane in Indonesia is increasing along with food needs such as the need for sugar and ethanol. the high need for sugar cane is not balanced with crop productivity. Research to the field of plant biotechnology so can do tissue culture techniques in order to find seeds of plants that are mass, fast, cheap and non-pathogenic on sugar cane. Here using a test of viability of pollen of sugarcane can be seen the germination with the use of a media comparison, i.e. media brewbaker and media kwack. Data were analyzed by the calculation of percentage to be able to determine the results of T-test. the results of the study indicate that there is a significant influential media brewbaker of on the media kwack to pollen germination sugarcane.

Keywords: *Sugarcane, Pollen, Viability, Media Brewbaker and Kwack*

PENDAHULUAN

Tanaman Tebu (*Saccharum spp*) biasa dikenal sebagai tanaman pokok yang digunakan untuk produksi gula dan etanol dengan kebutuhan yang tidak tergantikan. Tanaman ini sudah dibudidayakan secara turun menurun pada beberapa generasi di Indonesia (Godheja *et al.*, 2014). Kebutuhan pasokan gula di Indonesia semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kebutuhan pangan sehingga diperlukan adanya upaya meningkatkan hasil perkebunan. Salah satu upaya untuk meningkatkan hasil produksi tanaman tebu yaitu dengan penyediaan bibit unggul. Bibit unggul digunakan untuk menghasilkan varietas tanaman tebu dalam meningkatkan produktifitas tebu (Rasullah *et al.*, 2013).

Produktifitas tanaman tebu juga di tentukan oleh kemampuan tanaman dalam menghasilkan anakan. Varietas tanaman tebu berpengaruh terhadap pertumbuhan berikutnya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, persentase perkecambahan tanaman tebu bergantung pada varietas bagian tanaman tebu. (Sime, 2013), seleksi varietas tebu sangat penting dilakukan untuk menghasilkan bibit unggul sehingga dapat memenuhi kebutuhan konsumsi tebu yang berkualitas.

Berdasarkan data Deptan (2009), kebutuhan gula di Indonesia meningkat seiring meningkatnya jumlah populasi penduduk. Peningkatan produksi gula diharapkan dapat mengatasi permasalahan tersebut.

Pada umumnya metode pemuliaan tebu dilakukan secara konvensional dengan pemilihan nodus batang terbaik untuk ditanam kembali dengan teknik pengolahan yang menggunakan kondisi tertentu (Jalaja *et al.*, 2008). Metode konvensional tersebut membutuhkan waktu yang panjang, bergantung pada musim tanam serta faktor genetik anakan yang dihasilkan dapat meluruh.

Teknik kultur jaringan menjadi tren untuk meningkatkan produktifitas tanaman dalam program pemuliaan tanaman. Teknik ini sangat memiliki nilai positif yaitu menghasilkan bibit unggul dalam jumlah besar. Waktu yang digunakan singkat serta bebas dari permasalahan pathogen (Behere dan Saho, 2009). Teknik kultur jaringan yang bisa diaplikasikan pada tanaman tebu yaitu kultur mikrospora.

Kultur mikrospora merupakan upaya perbanyak tanaman dengan memproduksi tanaman haploid dan dobel haploid (Na *et al.*, 2011). Keunggulan dari kultur mikrospora yaitu beberapa sifat resesif tanaman dapat di deteksi melalui tanaman haploid yang berkembang dari embryogenesis mikrospora, misalnya toleransi terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti kekeringan, suhu rendah, atau pun kondisi berat yang tinggi dalam tanah (Taji *et al.*, 2002). Belum ada laporan selama ini tentang keberhasilan kultur mikrospora tebu sehingga perlu uji awal sebagai penyedia tanaman donor kultur untuk optimasi teknik kultur. Uji awal yang dapat dilakukan yaitu viabilitas pollen.

