

Original Research Paper

## Morphological Structure and Fertility of of Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) Pollen based on Microscopic Data

### Struktur Morfologis dan Fertilitas Polen Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) Berbasis Data Mikroskopi

Qori Nur Fauziah<sup>1</sup>, Siti Susanti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Corresponding Author: [qorinur00@mail.ugm.ac.id](mailto:qorinur00@mail.ugm.ac.id)

**Abstrak:** Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) merupakan satu-satunya spesies dari genus *Gnetum* yang mudah tumbuh dan dibudidayakan terutama di Jawa. Selain itu, tumbuhan ini juga bernilai ekonomis tinggi. Namun, kajian taksonomi dan reproduksinya jarang dilakukan, terutama pada kajian polennya. Polen dapat digunakan untuk kedua kajian tersebut dikarenakan memiliki morfologi, dan anatomi yang bervariasi, serta sebagai penghasil gamet jantan. Sehingga perlu dilakukan penelitian terkait struktur morfologi polen melinjo, dan fertilitasnya. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mempelajari karakter morfologis polen melinjo melalui mikroskop cahaya, dan *Scanning Electron Microscopy*, serta mempelajari fertilitasnya. Penelitian ini dilakukan dengan pencabutan strobilus jantan yang sedang mekar pada ranting batang pohon melinjo yang diperoleh dari pohon melinjo milik warga. Pengamatan karakter morfologis polen melinjo menggunakan metode asetolisis, dan diamati menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan karakter ultrastruktur polen melinjo menggunakan *Scanning Electron Microscopy*. Fertilitas polen melinjo di uji menggunakan satu tetes larutan tetrazolium 25% selama 30 menit, dan diamati polen yang mengalami perubahan warna menjadi merah dibawah mikroskop cahaya. Polen melinjo memiliki karakter morfologi antara lain *monad*, panjang polar 15,41  $\mu\text{m}$ , panjang equatorial 15,65  $\mu\text{m}$ , dalam satu individu berbentuk *oblate spheroidal*, *prolate*, *prolate spheroidal*, dan *suboblate*, bertipe *isopolar*, serta simetri radial. Sedangkan karakter ultrastruktur antara lain *microechinus*, dan *inaperturate*. Fertilitas per satuan luas bidang pandang 0,0289  $\text{mm}^2$  diperoleh tertinggi 18,18%, dan terendah 0%.

**Kata kunci:** fertilitas, morfologis, polen, ultrastruktur

**Abstract:** Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) is the only species of the genus *Gnetum* that is easy to grow and cultivate, especially in Java. In addition, this plant is also of high economic value. However, taxonomic and reproductive studies of its are rarely carried out, especially in the study of pollen. Pollen can be used for both studies because it has a variety of morphology and anatomy, as well as producing male gametes. So it is necessary to conduct research related to the morphology structure of melinjo pollen, and its fertility. This research was conducted with the aim of studying the morphological characters of melinjo pollen through a light microscope, and Scanning Electron Microscopy, and studying its fertility. This research was conducted by removing the male strobilus that was blooming on the branches of the melinjo tree trunks obtained from the residents' melinjo trees. Observation of the morphological characters of melinjo pollen using acetolysis method, and observe under a light microscope. Observation of the ultrastructural character of melinjo pollen under a Scanning Electron Microscopy. The fertility of melinjo pollen was tested using one drop of 25% tetrazolium solution for 30 minutes, and observed about pollen that changes its color under a light microscope. Pollen melinjo has morphological characters such as monad, polar length 15.41  $\mu\text{m}$ , equatorial length 15.65  $\mu\text{m}$ , in one individual it is oblate spheroidal, prolate, prolate spheroidal, and suboblate, isopolar type, and is radially symmetrical. Meanwhile, the ultrastructural characters include microechinus, and inaperturate. Fertility per unit field of view 0.0289  $\text{mm}^2$ , the highest was 18.18%, and the lowest was 0%.

**Keywords:** fertility; morphology; pollen grain; ultrastructure

Dikumpulkan: 9 April 2022 Direvisi: 13 Juni 2022

Diterima: 21 Juni 2022

Dipublikasi: 4 Agustus 2022

## Pendahuluan

Melinjo (*G. gnemon* L.) merupakan satu-satunya spesies dari genus *Gnetum* yang mudah tumbuh dan dibudidayakan sehingga jumlahnya sangat melimpah dan tersebar luas di Pulau Jawa. Meskipun begitu, kajian taksonomi tumbuhan ini jarang dilakukan. Kegiatan taksonomi dapat dilakukan dengan mempelajari karakter morfologis polennya. Hal tersebut disebabkan polen memiliki karakter secara morfologis, dan anatomis yang bervariasi bahkan dari tingkat familia hingga spesies (meskipun hanya sedikit) sehingga dapat dijadikan kunci identifikasi dalam taksonomi. Kajian taksonomi *G. gnemon* L. sangat penting dilakukan guna melestarikan biodiversitasnya, merekonstruksi vegetasi masa lampau, melihat umur lapisan batuan, dan identifikasi keberadaan minyak bumi (Gusmalawati dkk., 2021).

Kajian taksonomi dapat dilakukan dengan mengidentifikasi morfologi polen. Morfologi polen yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dalam penelitian Gusmalawati dkk (2021) meliputi panjang polar, equatorial, indeks P/E, diameter, *Pollen Dispersal Units* (PDUs), dan bentuk. Sedangkan morfologi polen yang diamati menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dalam penelitian Apriani dkk. (2017) meliputi PDUs, polaritas, simetri polen, aperture, struktur dinding polen, ukuran, bentuk, dan ornamentasi polen dalam bentuk tiga dimensi dengan resolusi yang lebih tinggi dibandingkan mikroskop cahaya.

Tumbuhan ini juga bernilai ekonomis tinggi karena banyak dari bagiannya yang dapat dimanfaatkan mulai dari biji, bunga, daun, hingga batangnya, dan produk paling terkenal yang dihasilkan yaitu emping. Emping merupakan salah satu produksi industri rumah tangga dari olahan biji melinjo yang berperan penting bagi perekonomian masyarakat di Jawa, sebagai komoditas sektor industri kecil yang potensial dan memiliki prospek cerah dalam pengembangan ekspor non migas. Ekspor emping sudah mencapai beberapa negara seperti Amerika Serikat, Luxemburg, Belanda, Belgia, Malaysia, dan Singapura. Permintaan emping (termasuk permintaan ekspor) terus meningkat dari tahun ke tahun (Kairani, 2010).

Uji fertilitas polen penting dilakukan untuk mengetahui produksi biji melinjo, dan memenuhi

permintaan benih yang semakin meningkat. Selain itu, uji fertilitas polen juga berperan penting dalam kajian taksonomi yang berkorelasi dengan karakter morfologi berupa karakter kuantitatif, dan berperan penting dalam menentukan keberhasilan adaptasi tumbuhan melinjo, serta berguna untuk menemukan spesies baru yang didukung dengan karakter lain (Qureshi *et. al.*, 2002; Ridha, 2016). Penelitian fertilitas polen dapat dilakukan dengan uji tetrazolium. Subantoro dan Prabowo (2013) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa uji tetrazolium memberikan hasil yang cepat untuk mengetahui suatu polen hidup atau mati.

