

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

PERBANYAKAN TANAMAN HIAS AIR *Microsorium pteropus* MELALUI KULTUR KANTONG SPORA PADA BERBAGAI SUBSTRAT

Muhamad Yamin^{*)#}, Tutik Kadarini^{*)}, dan Lili Sholichah^{*)}

^{*)} Balai Riset Budidaya Ikan Hias
Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok 16436

(Naskah diterima: 24 Oktober 2018; Revisi final: 11 November 2019; Disetujui publikasi: 12 November 2019)

ABSTRAK

Produksi massal tanaman hias air pakis jawa *Microsorium pteropus* melalui pemotongan rhizoma terlihat kurang efisien sedangkan melalui kultur *in vitro* spora masih sulit dilakukan masyarakat. Salah satu pendekatan baru dalam perbanyakan tanaman *M. Pteropus* melalui kultur kantong spora telah berhasil dilakukan. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan media dalam perbanyakan tanaman *M. pteropus* melalui kultur kantong spora. Potongan daun yang mengandung satu kantong spora diletakkan di atas media tanam, ditutup dengan plastik transparan, dan ditaruh pada lingkungan di luar ruangan (*outdoor*). Media tanam yang digunakan yaitu: A) cacahan akar pakis; B) serutan kayu; C) cacahan akar pakis + serutan kayu; D) cacahan akar pakis + serutan kayu + kompos; E) pasir gunung berapi (pasir malang); F) abu sekam padi; G) pasir; dan H) tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perkembangan sporofit muda (*young sporophyte*) sudah mulai terlihat pada bulan pertama sampai ketiga setelah tanam. Sporofit muda yang berkembang dari kantong spora yang dipelihara pada media pasir, media tanah dan media campuran serutan kayu + akar pakis + kompos menunjukkan rata-rata persentase tanaman hidup yang paling tinggi yaitu 48%. Sebaliknya sporofit muda paling sedikit berkembang pada media akar pakis, media abu sekam padi dan media campuran akar pakis, dan serutan kayu. Berdasarkan hasil tersebut maka media terbaik untuk perbanyakan *M. pteropus* di luar ruangan melalui kultur kantong spora adalah media tanah dan media campuran akar pakis + serutan kayu + kompos.

KATA KUNCI: media tanam; *Microsorium pteropus*; kantong spora; sporofit muda

ABSTRACT: *Propagation of ornamental aquatic plant of Microsorium pteropus through sori culture using different substrates. By: Muhamad Yamin, Tutik Kadarini, and Lili Sholichah*

Mass production of *Microsorium pteropus* through rhizome cuttings has been deemed not efficient while the application of *in vitro* culture of its spores is still technically difficult to be performed by farmers. A novel approach to mass-produce *M. pteropus* through sori culture has been developed and is relatively easy to perform. This study was aimed to determine a suitable propagation media for sori culture of *M. pteropus*. Small cut fronds containing one sorus were laid on the culture media and covered with a transparent plastic sheet and left on outdoor conditions. The culture media used were: A) fern-root; B) wood shavings; C) fern-root + wood shavings; D) fern-root + wood shavings + compost; E) volcanic sand; F) rice husk ash; G) sand; and H) soil. The results showed that young sporophytes developed in the 1st to 3rd month after culture. The young sporophytes developed in the sand, soil and mixture of wood shavings + fern-root + compost medium showed higher numbers of live plants (48%). In contrast, the lower numbers of live young sporophyte were found in the fern-root, rice husk ash, and mixture of fern-root + wood shavings medium. Based on these results, the best alternative media for propagation of *M. pteropus* through sori culture on the outdoor conditions are soil media and the mixture of fern roots + wood shavings + compost media.

KEYWORDS: culture medium; *Microsorium pteropus*; sori; young sporophyte

PENDAHULUAN

Microsorium pteropus atau pakis Jawa (*Java fern*) adalah salah satu jenis tanaman hias air yang cukup

populer dan banyak dipasarkan di berbagai negara (Johnburom *et al.*, 2016; USDA, 2013). Tanaman ini dapat tumbuh di bawah air dan menjadi favorit untuk *aquascaping* karena bentuknya yang bagus dan mudah tumbuh dalam kondisi akuarium. *M. pteropus* memiliki daun berwarna hijau pekat dengan bentuk memanjang dan tumbuh dari rimpang. Selain digunakan untuk

Korespondensi: Balai Riset Budidaya Ikan Hias.
Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok 16436, Indonesia.
Tel. + 62 21 7520482
E-mail: yaminpaada@gmail.com

akuascape, *M. pteropus* juga dilaporkan dapat berfungsi sebagai antibakteri (Nath *et al.*, 2016) dan *bioaccumulator* untuk cadmium (Lan *et al.*, 2018). Hal ini diduga disebabkan karena tanaman ini memiliki kandungan alkaloid (Djorongaa *et al.*, 2014) yaitu zat yang mempunyai efek berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, dan obat penyakit jantung (Simbala, 2008).