Pollen yang berkualitas dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan juga faktor dari pollen itu sendiri yaitu umur pollen. Umur yang semakin tua menyebabkan perkecambahan semakin lambat dan bentuk tabung polen semakin polen yang lepas dari anter dapat bertahan hidup dalam waktu satu sampai dua hari saja (Swamy dan Lectern, 2004). Berdasarkan ketahanan pollen tersebut perlu dilakukan uji viabilitas pollen. Uji viabilitas pollen yang banyak dilakukan oleh breeder dapat berupa perwarnaan dan perkecambahan polen. Uji viabilitas polen biasa dimanfaatkan untuk menentukan keberhasilan pemuliaan tanaman dalam menghasilkan varietas unggul.

Ada beberapa faktor yang berpengaruh dalam keberhasilan uji viabilitas pollen melalui teknik perkecambahan pollen, diantaranya genotip tanaman, zat hara tanaman, media perkecambahan, waktu panen bahan tanaman, suhu, fase mikrospora, kondisi kultur serta penggunaan bahan kimia pada tanaman (Stanley and Linskens Neves *et al.*, dalam Soares *et al.*, 2008)

Uji viabilitas polen adalah menguji daya hidup serbuk sari, yang paling akurat tentunya melalui pengecambahan (Winarto dan Rahmawati, 2007). Indikator dari metode ini yaitu mikrospora yang viabel akan menampakkan intinya, sedangkan mikrospora nonviabel tidak memberikan reaksi pewarnaan atau mikrospora terlihat tanpa inti. Inti generatif berukuran lebih kecil dan dengan intensitas penyerapan warna yang lebih terang, sedangkan inti vegetatif berukuran lebih besar tetapi intensitas penyerapan warna yang kurang terang. Viabilitas dan status pembelahan inti mikrospora diamati menggunakan mikroskop binokuler fluorescent perbesaran 100x.

Uji viabilitas polen pada tebu belum dilakukan. Viabilitas polen pada tebu sangat penting karena dapat menentukan agar mendapatkan bibit yang unggul dan merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan hasil produksi tanaman tebu yaitu dengan penyediaan bibit unggul (Rasullah *et al.*, 2013) sehingga di perlukan uji viabilitas pada media pembanding agar bisa mengetahui bibit unggul yang mana yang lebih viabel untuk mendapatkan bibit yang unggul.

Penggunaan media pembanding disini menggunakan media cair brewbaker dan kwack karena media tersebut yang pertama di gunakan untuk perkecambahan polen pada tumbuhan. Selain komposisi media yang mudah di cari dan lebih mudah pengaplikasiannya agar viabel. Media brewbaker dan kwack adanya kandungan sukrosa

yang baik bagi perkecambahan polen (Schreiber, 2003). Jadi dengan menggunakan media brewbaker dan kwack lebih mudah terhadap perkecambahan polen menggunakan kultur mikrospora.

Penelitian ini menggunakan hasil dari jaringan penyusun dari tebu untuk di lakukan kultur atau dimana dari suatu sel dari satu jaringan di ambil dan di tumbuhkan pada kondisi yang terkontrol, jadi penelitian ini sesuai sebagai sumber belajar anatomi tumbuhan.

METODE

Penelitian ini di lakukan pada bulan Mei-Agustus tahun 2018 di laksanakan di Laboratorium IKIP PGRI Jember.

Alat dan Bahan

Berikut alat dalam penelitian: petridish, pipet tetes, gelas beaker, pinset, penggaris, spatula, mikroskop, sentrifuge, incubator, autoklaf, filter 100 μm , erlenmeyer, kertas koran dan micropore ukuran 0,22 μm , bahan penelitian ini menggunakan polen tebu var. Bulu Lawang yang berasal dari kebun penelitian rowo tengah, media Media Kwack cair, Media Brewbaker

Persiapan kultur

Semua alat di sterilisasikan, seperti pinset, spatula. Sedangkan cawan petri, tabung reaksi, gelas beker, rak tabung, erlemeyer di sterilisasi menggunakan autoklaf. Seluruh alat dan bahan yang akan di autoklaf di cuci bersih dan di keringkan terlebih dahulu, mulut Erlenmeyer tabung reaksi dan gelas ukur di tutup dengan kapas, sedangkan cawan petri, rak tabung di bungkus dengan kertas kayu, kemudian di masukkan ke dalam autoclave pada suhu 121 $^{\circ}\text{C}$ dengan waktu selama 1 jam (Charisma dan manan, 2012).