Penelitian ini terdiri atas tiga tahap yaitu pertama pengamatan pada karakter morfologis polen meliputi jumlah gabungan polen ketika dilepaskan antera atau PDUs, ukuran, bentuk, polaritas, dan simetri melalui mikroskop cahaya. Kedua, pengamatan karakter ultrastruktur polen meliputi ornamentasi, dan aperture melalui *Scanning Electron Microscopy*. Ketiga, menguji fertilitas polen *G. gnemon* L. per satuan luas bidang pandang  $0,0289 \text{ mm}^2$  menggunakan tetrazolium. Tujuan penelitian ini antara lain untuk mempelajari karakter morfologis polen *G. gnemon* L. meliputi PDUs, ukuran, bentuk, polaritas, dan simetri. Untuk mempelajari karakter ultrastruktur polen *G. gnemon* L. meliputi ornamentasi, dan aperture. Untuk mempelajari tingkat fertilitas polen *G. gnemon* L. per satuan luas bidang  $0,0289 \text{ mm}^2$ .

## Bahan dan Metode

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai Juni 2021 s.d. Februari 2022, di Laboratorium Struktur Perkembangan Tumbuhan dan Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi, serta Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada.

### Bahan

Polen yang digunakan pada penelitian ini berasal dari strobilus jantan *G. gnemon* L. yang sedang mekar, dan tidak terserang hama serta penyakit. Strobilus diperoleh dari dua individu pohon melinjo pada ketinggian 100 meter diatas permukaan laut dengan kelembaban udara 80% di daerah Bantul dan Banyumas. Bahan untuk pengamatan morfologi polen antara lain 10 sampel polen, plastic *ziplock*, asam asetat glasial

45%, asam sulfat pekat, safranin 1%, dan akuades. Bahan untuk pengamatan ultrastruktur polen yaitu alkohol 70%, silika gel, emas, dan *carbon tape*. Bahan yang digunakan untuk uji fertilitas polen yaitu akuades, 2,3,5-*Tryphenil-Tetrazolium Chloride* (TTC) 4,05 gram atau TTC 25%.

#### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain botol flakon, gelas benda, gelas penutup, gelas ukur, pipet kecil, pipet besar, *sentrifuge*, vortex, *waterbath*, mikroskop cahaya, seperangkat alat *Optilab*, *Microsoft Excel*, spatula, *microtube*, vortex, SEM, *unit computer*, *pump*, pinset, gunting, pegangan spesimen, pegangan blower, *handscoon non powder*, dan timbangan analitik.

#### Cara Kerja

##### Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel morfologi, ultrastruktur, dan uji fertilitas dengan mencabut strobilus jantan yang mekar pada ranting batang pohon yang berada pada ketinggian 100 meter diatas permukaan laut di Kabupaten Bantul dan Kabupaten Banyumas. Strobilus yang telah dicabut dikumpulkan dalam plastik *ziplock*, dan dipencet-pencet pada gelas benda supaya polen keluar.

##### Metode Asetolisis (Abbas & Suciato, 2020)

Strobilus jantan yang telah dicabut, direndam dalam akuades selama 10 jam. Bahan yang telah direndam akuades dilanjutkan dengan direndam ke dalam asam asetat glasial 45% selama 24 jam. Sampel berupa polen diambil secukupnya dari antera yang mengendap dalam asam asetat glasial menggunakan pipet kecil. Sampel dipindah ke dalam tabung sentrifus, dan disentrifus selama kurang lebih 5 menit. Cairan dituang dan diganti dengan campuran asam asetat glasial dan asam sulfat pekat dengan perbandingan 9:1, dan dipanaskan ke dalam *waterbath* selama kurang lebih 3 menit. Tabung sentrifus dikeluarkan dari *waterbath*, dan didiamkan selama kurang lebih 15 menit. Cairan dibuang dan diganti dengan akuades, divortex, dan disentrifus lagi selama kurang lebih 5 menit, dilakukan sebanyak tiga kali. Akuades dibuang, dan diganti dengan safranin 1% dalam akuades ditambahkan sebanyak kurang lebih 2 tetes, divortex, dan disentrifus. Sampel diambil

menggunakan batang gelas, dan dipindahkan diatas gelas benda, dan ditutup dengan gelas penutup, serta disegel menggunakan parafin. Sampel diamati dibawah mikroskop cahaya perbesaran 100x yang pengambilan gambarnya dilakukan melalui *Optilab*, dan *Image Raster 3* disesuaikan berdasarkan perbesaran masing-masing. Gambar dianalisis meliputi PDUs, ukuran, bentuk, polaritas, dan simetri.

##### Pengamatan menggunakan SEM (Tekleva, 2015)

Strobilus jantan disimpan di wadah berisi silika gel, jika belum jernih dilakukan vakum. Polen dikeluarkan dari antera strobilus jantan dengan cara digerus menggunakan spatula. Sampel dipindah kedalam *microtube*, ditambahkan alkohol 70%, dan divortex. Sampel dipotong bagian *ultrathin post-stained* dengan timbal sitrat dan diamati di bawah Jeol 100 B dengan percepatan tegangan 80 kV. Sampel ditambahkan cat kuku, dilapisi emas, dan diamati menggunakan SEM. Karakter ultrastruktur diamati seperti ornamentasi, dan keberadaan aperture.

##### Pengujian Fertilitas Polen (Subantoro & Prabowo, 2013)

Antera dipisahkan dengan bagian lain dari strobilus, disebar diatas gelas benda, dan diratakan. Antera dipencet-pencet dengan lembut supaya polennya keluar sehingga bisa teramati, dan dinding eksinnya tidak rusak. Diatasnya ditambahkan satu tetes tetrazolium 25% menggunakan pipet, lalu ditutup menggunakan gelas penutup. Preparat diamati dalam sudut pandang seluas 0,0289 mm<sup>2</sup> sebanyak lima, dan dilakukan lima ulangan. Setelah direndam selama 30 menit, polen yang berubah warna menjadi merah dan tidak berubah warna diamati dibawah mikroskop cahaya perbesaran 40x, dihitung melalui *Optilab*, dan diambil gambar menggunakan *Image Raster 3*.

Rumus pengukuran polen viabel:

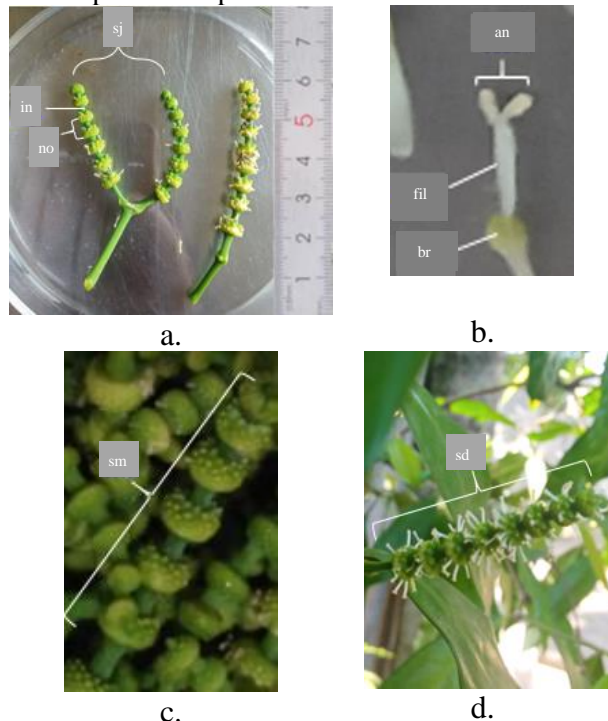
$$\text{Polen Fertil} = \frac{\text{Jumlah Polen terwarnai merah}}{\text{Jumlah Seluruh Polen}}$$

(Hasrianda dkk., 2020).