Microsorium pteropus, adalah anggota dari ordo Polypodiales dan keluarga Polypodiaceae. Tanaman pakis ini berasal dari dari kawasan Asia Tenggara, Cina, Jepang, Nepal, dan India (USDA, 2013). Namun saat ini tanaman ini sudah tersebar di berbagai negara di Benua Eropa, Amerika Serikat, dan Australia (Johnburom *et al.*, 2016; USDA, 2013). Di alam, *M. pteropus* menyebar pada daerah dengan ketinggian 0-800 m dari permukaan air (MDPL) yang terlindung dari cahaya matahari. *M. pteropus* biasanya tumbuh di bebatuan berlumpur dekat tepi sungai atau air terjun yang memiliki kelembaban yang relatif tinggi dan intensitas cahaya rendah (Kowalski, 2004; Lansdown, 2011; USDA, 2013). Tanaman *M. pteropus* terdiri atas beberapa varietas yang berbeda baik dalam ukuran dan bentuk daun. Di akuarium, tanaman ini tumbuh relatif lambat dan membutuhkan cahaya dan CO₂ yang relatif rendah.

Perbanyak *M. pteropus* dapat dilakukan dengan cara generatif atau vegetatif. Perbanyak secara generatif adalah perbanyak tanaman menggunakan spora seperti tanaman pakis lainnya. Organ reproduksi *M. pteropus* adalah spora yang terdapat dalam sporangia berkelompok membentuk kantong spora atau sori (tunggal: sorus). Kantong spora ini terlihat seperti bintik hitam atau coklat di bagian bawah daun dewasa (*frond*). Jumlah kantong spora pada tanaman pakis cukup banyak, sebagai gambaran pada satu daun *Polypodium scolieri* dapat mengandung sampai mendekati 700-an kantong spora (Cody, 2006). Pada kondisi yang memungkinkan, sporangia akan menghasilkan spora yang berkembang menjadi gametofit. Selanjutnya gametofit akan berkembang menjadi zigot, sporofit, dan tanaman pakis muda sampai menjadi pakis dewasa. Selain itu, perbanyak dapat dilakukan secara vegetatif yaitu dengan menggunakan potongan rimpang (*rhizome*) dan diletakkan pada media tanam. Namun metode vegetatif ini kurang efisien untuk produksi *M. pteropus* secara massal. Hal ini disebabkan karena dalam satu rimpang hanya menghasilkan beberapa tanaman sementara pertumbuhan tanaman ini relatif lambat.

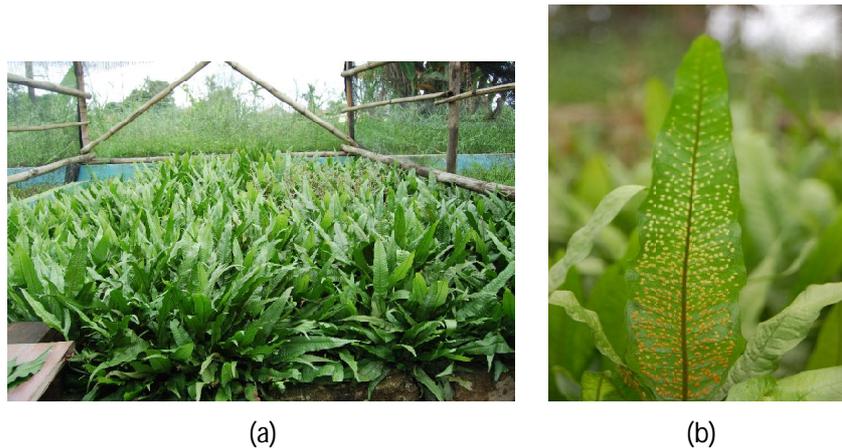
Untuk mengatasi lambatnya perbanyak tanaman *M. pteropus* melalui potongan rimpang, maka salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah perbanyak