Pembuatan Media

Pembuatan media Brewbaker dan Kwack yaitu media ditimbang lalu dilarutkan dengan aquades dan masukkan ke dalam tabung reaksi steril dan tutup dengan kapas. Pengukuran dengan gelas pengukuran dengan gelas ukur cukup 1 kali saja, ikat kuat kuat tabung reaksi dengan menggunakan beberapa karet dan tutup kertas, lalu beri nama label media. sterilisasi menggunakan autoklaf selama 30 menit. untuk membuka tutup autoklaf, tunggu sampai tekanan menuju angka nol.

Perkecambahan Polen

Pengambilan polen dilakukan langsung dari lapangan pada pagi hari dengan malai yang masih tertutup daun bendera. Pollen diambil didalam LAF dengan teknik pengambilan anter sebanyak 200 buah. Setelah itu anther di tumbuk lalu di saring dengan penyaring. Lalu di masukkan dalam cawan petri dengan variasi media perkecambahan kwack dan brewbaker. Petri diinkubasi dalam ruangan dengan suhu 25 $^{\circ}\text{C}$. Pengamatan dilakukan selama 6 hari setelah perlakuan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100X (untuk polen berukuran besar) dan 200X (untuk polen berukuran kecil). Polen yang hidup akan berkecambah dan membentuk tabung polen. Polen dikategorikan normal apabila panjang tabung polen sudah mencapai minimal sama dengan diameter polen tersebut.

Selanjutnya di lakukan perhitungan nilai daya berkecambah atau viabilitas dengan menggunakan rumus :

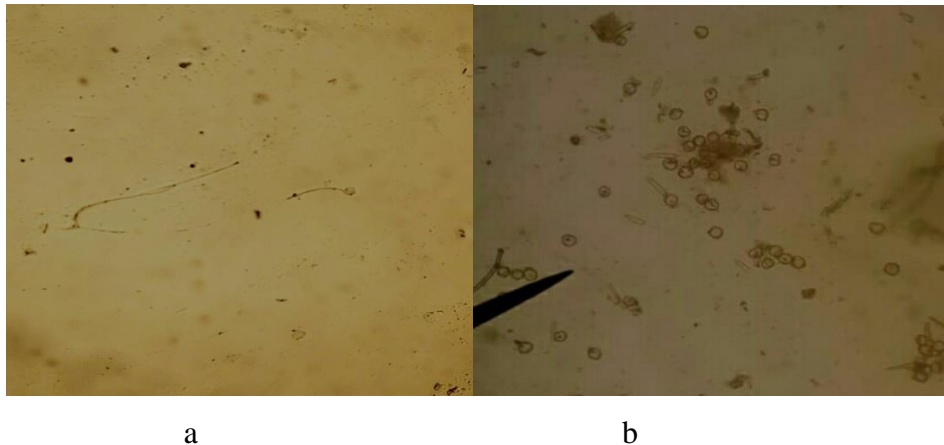
$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{jumlah polen yang berkecambah}}{\text{Total polen yang di kecambahkan}} \times 100 \%$$

Teknik Analisis Data

Persentase viabilitas tebu lalu di analisis dengan uji homogenitas dan uji normalitas selanjutnya di uji T-test dengan SPSS versi 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari di lakukannya penelitian terdapat bentuk polen yang yang berkecambah setelah pengamatan 6 hari perkecambahan dengan gambar sebagai berikut :



Gambar 7. Foto Perkecambahan Polen dengan Pembesaran 10X
(a)Media Kwack (b)Media Brewbaker

Setelah di temukannya bentuk polen yang berkecambah lalu di lakukan perhitungan presentase viabilitas yaitu jumlah polen yang berkecambah di bagi dengan total polen yang di kecambahkan yaitu 100 polen lalu di kali dengan 100 %. Berikut hasil dari perhitungan perkecambahan.