## Hasil dan Pembahasan

### Morfologi Strobilus Jantan *G. gnemon* L.

*G. gnemon* L. memiliki strobilus jantan sebagai alat perkembangbiakan yang menghasilkan polen dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Strobilus jantan *G. gnemon* L., a) bagian-bagian strobilus jantan., b) bagian bunga, c) strobilus muda, dan d) strobilus dewasa. sj, strobilus jantan; in, internodus; no, nodus; an, anthera; fil, filamen; br, braktea; sm, strobilus muda; sd, strobilus dewasa (Sumber: dokumentasi pribadi, 2022).

*G. gnemon* L. tidak memiliki bunga yang sesungguhnya dikarenakan strobilus yang selama ini teramati (Gambar 1, sj) merupakan salah satu hasil dari fase pergiliran keturunan tumbuhan yaitu fase gametofit. Strobilus jantan *G. gnemon* L. sendiri dihasilkan oleh pohon baik yang terpisah (berumah dua atau dioecious) maupun yang satu pohon (berumah satu atau monoecious) dengan strobilus betina. Ketika strobilus jantan mekar dan siap menyerbuki strobilus betina, strobilus jantan akan gugur baik pada pohon dioecious maupun monoecious, dan ovum strobilus betina mulai terbuahi hingga menghasilkan biji melinjo. Pada Gambar 1. panjang strobilus jantan sekitar 3 – 6 cm. Mikrosporofil (daun atau daun yang termodifikasi) menyusun strobilus jantan secara spiral di sekitar sumbu pusat membentuk nodus (Gambar 1a, no) dan dihubungkan oleh internodus (Gambar 1a, in). Bunga jantan

mengandung dua atau lebih antera (Gambar 1b, an) di sisi bawah dilengkapi filamen (Gambar 1b, fil), dan braktea (Gambar 1b, br). Mikrosporangia akan membentuk sel induk mikrospora atau mikrosporosit (spora yang berukuran lebih kecil dari dua spora yang dihasilkan oleh tumbuhan heterospora (paku-pakuan, dan tumbuhan berbiji). Sel induk mikrospora akan mengalami meiosis menghasilkan tetrad spora yang berkembang menjadi polen (Stanley and Linskens, 1974; Andoko & Koemoro, 2008; Jayanti, 2020). Mikrosporangia pada strobilus muda (Gambar 1c, sm) terlihat belum menunjukkan pertumbuhan, dan belum memiliki filamen. Berbeda halnya pada strobilus dewasa (Gambar 1d, sd), mikrosporangia tumbuh sangat banyak dengan filamen yang panjang, dan braktea berwarna kuning. Hal ini menunjukkan mikrosporogenesis terjadi sejalan dengan perkembangan strobilus yang ditandai dengan perubahan warna dari hijau muda menjadi hijau kekuningan. Semakin lama perkembangan strobilus, maka semakin banyak dan matang mikrosporangia yang dihasilkan, apabila mikrosporangia yang dihasilkan banyak maka akan menghasilkan polen dalam jumlah banyak, dan lebih matang.

### Morfologi Polen *G. gnemon* L.

Morfologi polen diamati dibawah mikroskop cahaya perbesaran 100x diperoleh hasil seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Morfologi polen *G. gnemon* L. melalui mikroskop cahaya perbesaran 100x

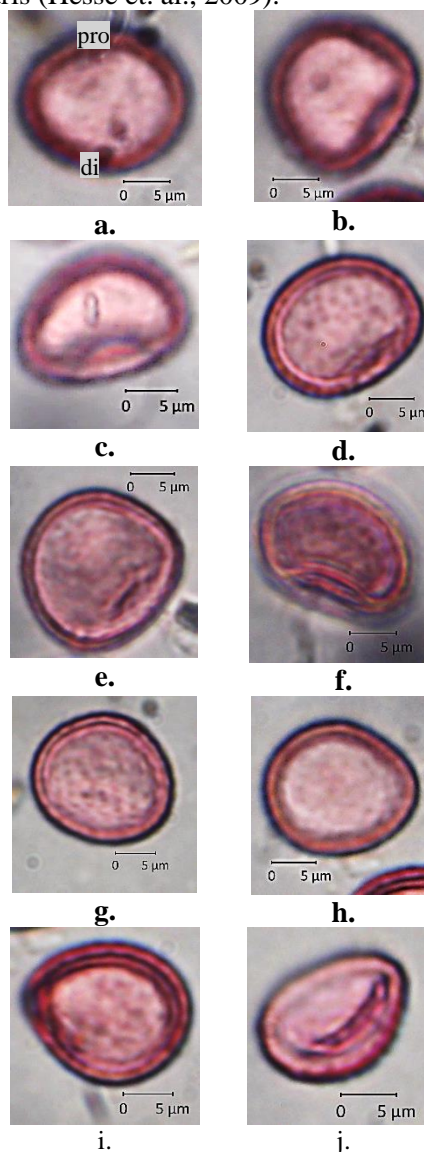
PDU	Monad
Diameter ( $\mu\text{m}$ )	15.96
Rata-rata panjang polar ( $\mu\text{m}$ )	$15.41 \pm 1.61$
Rata-rata panjang equatorial ( $\mu\text{m}$ )	$15.65 \pm 2.13$
Polaritas	Isopolar
Simetri	Simetri Radial

Menurut Pacini dan Franchi (2000), PDU, dan ukuran (diameter, panjang polar, panjang equatorial) suatu polen sesuai dengan mekanisme penyerbukan polennya. Penyerbukan yang terjadi secara pasif atau dibantu oleh angin memiliki polen berukuran kecil, ringan, dan lembut, serta terpencah secara terpisah. Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa polen *G. gnemon* L. memiliki PDU tipe monad yang

berarti polen terpecah secara terpisah. PDUs atau Pollen Dispersal Units merupakan jumlah gabungan polen ketika dilepaskan, dan terpecah dari antera. Setelah polen matang, polen akan terlepas dari antera, dan terpecah untuk menyebarkan gamet betina. Polen dapat terpecah baik secara terpisah maupun berkoloni. Polen yang terpecah secara terpisah memiliki tipe monad. Pemecaran polen terjadi karena proses dehidrasi sehingga terjadi perubahan volume. Adanya struktur berupa alur atau semacamnya pada polen monad dapat membantu polen dalam mengakomodasi perubahan volume selama dehidrasi atau disebut *harmomegathy*. Kemampuan tersebut menyebabkan polen dapat mempertahankan kelembaban, dan mengurangi kehilangan air. Polen monad memiliki ciri terdehidrasi sebagian artinya tidak bermetabolisme dari awal terpecah sampai mencapai makrosporangia. Selain itu, polennya berdiameter dan berukuran kecil yaitu diameter 15,96  $\mu\text{m}$ , panjang polar rata-rata 15,41  $\mu\text{m}$ , dan equatorial rata-rata 15,65  $\mu\text{m}$ . Menurut klasifikasi, polen dengan ukuran tersebut tergolong kecil (Pacini and Franchi, 2000; Osborn, 2000; Pacini and Hesse, 2002; Katifori et al., 2010).

Ukuran dan bentuk suatu polen ditentukan oleh polaritasnya (Yang, 2008; Qi and Greb, 2017). Polaritas merupakan hasil aktivitas dari mikrosporogenesis pada tahap meiosis. Diawali dari profase yaitu terjadi pemecahan granula protein pada pori mikro menjadi vakuola sehingga mendorong inti atau nuclei ke arah adaksial. Protein yang berperan dalam mitosis menyebar tidak merata, hingga massa RNA dan protein berpindah ke kutub spindel untuk membentuk inti vegetatif. Peristiwa-peristiwa tersebut menyebabkan pembelahan terjadi secara asimetris dan menyebabkan gradien atau kemiringan pada sitoplasma sehingga memunculkan polaritas (Stanley and Linskens, 1974; Shao and Dong, 2016; Zhang and Dong, 2018; Muroyama and Bergmann, 2019). Itulah sebabnya, polaritas hanya dapat dilihat pada saat fase pembentukan tetrad. Menurut Erdtman (1952), polaritas dan simetri polen saling berhubungan, dan dikelompokkan menjadi; polen isopolar dengan simetri radial, polen anisopolar dengan simetri radial, polen isopolar dengan simetri bilateral, dan polen anisopolar dengan simetri bilateral. Berdasarkan Tabel 1.

polen *G. gnemon* L. bertipe *isopolar*, dan simetri radial yaitu ukuran antara kutub proksimal, dan distal sama besar, dan memiliki bidang horizontal simetris dengan dua bidang vertikal simetris (Hesse et. al., 2009).