tanaman melalui spora. Pradissan *et al.* (2010) melaporkan bahwa perbanyak *M. pteropus* melalui spora dengan teknik *in vitro* telah berhasil dilakukan. Namun sampai saat ini aplikasi perbanyak *M. pteropus* melalui spora belum banyak dilakukan masyarakat atau dunia industri karena teknologi ini membutuhkan keterampilan khusus, biaya yang besar, dan peralatan yang mahal. Untuk mengatasi masalah tersebut, maka perlu adanya teknik perbanyak tanaman *M. pteropus* melalui spora namun dengan teknik yang lebih sederhana. Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah melalui kultur kantong spora.

Seperti perbanyak tanaman pakis lainnya, perbanyak *M. pteropus* melalui kantong spora membutuhkan media dan lingkungan yang cocok dapat berkembang menjadi sporofit muda. Beberapa komponen media tumbuh yang selama ini digunakan dalam aklimatisasi dan kultur sporofit tanaman pakis di antaranya pasir kasar, kerikil, arang, lumut gambut (*peat moss*), gambut humus (*peat humus*), serasah daun (*leaf mold*), lumut (*moss*), dan pupuk kandang (Thomas & Garber, 2009; Fernández *et al.*, 2011). Penggunaan pasir dan tanah karena merupakan habitat tumbuh alami tanaman ini di alam (Lansdown, 2011). Penambahan pupuk bertujuan untuk meningkatkan nutrisi di media dan penambahan arang untuk meningkatkan *drainase*. Tidak jarang juga digunakan media campuran dari bahan-bahan tersebut untuk mendapatkan media yang cukup subur dengan *drainase* yang baik (Thomas & Garber, 2009). Sebagai langkah awal untuk mendapatkan media yang sesuai bagi perbanyak *M. pteropus* melalui kantong spora dapat dilakukan dengan mencoba beberapa komponen media yang biasa digunakan sebagai media tumbuh tanaman pakis di atas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan media terbaik untuk perbanyak tanaman *M. pteropus* melalui kultur kantong spora.

BAHAN DAN METODE

Kantong spora diperoleh dari daun-daun tua tanaman air pakis Jawa *M. pteropus* var. Kadaka yang terdapat pada kebun koleksi tanaman hias air Balai Riset Budidaya Ikan Hias (BRBIH), Depok, Jawa Barat, Indonesia (Gambar 1). Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Tanaman BRBIH. Lokasi kultur kantong spora berada di luar ruangan (*out door*) berada di bawah atap dan paranet 90% sehingga kantong spora tidak terkena sinar matahari langsung khususnya dari siang sampai sore hari. Percobaan didesain dalam rancang acak lengkap (RAL) dengan delapan perlakuan media tanam dan dua ulangan. Masing-masing perlakuan media tanam tersebut adalah: A) cacahan akar pakis; B) cacahan serutan kayu; C) cacahan akar pakis + cacahan serutan kayu; D) cacahan akar pakis



Gambar 1. Tanaman air pakis Jawa, *Microsorium pteropus* var. Kadaka; tanaman koleksi *M. pteropus* di BRBIH (a); daun *M. pteropus* yang mengandung kantong spora (b).

Figure 1. Aquatic Java fern, *Microsorium pteropus* var. Kadaka; *M. pteropus* collection plant at BRBIH (a); a leaf of *M. pteropus* containing sori (b).

+ cacahan serutan kayu + kompos; E) pasir gunung berapi (pasir malang); F) abu sekam padi; G) pasir; dan H) tanah.