Tabel 2. Persentase Viabilitas Polen Tebu

Ulangan	Media brewbaker	Media kwack
1	0,96 %	0,99 %
2	32,03 %	0
3	2,06 %	0
4	7 %	0
5	3,96 %	0
6	3,96 %	0
7	4,85 %	0
8	3,22 %	0
9	2,19 %	0
10	7,44 %	0
11	6,31 %	0
12	6,48 %	0
13	7,40 %	0
14	7,07 %	0
15	8,16 %	0
16	8,33 %	0

Keterangan : Media Brewbaker dan Media Kwack Dalam Bentuk Presentase, Media Brewbaker Lebih Banyak Presentasinya Karena Banyak Yang Berkecambah di Bandingkan Media Kwack.

Hasil dari jumlah polen dan banyaknya perkecambahan di setiap pengulangan, setiap polen dan perkecambahan tersebut di uji normalitas dan homogenitasnya dengan uji T-test versi 22. Selanjutnya dilakukan Uji normalitas dengan sebagai berikut:

Tabel 4. Analisis Uji Normalitas

		Media	Polen	Perkecambahan
N		32	32	32
Normal Parameter	Mean	1.50	94.41	2.63
Most Extreme Differences	Std. Deviation	.508	5.066	3.139
	Absolut	.338	.120	.267
	Positive	.338	.120	.267
	Negative	-.338	-109	-202
Test Statistic		.338	.120	.267
Asymp. Sig.(2-tailed)		.000 ^c	.200 ^{c,d}	.000 ^c

Keterangan : Jika nilai Probabilitas > 0,05 maka berdistribusi normal jika kurang dari 0,05 maka tidak berdistribusi normal, Dilihat dari kolom signifikan polen Asymp sig 2-tailed adalah 0,200 atau probabilitas lebih dari > 0,05 maka berdistribusi normal. Untuk yang berkecambah sig 2-tailed adalah 0,000 atau probabilitas < 0,05 maka berdistribusi tidak normal.

Selanjutnya Uji homogenitas dari media brewbaker dan media kwack. Berikut hasil dari uji homogenitas:

Tabel 5. Analisis Uji Homogenitas

	Levene Statistic	df1	df2	Sig
Polen	.137	1	30	.714
Perkecambahan	.55.327	1	30	.000

Keterangan : Berdasarkan SPSS di atas di ketahui bahwa nilai signifikansi variabel data polen sebesar $0,714 > 0,05$ maka polen homogen, sedangkan data perkecambahan $0,000 < 0,05$ maka perkecambahan tidak homogen.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas kemudian dilanjutkan dengan uji T. berikut hasil uji T:

Tabel 6. Hasil Uji T Untuk Polen dan Perkecambahan.

	Levene's Test for Equality of Variances			t-test for Equality of Means					
	F	Sig	T	df	Sig-(2 tailed)	Mean difference	Std.a Eirror Diference	95% Confidence interval of the Difference	
								Lower	Upper
Polen	137	.714	.869	30	.392	1.563	1.798	-2.110	5.235
Equalva riencesa ssumed									
Equalva riences not assumed			.869	29.891	.392	1.563	1.798	-2.110	5.235
Perkeca mbahan	55.327	.000	.8.130	30	.000	5.125	.630	3838	6412
Equal Varianc es assumed									
Equal variance s nol assumed			.869	15.298	.000	5.125	.630	3784	6466

Keterangan : Jika nilai Sig 2 tailed $< 0,05$ maka ada pengaruh polen, data di atas di peroleh $0,392 > 0,05$ maka tidak berpengaruh. Jika nilai Sig 2 tailed $< 0,05$ maka ada pengaruh perkecambahan, data di atas di peroleh $0,000 < 0,05$ maka berpengaruh terhadap viabilitas.

Berdasarkan hasil uji T menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan yaitu $0,002 < 0,05$ maka berpengaruh. Hasil pengujian dari pengaruh media brewbaker dan media kwack terhadap viabilitas polen tebu yang bisa berpengaruh dapat di gunakan untuk sumber belajar anatomi tumbuhan pada salah satu tanaman yaitu tebu. Di uji dengan kriteria pemilihan sumber belajar menurut AECT (*Assosiation For Education Comunication and Technology*) dan Milina (2016) dan (Mahatya, 2010). Dimana hasil penelitian ini dalam prosesnya tergolong ekonomis, praktis, sederhana, bermanfaat bagi lingkungan, bahan bahan yang di gunakan mudah di peroleh dan sifatnya fleksibel.