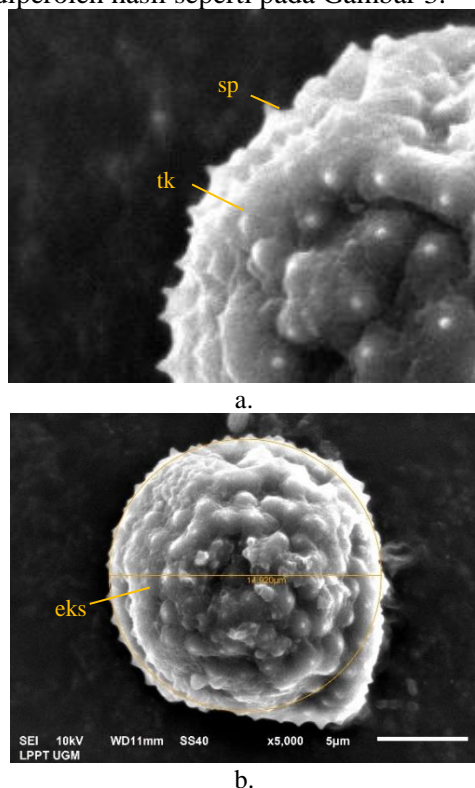
**Gambar 2.** Morfologi polen *G. gnemon* L. yang dihitung dari 10 sampel yang berasal dari satu individu dengan bentuk yang bermacam-macam, a) *Suboblate*, b) *Prolate Spheroidal*, c) *Prolate*, d) *Oblate Spheroidal*, e) *Prolate Spheroidal*, f) *Prolate*, g) *Oblate Spheroidal*, h) *Oblate Spheroidal*, i) *Oblate Spheroidal*, j) *Suboblate*. pro, proksimal; di, distal (Sumber: dokumentasi pribadi, 2021).

Menurut Erdtman (1952) bentuk polen dapat diketahui dari Indeks P/E. Indeks P/E merupakan perbandingan antara panjang polar, dan equatorial. Panjang polar merupakan jarak antara kutub proksimal (Gambar 2, pro), dan distal

(Gambar 2, di). Sedangkan panjang equatorial merupakan garis yang membagi kutub proksimal, dan distal sama besar. Berdasarkan klasifikasi Erdtman (1952) diperoleh berbagai macam bentuk pada polen *G. gnemon* L. (Gambar 2) dikarenakan perbandingan panjang polar dan equatorial yang berbeda-beda. Bentuk yang paling banyak diamati yaitu *oblate spheroidal* (Gambar 2d, 2g, 2h, dan 2i). Adapun polen lain berbentuk *suboblate* (Gambar 2a, 2j), *prolate* (Gambar 2c, 2f), dan *prolate spheroidal* (Gambar 2b, 2e). Hal ini dikonfirmasi oleh Tekleva (2015), dan Osborn (2000) yang menyebutkan bahwa bentuk polen *Gnetum* yaitu *spheroidal*.

### Ultrastruktur Polen *G. gnemon* L.

Ultrastruktur polen diamati dibawah SEM diperoleh hasil seperti pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Ultrastruktur polen *G. gnemon* L., a) ornamentasi membentuk tektum, dan spinula, dan b) ornamentasi disusun oleh eksin. sp, spinula; tk, tektum; eks, eksin (Sumber: dokumentasi LPPT UGM, 2021).

Karakter ultrastruktur polen *G. gnemon* L. yang diamati pada Gambar 3 yaitu tipe ornamentasi. Ornamentasi merupakan istilah dalam palinologi untuk menyebut struktur tambahan pada permukaan polen yang digunakan secara luas,

variatif, dan sangat penting untuk deskripsi suatu polen seperti *areola*, *clava*, *echinus*, *faveola*, *fossula*, *granulum*, *gemma*, *plicae*, *reticulum*, *rugulae*, *striae*, dan *verruca*. Tipe ornamentasi polen tergantung bentuk, dan ukuran spinulanya. Spinula (Gambar 3, sp) merupakan ciri khas polen *Gnetum* yang unik, dan berdiameter paling besar 1  $\mu\text{m}$ , apabila lebih kecil dari itu maka ditambahkan prefiks 'micro'. Berdasarkan Gambar 3, spinula polen *G. gnemon* L. berbentuk kerucut dengan ujung tumpul memiliki tipe ornamentasi *echinus*, dan berdiameter kurang dari 1  $\mu\text{m}$  (dapat dilihat dari bidang pandang yang digunakan yaitu 5  $\mu\text{m}$ ) (Gambar 3b) mendapatkan prefiks 'micro' sehingga ornamentasi polen *G. gnemon* L. yaitu *microechinus*. Ornamentasi ini juga teramati pada spesies lain genus *Gnetum* (Hesse, 1980; Tekleva, 2015; Osborn, 2000; Hesse et. al., 2009).

Perkembangan menuju kompleksitas lapisan terluar penyusun dinding polen dimulai dari luar ke dalam sehingga ornamentasi terbentuk lebih dahulu dibandingkan tektum dan lapisan-lapisan lain disebelah dalam. Ornamentasi dihasilkan selama proses meiosis II sebelum fase tetrad, dan melibatkan kalosa. Kalosa ( $\beta$ -1,3-*polyglucan*) merupakan komponen awal penyusun dinding polen yang berasal dari sitoplasma mikrosporisit parent, sehingga terjadi pewarisan sifat dalam proses pembentukan dinding polen. Oleh karena itu, ornamentasi biasanya dijadikan sebagai bukti taksonomi non-molekuler pada polen. Kalosa sebagai satu lapis lapisan penyusun dinding polen terletak diantara sitoplasma, dan dinding sel induk polen akan berperan mengamankan, dan memisahkan antara makromolekul dengan sel polen lainnya selama meiosis II berlangsung sehingga terbentuklah mikrospora muda. Selama pembelahan hingga menuju akhir, kalosa berpindah menuju lapisan luar dinding polen hingga menutupi pori, dan menghasilkan ornamentasi (Stanley and Linkersen, 1974).

Sedangkan tektum (Gambar 3a, tk) dihasilkan selama fase tetrad. Selama pertumbuhan lapisan terluar dinding polen terjadi secara tidak seragam memunculkan celah-celah sempit, dan lapisan primeksin. Lapisan primeksin mengandung serat-serat *mikro selulosa*, dan material-material padat yang tergabung dalam sebuah *selubung matriks* yang akan saling memisah sehingga membentuk aperture, pori-pori, *interporal*, dan

eksin. Apertura akan terus mengalami perubahan selama proses pembentukan lapisan dinding polen berlangsung (keberadaannya berkaitan dengan ketebalan lapisan eksin). Lain halnya dengan primeksin akan terus menebal secara tidak homogen dengan *probakulum* yang berbentuk *granular* muncul disebelah dalam, dan *sporopolenin* disebelah luar yang belum terdeposisi atau disebut tektum. Setelah lapisan sebelah dalam terbentuk, sebelum dilepaskan dalam bentuk mikrospora, eksin akan dilapisi oleh *polenkitt* berisi *lipid*, dan *karotenoid* yang berfungsi untuk memberikan warna atau bau pada polen yang dapat menyebabkan polen saling menempel pada saat dilepaskan (Stanley and Linskersen, 1974; Hesse, 1980).