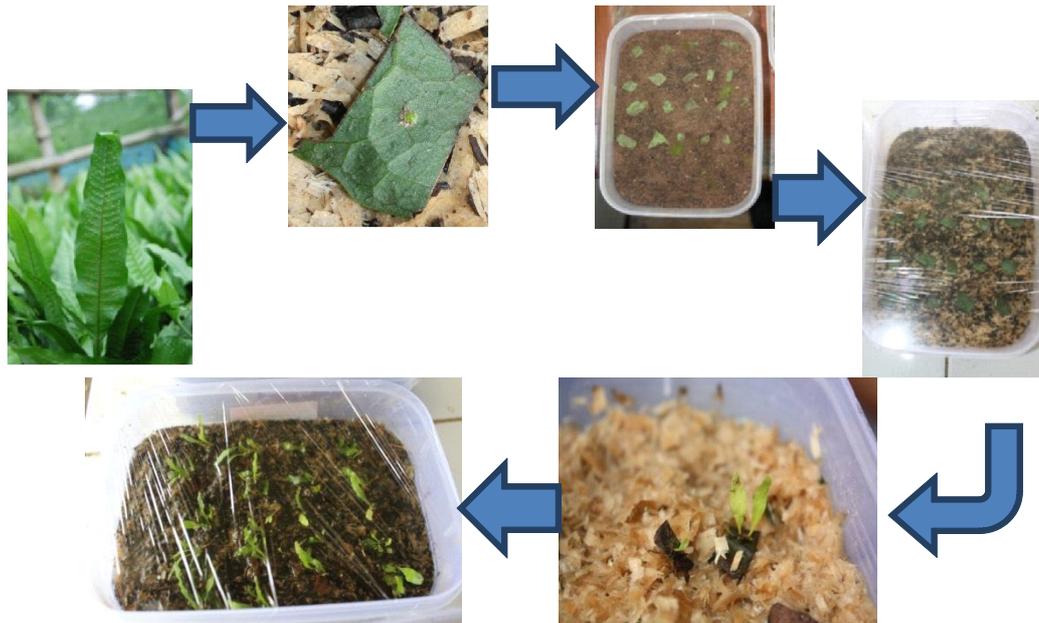
Daun-daun dengan kantong spora yang sudah tua (*matured*) dipilih dari bak pemeliharaan tanaman dan dimasukkan ke dalam kantong plastik hitam. Selanjutnya di laboratorium daun dipotong kecil-kecil (sekitar 0,5 cm x 0,5 cm) sehingga masing-masing potongan berisi satu buah kantong spora utuh. Potongan-potongan daun diletakkan di atas media sesuai perlakuan yang terdapat di baki plastik (lebar 10 cm x panjang 20 cm) dengan posisi kantong spora menghadap ke atas. Kemudian ditambahkan air secukupnya namun tidak menyebabkan potongan daun tergenang air. Selanjutnya wadah ditutupi dengan plastik transparan (*plastic wrap*) sehingga kedap dan air tidak mudah menguap (Gambar 2). Pada kondisi ini kelembaban dalam wadah dapat bertahan pada 95% atau lebih. Selanjutnya wadah tersebut diletakkan di lingkungan pemeliharaan yang berada ruangan terbuka (*outdoor*) di mana pada bagian atas tempat pemeliharaan tersebut terlindungi oleh atap dan paranet 90%. Hal ini menyebabkan kantong spora tersebut hanya terkena sinar matahari langsung dari pagi sampai siang sebelum pukul 12.00. Sementara pada siang sampai sore hari wadah akan ternaungi dari sinar matahari langsung. Penelitian dilakukan selama tiga bulan dan penambahan air dilakukan hanya ada media terlihat kekuangan air. *Sampling* dilakukan setiap bulan sekali dengan parameter yang diamati adalah jumlah sporofit muda yang berkembang dari kantong spora. Analisis data jumlah sporofit yang berkembang menggunakan ANOVA faktor tunggal (*one way anova*), dan dilanjutkan Uji Tukey menggunakan software MINITAB.

Kondisi pemeliharaan yang berada di luar ruangan menyebabkan adanya fluktuasi suhu, kelembaban, dan intensitas cahaya harian seperti pada siang dan malam atau akibat perubahan cuaca seperti cerah, mendung atau hujan. Secara umum suhu dan intensitas cahaya mengalami peningkatan dari pagi hingga mencapai puncak pada siang hari dan kemudian menurun sampai sore dan malam hari. Untuk menghindari fluktuasi tersebut maka wadah kultur kantong spora *M. pteropus* ditutup dengan plastik *wrap* hingga cukup kedap dan diletakkan pada tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung. Pada kondisi ini, kondisi lingkungan di sekitar kantong spora dapat lebih terkontrol. Untuk mendapat gambaran kondisi ruangan pemeliharaan dilakukan pengukuran suhu, kelembaban, dan intensitas cahaya di lokasi pemeliharaan pada siang hari. Gambaran kondisi lingkungan pemeliharaan kantong spora kadaka ditampilkan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 terlihat kisaran suhu udara di lingkungan pemeliharaan adalah 24,0°C-35,9°C; dengan kadar air berkisar adalah 52%-99%, dan intensitas cahaya mencapai 8.500 lux pada siang hari di bawah naungan paranet.