Sesuai dengan hasil penelitian dan kriteria sumber belajar dengan pembuatan buklet, agar pelajar yang membaca lebih memahami dan merasa tertarik untuk terus membaca dan belajar, karena design buklet yang menjadi daya tarik pembaca dan juga

mahasiswa agar tidak bosan dalam belajar (lampiran). Sesuai dengan hasil penelitian yaitu sebagai sumber belajar mata kuliah anatomi tumbuhan dapat di terapkan sebagai bahan ajar dalam sumbangan informasi berupa adanya pengaruh media brewbaker dan kwack terhadap viabilitas pada polen tebu. Jumlah polen yang menghasilkan perbedaan dari media Brewbaker dan Kwack yaitu karena adanya polen yang bisa menghasilkan perkecambahan dari media Brewbaker sedangkan untuk polen media Kwack tidak menghasilkan perkecambahn. Sehingga dilihat dari perkecambahannya media Brewbaker lebih viabilitas dari pada media Kwack.

Untuk Uji normalitas polen di hasilkan bahwa jumlah polen dari media Brewbaker dan Kwack normal yang artinya jumlah polen tersebut bisa menghasilkan serbuk sari yang viabel. Sedangkan untuk uji normalitas pada perkecambahan menghasilkan jumlah perkecambahan yang tidak sama karena untuk media Brewbaker banyak yang berkecambah tapi untuk media Kwack tidak berkecambah, maka dari itu data perkecambahn tidak normal. Untuk uji homogenitas jumlah polen termasuk homogen sedangkan untuk perkecambahan tidak homogen.

Pada jumlah polen yang menghasilkan persamaan antara media Brewbaker dan Kwack maka polen tersebut tidak berpengaruh terhadap viabilitas, Sedangkan untuk perkecambahan dari media Brewbaker dan Kwack mendapatkan hasil yang bisa di lihat secara langsung dari uji viabilitasnya bahwa perkecambahan dapat berpengaruh.

Pada dasarnya memang viabilitas polen pada tebu sedikit. Penelitian terdahulu suaib *et al.* (2013) menyebutkan bahwa teknik kultur mikrospora di Indonesia sudah mulai dikembangkan. Namun, belum ada laporan standar teknik mikrospora tanaman tebu yang menghasilkan embrio dobel haploid sampai menjadi tanaman utuh. Pelepasan varietas baru hasil kultur mikrospora belum pernah dilaporkan. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi teknik kultur mikrospora yaitu adanya perbedaan respons terhadap medium induksi, perbedaan genotipe tanaman tebu, perbedaan komposisi nutrisi dan ZPT, perbedaan respon dalam menghasilkan embrio serta perlakuan stres pada teknik kultur mikrospora (Santosa *et al.*, 2004).

Rendahnya viabilitas polen dengan teknik perkecambahan polen di duga karena polen tidak mampu membentuk buluh kecambah pada saat inkubasi. Viabilitas polen sangat di pengaruhi oleh faktor kondisi lingkungan pada saat inkubasi. Mariana dan Bots (2005) menyebutkan bahwa persentase viabilitas polen tergantung pada kemampuan polen dalam merespon perlakuan yang di berikan. Hambatan sebelum terjadinya pembuahan (*pre-fertilization barrier*), berupa kegagalan dalam perkecambahan serbuk sari atau lambatnya pertumbuhan

tabung serbuk sari, adanya mekanisme yang bisa mempengaruhi perkembangan zigot sejak pembelahan sel pertama hingga pembuahan bahkan hingga diferensiasi akhir organ reproduktif dan pembentukan gamet, adanya aksi gen spesifik, tidak ada keserasian antara inti dan sitoplasma atau antara embrio dan endospenn dari spesies yang digunakan dalam persilangan(Yunianti., 2007)