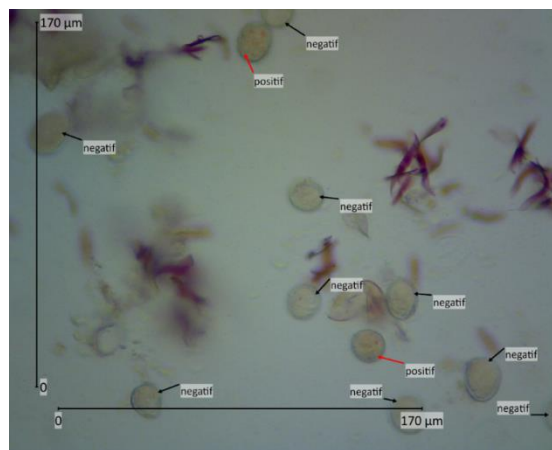
*Sporopolenin* kemudian akan terdeposisi setelah fase tetrad atau sudah berbentuk mikrospora. Proses ini terjadi segera setelah dilepaskannya mikrospora, sehingga seakan-akan mikrospora terbungkus oleh *sporopolenin*. Selama terdeposisi ditemukan aktivitas semacam *lignin* pada *sporopolenin*, sehingga tekstur *sporopolenin* sangat kuat, dan kaku. *Sporopolenin* merupakan ikatan polimer mengandung karbon, hidrogen, dan oksigen yang sangat stabil, dan telah ditemukan kandungan kimiawinya pada batuan sedimen berusia sekitar 500 juta tahun (Mackenzie *et. al.*, 2015).

Apertura merupakan salah satu karakter polen dapat berupa alur (*colpus*) atau lubang (*pori*) yang berfungsi sebagai celah keluarnya tabung polen selama perkecambah berlangsung, sebagai tempat untuk absorpsi air, dan pendeteksi substansi lain yang masuk. Apertura juga melindungi polen dari kekeringan, invasi jamur, dan stress mekanis. Oleh karena itu, pembentukan apertura berkaitan dengan kemampuan polen beradaptasi terhadap air atau habitat yang lembab, atau kebiasaan *mikroheterotrofik*. Karakter polen yang tidak memiliki apertura dapat dilihat dari karakter eksin polen. Polen yang tidak memiliki apertura memiliki lapisan eksin yang tipis untuk memudahkan tabung polen berkecambah atau aktivitas metabolisme yang berkaitan dengan kemampuan polen terhadap air. Berdasarkan Gambar 3. polen *G. gnemon* L. memiliki lapisan eksin yang tipis. Hal tersebut didukung juga oleh penelitian Yao *et. al.* (2004). Suhu selama mikrosporogenesis yang kurang mendukung menyebabkan lapisan eksin menjadi lebih tipis

karena *sporopolenin* tidak atau hanya sedikit yang terdeposisi. Selain itu, absennya beberapa lapisan penyusun eksin seperti lapisan *electron-lucent foot* menyebabkan lapisan eksin menjadi lebih tipis. Kondisi tidak adanya apertura umumnya ditemukan pada tumbuhan seperti monokotil atau tumbuhan di awal generasi yang telah beberapa kali berevolusi. Tidak adanya apertura ini tidak menghambat kerja polen untuk berkecambah. Pada beberapa monokotil untuk berkecambah diperankan oleh intin yang menebal (polen tipe *monoaperturate*), atau polen dapat berkecambah dari lapisan mana saja meskipun eksin tipis (polen tipe *omniaperturate*) (Tekleva, 2015; Osborn, 2000; Breygina *et. al.*, 2021; Umami dkk., 2021).

#### Fertilitas Polen *G. gnemon* L. per satuan luas bidang pandang 0,0289 mm<sup>2</sup>

Polen dilakukan uji warna tetrazolium 25% selama 30 menit menghasilkan polen terwarnai merah (+) dan tidak terwarnai (-) yang diamati pada mikroskop cahaya seperti Gambar 4.

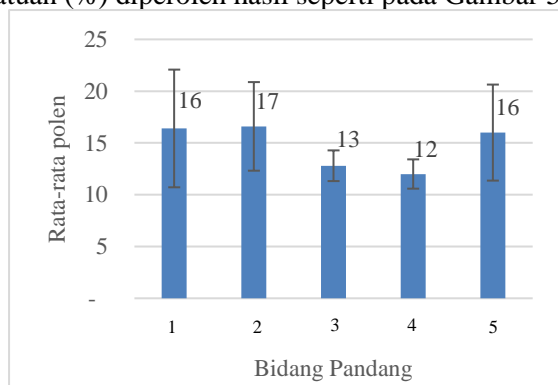


**Gambar 4.** Polen *G. gnemon* L. terwarnai (+), dan tidak terwarnai (-) per satuan luas bidang pandang 0,0289 mm<sup>2</sup> (Sumber: dokumentasi pribadi, 2022).

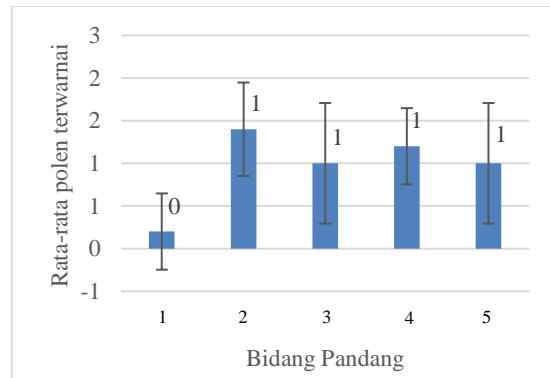
Berdasarkan Gambar 4. terlihat polen terwarnai (+) dan tidak terwarnai (-). Polen terwarnai memberikan reaksi yang positif terhadap pewarna 2, 3, 5-Tryphenil Tetrazolium Chloride (TTC), begitupun sebaliknya. Polen yang memberikan reaksi positif menunjukkan bahwa polen tersebut fertil. Pada polen fertil mengandung enzim dehidrogenase yang bereaksi dengan kandungan TTC yaitu turunan thiazine yang mengakibatkan terjadinya perubahan warna. Enzim dehidrogenase pada polen akan mentransfer

proton, dan elektron ke molekul akseptor melalui akseptor ion  $H^+$  perantara yaitu *flavoprotein nukleotida* pada TTC. Akseptor perantara tersebut akan menambah jumlah katalitik sehingga meningkatkan penerimaan ion  $H^+$  dari enzim dehidrogenase. Transfer elektron tersebut dapat menginduksi pergeseran cahaya spektral sehingga perubahan warna akan terdeteksi dalam pewarna perantara *redoks*, berwarna merah atau sebagai indikator bahwa jaringan tersebut masih hidup (Stanley and Linskersen, 1974; Afifah dkk., 2020).

TTC merupakan pewarna yang paling sering digunakan karena dapat larut dalam air, mudah diterapkan, dan terbukti akurat seperti pada *Pinus longifolia*, *P. nigra*, dan masih banyak polen lainnya (Stanley and Linskersen, 1974). Larutan TTC 1% yang disimpan selama 3 bulan dapat digunakan karena bersifat stabil, dan perendaman polen pada TTC umumnya dilakukan selama 12 – 36 jam (Stanley dan Linskersen, 1974; Afifah dkk., 2020). Namun, pemberian TTC 1% pada polen *G. gnemon* L. tidak menunjukkan reaksi yang positif sehingga harus dinaikkan konsentrasinya menjadi 25%. Hal tersebut disebabkan pada konsentrasi 1% TTC belum mampu berdifusi karena lapisan kalosa, eksin, dan pori mampu menghalangi proses difusi sehingga tidak terjadi reaksi transfer proton, dan elektron yang mengakibatkan perubahan warna pada polen (Stanley and Linskersen, 1974). Adapun waktu yang dibutuhkan untuk proses transfer proton, dan elektron hingga berubah warna yaitu 30 menit. Setelah itu, jumlah seluruh polen dihitung dalam satuan (%) diperoleh hasil seperti pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Rata-rata polen *G. gnemon* L. per satuan luas bidang pandang 0,0289 mm<sup>2</sup>



**Gambar 6.** Rata-rata polen *G. gnemon* L. terwarnai per satuan luas bidang pandang 0,0289 mm<sup>2</sup>

Berdasarkan Gambar 5. rata-rata polen pada setiap bidang pandang 0,0289 mm<sup>2</sup> hampir seragam yaitu sekitar 12 – 17 polen, dan dihitung dengan standar deviasi bidang pandang berurutan yaitu 5,683; 4,278; 1,483; 1,414; 4,637. Apabila dinyatakan dengan Rancangan Acak Lengkap seperti pada Lampiran 3. diperoleh hasil bahwa  $F_{hitung} < F_{tabel (0,05; 4, 20)}$  ( $1,56 < 2,87$ ) artinya jumlah polen pada masing-masing bidang pandang tidak berbeda nyata atau polen sudah tersebar homogen diatas gelas benda. Sedangkan berdasarkan Gambar 6. menunjukkan bahwa rata-rata jumlah polen terwarnai dalam setiap bidang pandang 0,0289 mm<sup>2</sup> yaitu 1 polen saja, dan dihitung dengan standar deviasi bidang pandang berurutan yaitu 0,447; 0,548; 0,707; 0,447; 0,707. Apabila dinyatakan dalam Rancangan Acak Lengkap seperti pada Lampiran 5.  $F_{hitung} < F_{tabel (0,05; 4, 20)}$  ( $19,29 < 2,87$ ) artinya jumlah polen terwarnai antar bidang pandang berbeda nyata. Bidang pandang dengan jumlah polen terwarnai paling berbeda nyata diuji menggunakan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) taraf 5% dan dihasilkan seperti pada Lampiran 6. yaitu bidang pandang 1 tidak ditemukan polen terwarnai.

Tingkat fertilitas yang rendah mengindikasikan bahwa polen kurang memiliki kemampuan dalam menghasilkan gamet jantan. Fertilitas yang rendah disebabkan terjadinya kegagalan pembelahan kromosom atau *non-disjunction* selama mikrogametogenesis tahap mitosis I. Kromosom Bs merupakan kromosom *non-fungsional* pada tumbuhan yang ditemukan tidak membelah saat anafase I. Hal tersebut disebabkan daerah kontrol menyediakan RNA untuk tetap mempertahankan *sister kromatid* Bs selama metafase I hingga anafase I dan II



sehingga tidak terjadi pembelahan kromosom Bs (Hasegawa, 1934; Müntzing & Prakken, 1941). Ekspresi nondisjungsi pada haploid tertentu mempengaruhi proses transkrip, dan membentuk kromatin yang sangat berbeda selama mitosis (Carchilan *et. al.*, 2007). Akumulasi kromosom Bs, dan pembentukan gelendong yang tidak sama selama mitosis memungkinkan penyimpangan pada tingkat mendelian ke generasi selanjutnya sehingga menyebabkan terganggunya pembentukan gamet jantan atau tingkat fertilitas polen menjadi rendah (Banaei-Monghaddam *et. al.*, 2012).

Strobilus yang masih muda, dan terserang hama, serta penyakit juga dapat menyebabkan rendahnya fertilitas polen. Pada strobilus muda, TTC tidak bereaksi secara efektif, hal tersebut disebabkan enzim dehidrogenase belum banyak dihasilkan sehingga tidak ada perantara untuk terjadinya perubahan warna pada polen. TTC diketahui hanya efektif digunakan pada polen matang yang akan berkecambah (Stanley and Linskensen, 1974). Sedangkan pada strobilus yang terserang hama, dan penyakit meskipun polen berhasil membentuk tabung polen, namun inti vegetatif tidak dapat mencapai ovum sehingga tidak terjadi fertilisasi, dan biji menjadi tidak berkembang (steril). Sehingga pada beberapa tanaman biasanya dilakukan pengawetan biji menggunakan larutan organik, dan pada biji steril dilakukan kultur jaringan *invitro* dengan media kultur sebagai endosperm. Polen yang disimpan dalam pelarut organik setara dengan polen yang diambil dari strobilus yang segar. Larutan organik juga membuat tanaman lebih resisten terhadap bakteri, virus, atau mikroorganisme lain. Hanya saja, setiap polen menunjukkan respon yang berbeda untuk setiap pelarut organik sehingga harus dilakukan pengujian beberapa kali. Kesesuaian larutan organik dengan polen berkaitan dengan karakteristik anatomi, dan genetik polen (Agarwal, 1983; Stanley & Linskensen, 1974; Widiastuti dan Palupi, 2007; Gati, 2016). Pada polen *G. gnemon* L. diawetkan menggunakan larutan organik yaitu *Isopropanol* menghasilkan viabilitas hingga 80,63%. Pada beberapa spesies, larutan *Isopropanol* menunjukkan tingkat fertilitas yang tinggi seperti pada spesies *Camelia japonica* mencapai 82,3% (Stanley and Linskensen, 1974; Kairani, 2010).

Kemampuan tanaman dalam mengabsorpsi zat

hara juga dapat mempengaruhi fertilitas polen (Marschner, 1995; Lau *et. al.*, 1995; Handayani, 2014). Kekurangan nutrisi yang cukup dan seimbang mengakibatkan perubahan lingkungan yang merugikan bagi tanaman sehingga mempengaruhi reproduksi pada strobilus jantan karena mikrosporogenesis dan mikrogametogenesis sensitif terhadap perubahan lingkungan yang merugikan. Tumbuhan *G. gnemon* L. tidak mendapatkan nutrisi yang cukup dan seimbang karena dibiarkan tumbuh begitu saja di habitatnya. Hal ini dikonfirmasi oleh pengamatan bahwa biji *G. gnemon* L. yang tidak dirawat memiliki fertilitas yang sangat rendah (1%) dan membutuhkan waktu sangat lama untuk berkecambah (6 bulan) (Lau *et. al.*, 1995; Gottardini *et. al.*, 2008; Nguyen *et. al.*, 2009; De Storme and Geelen, 2014; World Agroforestry, 2021). Selain itu, kemungkinan kesalahan perolehan data mencapai 26,47% juga mempengaruhi hasil perhitungan presentase fertilitas *G. gnemon* L. Kesalahan perolehan data dapat disebabkan karena kesalahan dalam menghitung, dan mendeteksi polen yang terwarnai dengan tingkat visualisasi mikroskop tertentu menyebabkan polen *G. gnemon* L. memiliki fertilitas yang rendah (Stanley and Linskensen, 1974).