Pengaruh media Brewbaker lebih tinggi dari pada media Kwack karena pada media Brewbaker polen lebih menghasilkan perkecambahan sedangkan media Kwack tidak bisa menghasilkan perkecambahan. Setiap polen memerlukan media perkecambahan yang berbeda, sehingga di perlukan pengujian awal untuk mendapatkan komposisi dan

konsentrasi bahan kimia yang tepat, medium atau konsentrasi bahan kimianya.(Warid, Endah retno Palupi., 2009). Tinggi rendahnya nilai daya berkecambah polen di pengaruhi juga oleh banyak faktor eksternal, seperti sumber karbon, boron dan kalsium, potensial air, derajat kemasaman media, kerapatan polen dalam media dan aerasi dalam media kultur (Rihova *et al.*, 2000). Sukrosa merupakan senyawa gula sebagai sumber karbon yang mudah di absorbs oleh sel tanaman, sehingga sukrosa sering di gunakan dalam pembuatan media perkecambahan polen karena dapat menghasilkan presentase perkecambahan yang lebih tinggi dan perpanjangan tabung polen. Komposisi dari media brewbaker sendiri berbeda dengan media kwack yaitu adanya potassium nitrate pada brewbaker dan di duga bisa menumbuhkan perkecambahan lebih banyak.

SIMPULAN

Berdasarkan uji T yang dilakukan. Variasi media perkecambahan pada media Brewbaker dan media Kwack berpengaruh terhadap viabilitas pollen tebu.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami tujukan kepada Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia melalui hibah penelitian skema PKPT 2017-2018 yang telah mensupport penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrol, D.P. (2011) Foragin. In: Honeybees of Asia. R. Herpburn and Sarah E. Radolf (Eds). Springer, Berlin Heiderberg. pp. 257-292.
- Akbar, S. (2013). Instrumen perangkat pembelajaran. Bandung :Remaja Rosdakarya Offset.
- Behere, K.K. and S. Sahoo. (2009). Rapid in vitro micro propagation of sugarcane (*Saccharum officinarum L. cv Nayana*) through callus culture. Nature Science 7(4): 1-10.
- Canola Breeders Western Australia. (2012).*Double Haploidy*.www.cbwa.net.au. diakses pada 08 Maret 2012
- Charisma, Adnan, & Manan. (2012). Kelimpahan Bakteri *Vibrio sp.* Pada Air Pembesaran Undang Fannemei (*Litopenaeus vannamei*)Sebagai Deteksi Dini Serangan Penyakit Vibriosis. Jurnal ilmiah Perikanan dan Kelautan. 4(2): 129-134.
- Deptan. (2009) Luas areal, produksi dan produktifitas tebu nasional. <http://database.deptan.co.id/bdsp/newdata.asp>. [25 Mei 2009].
- Farid, M.B. (2003). Perbanyak tebu (*Saccharum officinarum L.*) secara in vitro pada berbagai konsentrasi IBA dan BAP. J. Sains dan Teknologi 3(3): 103-109.
- Godheja, J., K, Sudhir., Shekhar., Modi, D. (2014). *The Standardization of Protocol For Large Production of Sugarcane (CO-86032) Through Microspore Propagation* International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences 4(4).
- Jalaja, N.C., D. Neelmathi, and T.V. Screenivasan. (2008). Micropropagation for quality seed production in sugarcane in Asia and the pacific, FAO, APC0AB and APAARI.
- Kavand, A., Ebadi, A., Shuraki, Y. D. and Abdosi (2014). Effec of calcium nitrate and boric acid on pollen germination of some date palm male cuktivar, Europe J. Exp Biol. 4(3):10-14.