Faktor lain yang ikut berperan dalam fertilitas polen yaitu suhu, dan perlakuan penyimpanan polen. Suhu lingkungan diketahui ikut mempengaruhi fertilitas polen. Pada suhu rendah, kerja enzim yang berperan dalam perkecambahan akan dihambat sehingga menyebabkan aktivitas metabolisme berlangsung lambat, dan tidak mampu bereaksi dengan TTC sehingga tidak terjadi perubahan warna pada polen. Namun, suhu rendah justru berpengaruh baik untuk viabilitas polen. Presentase viabilitas *invitro* lebih menunjukkan peningkatan apabila dilakukan penyimpanan pada suhu rendah daripada polen yang dihasilkan oleh strobilus matang. Pada 36 spesies yang diteliti oleh Stanley and Linskensen (1974) terdapat 1 spesies *Ginkgo biloba*, dan 8 spesies dari genus *Pinus* (memiliki hubungan kekerabatan dengan *G. gnemon* L.) dapat mempertahankan fertilitasnya apabila disimpan dalam suhu 0°C. Suhu optimum yang digunakan yaitu 0°C atau sekitar -12°C sampai -15°C selama lebih dari 3 tahun (Pfeiffer, 1936; Hesselstine & Snyder, 1958; Stanley and Linskensen, 1974; Izah, 2008).

Penyimpanan polen sebagai upaya polinasi buatan untuk mengawetkan polen berpengaruh baik pada fertilitas, namun berpengaruh buruk pada viabilitas polen. Perlakuan penyimpanan dapat menurunkan tingkat viabilitas polen karena akan mengganggu proses respirasi intraseluler yaitu terjadinya pemecahan gula menjadi asam organik. Dalam proses perkecambahan, gula sangat dibutuhkan untuk menurunkan permeabilitas polen, sehingga apabila gula dipecah sebagai akibat dari perlakuan penyimpanan, maka akan mengganggu proses perkecambahan (Stanley & Poostchi, 1962). Apabila pengujian fertilitas menggunakan metode pewarnaan sudah cukup memberikan akurasi pada hasil yang diinginkan, maka tidak perlu dilakukan uji viabilitas *in vitro* lebih lanjut (Stanley & Linskersen, 1974).

### Kesimpulan

Beberapa hal yang dapat disimpulkan dari penelitian yang telah dilakukan antara lain *Gnetum gnemon* L. *G. gnemon* L. memiliki karakteristik polen *monad*, *isopolar*, radial simetri, panjang polar 15,41  $\mu\text{m}$ , panjang equatorial 15,65  $\mu\text{m}$ , dan berbentuk bermacam-macam sesuai panjang polar, dan equatorial masing-masing. *G. gnemon* L. memiliki karakteristik polen *inaperturate*, dan ornamentasi *microechinus*. Polen *G. gnemon* L. dilakukan uji tetrazolium konsentrasi 25% selama 30 menit memiliki tingkat fertilitas tertinggi 18%, dan terendah 0% per satuan luas bidang pandang 0,0289  $\text{mm}^2$

### Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada Laboratorium Struktur Perkembangan Tumbuhan, dan Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, serta Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada yang telah memfasilitasi terlaksananya penelitian ini.

### Referensi

Abbas, M., & Suciato, E. T. (2020). Feed Resources Determination Based on Pollen Diversity in Trigona Bees (*Trigona* sp.) Colony. *Biosaintifika*, 12(3): 478 – 487. DOI: [10.15294/biosaintifika.v12i3.26603](https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v12i3.26603).  
Afifah, N., E., Widajati, E. & Palupi, E. R.

(2020). Pengembangan Uji Tetrazolium sebagai Metode Analisis Vigor Benih Botani Bawang Merah. *J. Hort. Indonesia*, 11 (2): 120-130. DOI: [10.29244/jhi.11.2.120-130](https://doi.org/10.29244/jhi.11.2.120-130).

Agarwal, V.R. (1983). A Study of Reading Ability in Relation to Certain Cognitive and Non-Cognitive Factors. *Asian Journal of Psychology and Education*, 11: 41-44. Available at <https://psycnet.apa.org/record/1984-24433-001>

Andoko, A., & Koemoro, S. (2008). Pesona Tanaman Purba, AgroMedia, pp: 7-9. ISBN: 9789790061460.

Apriani, L. D., Susetyarini, E., & Wahyuni, S. (2017). Ultrastruktur Pollen Anggrek Genus *Dendrobium* sebagai Sumber Belajar Biologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3): 248 – 257.

Banaei-Monghaddam, A. M., Schubert, V., Kmke, K., Weib, O., Klemme, S., Nagaki, K., Macas, J., Gonzales-Sanchez, M., Heredia, V., Gomes-Revilla, D., Gonzalez-Garcia, M., Vega, J. M., Puertas, M. J. & Houben, A. (2012). Nondisjunction in Favor of a Chromosome: The Mechanism of Rye B Chromosome Drive during Pollen Mitosis. *The Plant Cell Preview*, pp. 1 – 11. DOI: [10.1105/tpc.112.105270](https://doi.org/10.1105/tpc.112.105270).

Breygina, M., E., Klimenko, & Schekaleva, O. (2021). Pollen Germination and Pollen Tube Growth in Gymnosperms. *Plants*, 10: 1 – 16. DOI: [10.3390/plants10071301](https://doi.org/10.3390/plants10071301).

Carchilan, M., Delgado, M., Ribeiro, T., Costa-Nunes, P., Caperta, A., MoraisCecílio, L., Jones, R. N., Viegas, W. & Houben, A. (2007). Transcriptionally active heterochromatin in rye B chromosomes. *Plant Cell*, 19: 1738–1749. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046946>.

De Storme, N., & Geelen, D. (2014). Callose homeostasis at plasmodesmata: molecular regulators and developmental relevance. *Front. Plant Sci*, 113: 489 – 500. DOI: [10.3389/fpls.2014.00138](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00138).

Erdtman, G. (1952). Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms: *Chronica Botanica*. Almquist and Wiksell. Stockholm.

Gati, E. (2016). Pemuliaan Tanaman Melalui Induksi Mutasi dan Kultur In Vitro, IAARD

- Press, Jakarta, pp: 34 – 35.  
<http://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/12094>.
- Gottardini, E., Cristofori, A., Cristofolini, F., Maccherini, S. & Ferretti, M. (2008). Ambient Levels of Nitrogen Dioxide (NO<sub>2</sub>) May Reduce Pollen Viability in Austrian Pine (*Pinus nigra* Arnold) Trees—Correlative Evidence from a Field Study. *Science of the Total Environment*, 402: 299 – 305. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2008.04.048](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.04.048).
- Gusmalawati, D., Huda, M. F., Fauziah, S. M., Banyo, Y. E., & Abidin, Z. (2021). Karakterisasi Morfologi Polen dari Sepuluh Jenis Tumbuhan dari Famili yang berbeda. *Jurnal Teknologi Terapan*, 4(2): 303 – 309.
- Handayani, D. P. (2014). *Peningkatan Viabilitas Serbuk Sari Jagung dengan Pemupukan NPK dan Boron, dan Pemanfaatannya dalam Produksi Benih Hibrida*. Tesis Institut Pertanian Bogor. Pp. 1 – 57.
- Hasegawa, N. (1934). A cytological study on 8-chromosome rye. *Cytologia*, 6: 68– 77. DOI: [10.1508/cytologia.6.68](https://doi.org/10.1508/cytologia.6.68).
- Hasrianda, E. F., Zaelani, A., & Poerba, Y. S. 2020. Jumlah, Uji Viabilitas dan Daya Kecambah Polen 31 Aksesori Pisang (*Musa* Sp.) Koleksi Kebun Plasma Nutfah Pisang Lipi. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*, 19(2): 197 – 206.
- Hesse, M. (1980). Pollenkitt is Lacking in *Gnetum gnemon* (Gnetaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 136: 41 – 46. <https://www.jstor.org/stable/23642498>
- Hesse, M., Halbritter, H., Weber, M., Buchner, R., Radivo, A. F., Ulrich, S. & Zetter, R. (2009). *Pollen Terminology: An Illustrated Handbook*, Springer, Austria, pp: 29 – 31. ISBN: 978-3-211-79894-2.
- Hesseltine, C. W. & Snyder, E. B. (1958). Attempts to Freeze-dry Pine. Pollen for Prolonged Storage. *Bull. Torrey Bot. Club*. 85: 134-135. DOI: [10.2307/2483027](https://doi.org/10.2307/2483027).
- Izah, U. N. (2008). *Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas Polen Tanaman Anggur*. Skripsi Universitas Islam Negeri Malang. Pp. 45 – 51.
- Jayanti, U. N. A. D. (2020). *Keanekaragaman Tumbuhan: Modul Inkuiri Berbasis Potensi dan Kearifan Lokal*, Ahlimedia Book. Malang, pp. 43 – 44. ISBN: 9786237531784.
- Kairani, A. (2010). *Pengawetan Polen Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn.) dengan Beberapa Pelarut Organik*. Skripsi Universitas Andalas. pp: 1 – 4.
- Katifori, E., Alben, S., Cerda, E., Nelson, D. R. & Dumais, J. (2010). Foldable Structures and The Natural Design of Pollen Grains. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 107(17); 7635 – 7639. DOI: [10.1073/pnas.0911223107](https://doi.org/10.1073/pnas.0911223107).
- Lau, T. C., Lu, X., Koide, R. T. & Stephenson, A. G. (1995). Effects of soil fertility and mycorrhizal infection on pollen production and pollen grain size of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Plant, Cell and Environment*, 18: 169 – 177. DOI: [10.1111/j.1365-3040.1995.tb00350.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1995.tb00350.x)
- Mackenzie, G., Boa, A.N., Diego-Taboada, A., Atkin, S. L., & Sathyapalan, T. (2015). Sporopollenin, the least known yet toughest natural biopolymer. *Front. Mater*, 2: 1 – 5. <https://doi.org/10.3389/fmats.2015.00066>
- Marschner, H. (1995). Functions of Mineral Nutrients: Micronutrients. In: *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd Edition, Academic Press, London, pp: 313-404. ISBN: 9780080571874.
- Müntzing, A. & Prakken, R. (1941). Chromosomal aberrations in rye populations. *Hereditas*, 27: 273–308. DOI: [10.1111/j.1601-5223.1941.tb03261.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1941.tb03261.x)
- Muroyama, A., & Bergmann, D. (2019). Plant cell polarity: Creating diversity from inside the box. *Ann Rev Cell Dev Biol*, 35:309–336. DOI: [10.1146/annurev-cellbio-100818-125211](https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125211)
- Nguyen, D. X., Bos, P. D. & Massague, J. (2009). Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer*, 9(4): 274 – 284. DOI: [10.1038/nrc2622](https://doi.org/10.1038/nrc2622)
- Osborn, J. M. (2000). Pollen Morphology and Ultrastructure of Gymnospermous Anthophytes. *Pollen and spores: Morphology and Biology*, pp: 163 – 185. DOI: [10.1080/00173130052017253](https://doi.org/10.1080/00173130052017253)
- Pacini, E., & Franchi, G. G. (2000). Types of Pollen Dispersal Units in Monocots. *Monocots: Systematics and Evolution*, pp. 295 – 300, ISBN: 0643064370
- Pacini, E., & Hesse, M. (2002). Types of Pollen Dispersal Units in Orchids, and their Consequences for Germination and

- Fertilization. *Iann. Bot*, 89(6): 653 – 664. DOI: [10.1093/aob/mcf138](https://doi.org/10.1093/aob/mcf138).
- Pfeiffer, N. E. (1936). Longevity of pollen of Lili'um and hybrid Amol'yllis. *Contrib. Boyce Thompson Inst*, 8:41–50.
- Qi, J., & Greb, T. (2017). Cell polarity in plants: The Yin and Yang of cellular functions. *Curr Opin Plant Biol*, 35: 105–110. DOI: [10.1016/j.pbi.2016.11.015](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.11.015)
- Qureshi, S. J., Awan, A. G., Khan, M. A. & Bano, S. (2002). Study of Pollen Fertility of the Genus *Launaea* from Pakistan. *Asian Journal of Plant Species*, 1 (1): 73 – 74. DOI: [10.3923/ajps.2002.73.74](https://doi.org/10.3923/ajps.2002.73.74)
- Ridha, R. (2016). Uji Viabilitas Polen Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) Introduksi. *Jurnal Penelitian*, 3 (2): 81 – 89. ISSN: 9772356049002.
- Shao, W., & Dong, J. (2016). Polarity in plant asymmetric cell division: Division orientation and cell fate differentiation. *Dev Biol*, 419:121–131. DOI: [10.1016/j.ydbio.2016.07.020](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.07.020).
- Stanley, R. G. & Linskersen, H. F. (1974). Pollen: Biology Biochemistry and Management, Springer, Berlin: pp: 13 – 213. ISBN: 978-3-642-65905-8
- Stanley, R. G. & Poostchi, I. (1962). Endogenous carbohydrates, organic acids, and pine pollen viability. *Silvae Genet*. 11:1 – 3. Available at [https://www.thuenen.de/media/institute/fg/PDF/Silvae\\_Genetica/1962/Vol.11\\_Heft\\_1/11\\_1\\_01.pdf](https://www.thuenen.de/media/institute/fg/PDF/Silvae_Genetica/1962/Vol.11_Heft_1/11_1_01.pdf)
- Subantoro, R., & Prabowo, R. (2013). Pengkajian Viabilitas Benih dengan Tetrazolium Test pada Jagung dan Kedelai. *Mediagro*, 9(2): 1 – 8. DOI: [10.31942/md.v9i2.1327](https://doi.org/10.31942/md.v9i2.1327)
- Tekleva, M. (2015). Pollen morphology and ultrastructure of several *Gnetum* species: an electron microscopic study. *Plant Syst Evol*, pp. 1 – 13. DOI: [10.1007/s00606-015-1262-6](https://doi.org/10.1007/s00606-015-1262-6).
- Umami, E. K., Sa'adah, N. N., Ramadhani, M. T., Izzati, O. A., Nurrohman, E. & Pantiwati, Y. (2021). Studi Eksplorasi Morfologi Serbuk Sari Berbagai Famili Tumbuhan. *Lombok Journal of Science (Ljs)*, 3(2): 16 – 21. ISSN: 2721-3250.
- Widiastuti, A., & Palupi, E. R. (2007). Viabilitas Serbuk Sari dan Pengaruhnya terhadap Keberhasilan Pembentukan Buah Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Biodiversitas*, 9(1):35 – 38. DOI: [10.13057/biodiv/d090109](https://doi.org/10.13057/biodiv/d090109)
- World agro forestry. (2021). *Gnetum gnemon*. <https://apps.worldagroforestry.org/treedb2/speciesprofile.php?Spid=1751> (Accessed on February 28, 2022)
- Yang, Z. (2008). Cell polarity signaling in *Arabidopsis*. *Ann Rev Cell Dev Biol*, 24: 551–575. DOI: [10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123233](https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123233)
- Yao, Y. F., Xi, Y. Z., Geng, B. Y. & Li, C. S. (2004). The exine ultrastructure of pollen grains in *Gnetum* (*Gnetaceae*) from China and its bearing on the relationship with the ANITA Group. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 146: 415–42. Available at <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300966254>
- Zhang, Y., & Dong, J. (2018). Cell polarity: Compassing cell division and differentiation in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 45:127–135. DOI: [10.1016/j.pbi.2018.06.003](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.06.003)