- Kumaladita, L. (2014). Hubungan Kekerabatan Jenis- Jenis Tumbuhan Anggota Sub Famili Caesalpinioideae di Daerah Istimewa Yogyakarta Berdasarkan Kajian Morfologi Serbuk sari Sebagai Sumber Belajar Biologi SMA kelas X JUPEMA-PBIO. Vol (1): 93-97.
- Mariana, C dan Bots, M. (2005). *Pollen viability in the field*. <http://www.cogem.net>. Diakses pada Juli 2013.
- Mikaf, F. (2013). Studi Morfologi Serbuk Sari pada Beberapa Varietas *Coleus scutellariodes* L. *Jurnal EKSTRA* 2 (XIV) 99-106.
- National Center for Biotechnology Information, (2016). *Taxonomy of Saccharum Officinarum*.
- National Center for Biotechnology Information. (2016). *Taxonomy of Saccarum Officinarum*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. [diakses pada 25 Juli 2018].
- Owens *et al.* (2009). ‘LEGO terapy and the social Use of Language program for childer syndrome jurnal austim Dev Disord 38,1994-1995
- Race, P., Brown, S dan Smith, B. (2005). Group, peer and self asesement [online].(15 Februari 2018)
- Rihova, L., E Hrabetova, and J. Tupy. (2000). Optimization of condition of condition for invitro pollen growth in potatos.Int. J. Plant Sci. 157(5) :561-566
- Rohani, Ahmad.(2005). *Media instruksional Edukatif*. Jakarta: Asdi Mahasta
- Rasullah FFF, T Nurhidayati dan Nurmallasari. (2013). Respon pertumbuhan tunas kultur meristem apical tebu (*Saccharum officinarum*) varietas NXI 1-3 secara *in-vitro* pada media MS dengan penambahan ariginin dan glutamine. *Jurnal Sains dan seni Pomits* 2(2):2337-3520.
- Santoso, D.A., R. Hendro. A. Farouk, R. Greiner. (2004). A rapid and highly efficient method for transformation of sugarcane callus. Research protocol, Mol. Biotechnologi, 28:113-118
- Schreiber.(2003). *Pollen germination medium(PGM) hal (12):223-123*
- Septarini Dian Anitasari. (2013). Persiapan Tanaman Kultur Mikrospora Brokoli Kultur BL 10001, 15-18 e-ISSN: 2406-8659
- Sihombing, D.T.H. (2005). Ilmu Ternak Lebah Madu. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Sime, M. (2013). The effect of Different Cane Portions on Sprouting, Growth and Yield of Sugarcane (*Saccharum spp. L*), International J. of Scientific and Research Publication, 3(1): 1-3.
- Suaib, PDN. Mirzawan, W.Mangoendidjojo, A. Indrianto, (2007).Proporsi mikrospora unikleat pada klon tebu(*Sccharum spp*).Berkala penelitian Hayati (journal of biological Research),12:145-152.
- Soares, T.L. *et. al.* (2008). In Vitro Germination and Viability of pollen Grains of Banana Diploids.*Crop Breeding and Applied Biotechnology*,8:111-118
- Swamy, B.G.L. and K.V. Krishnamurthy. (1980). *Form Flower to Fruit (Embryology of Flower Plants)*.New Delhi :Tata Mc. Graw Hill Publishing Company Limited.
- Taji, A., Kumar, P dan Laksmanan, P. (2002). *In vitro plant breeding*. United States of America: The Haworth Press
- Tuinstra, M.R. and J. Wedel. (2000). Estimation of pollen viability in grain sorghum.Crop Sci.40:968-970.
- Winarto, B dan Rachmawati. (2007). Teknik Kultur Anther Pada Pemuliaan Anthurium. J. Hort 17(2): 127: 137.

- Wijayanti, W. A. (2008). Pengelolaan Tanaman Tebu (*Saccharum Offichinarum L.*)di, Pabrik Gula Tjoekir PTPN X , Jombang , Jawa Timur. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Warid, Endah Retno Palupi (2009). Korelasi Metode Pengecambahan *IN VITRO* dan pewarnaan dalam pengujian viabilitas polen.
- Yunanto, Sri Joko. (2004). *Sumber Belajar Anak Cerdas*. Jakarta : Dramedia Widiasarana Indonesia.
- Yunianti, R. (2007). Analisis Genetik Pewarisan Sifat Ketahanan Cabai (*Capsicum annum L.*) terhadap *Phytophthora capsid* Leonian. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, IPB. Bogor. 125 hal.9