HASIL DAN BAHASAN

Pembentukan Sporofit

Persentase sporofit muda yang berkembang dari kantong spora pada berbagai media setelah tiga bulan pemeliharaan ditampilkan pada Gambar 3. Dari Gambar 3, terlihat bahwa perkembangan sporofit muda dari kantong spora mulai terjadi pada bulan pertama namun dengan persentase yang berbeda antara media. Pada umumnya perkembangan sporofit muda mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu



Gambar 2. Metode perbanyakan pakis Jawa *M. pteropus* var. Kadaka melalui kultur kantong spora.

Figure 2. Propagation method of aquatic Java fern, *M. pteropus* var. Kadaka, through sori culture.

pemeliharaan (sampai bulan ke-3) khususnya pada media serutan kayu + pakis + pupuk, media tanah, media pasir malang, dan media pasir biasa. Sebaliknya perkembangan sporofit mengalami penurunan yang berarti pada media abu sekam padi di mana pada bulan pertama mencapai 25% namun terus berkurang pada bulan kedua dan ketiga hingga tinggal tersisa 5%.

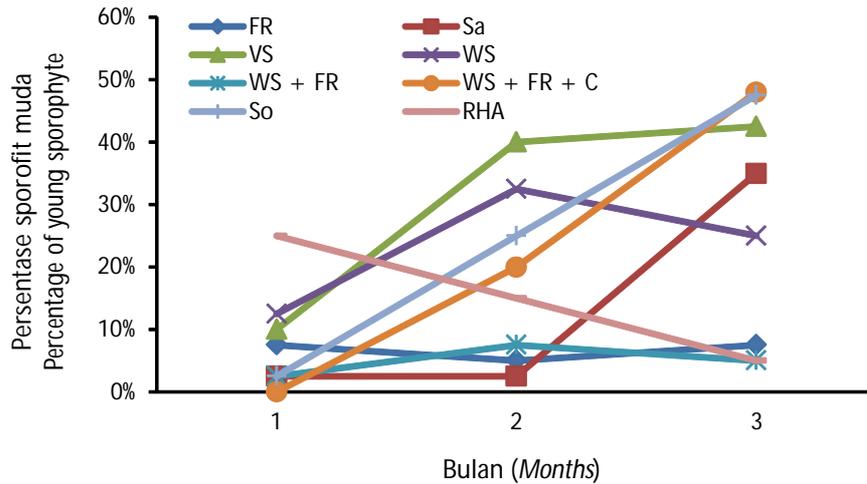
Pada akhir pengamatan diperoleh bahwa perkembangan sporofit paling besar terdapat pada perlakuan media serutan kayu + pakis + kompos (48%) dan media tanah (48%), disusul media pasir malang (43%), dan pasir biasa (35%). Sebaliknya paling sedikit sporofit yang berkembang dari perlakuan abu sekam padi (5%), serutan kayu + akar pakis (5%), dan akar pakis (8%). Namun demikian hasil uji lanjut menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$) dari masing-masing perlakuan (Gambar 4).

Secara umum, sporofit muda *M. pteropus* mulai berkembang dari kantong spora setelah satu bulan setelah pemeliharaan. Setidaknya ditemukan satu atau dua sporofit tumbuh di sebagian besar media setelah satu bulan pemeliharaan. Bila dibandingkan dengan kultur spora, perkembangan sporofit muda *M. pteropus* dari kultur kantong spora terlihat lebih cepat. Goller & Rybczynski (2007) melaporkan bahwa rata-rata lama waktu pembentukan sporofit muda dari spora dari tiga jenis pakis yang dicobakan adalah germination selama 4-16 minggu, gametophyte selama 14-20 minggu, dan sporofit selama 4-14 bulan. Sementara Luna *et al.* (2016) melaporkan bahwa untuk germination tanaman pakis *Anogramma chaerophylla* dari spora membutuhkan waktu selama dua minggu.

Persentase terbentuknya sporofit muda dari kantong spora yang terdapat di potongan daun

Tabel 1. Suhu, kadar air, intensitas cahaya di lokasi pemeliharaan
Table 1. Temperature, moisture content, light intensity in culture location

Parameter (Parameters)	Nilai Value
Suhu/Temperature (°C)	24.0-35.9
Kadar air/Moisture content (%)	52-99
Intensitas cahaya/Light intensity (lux)	2,700-8,500



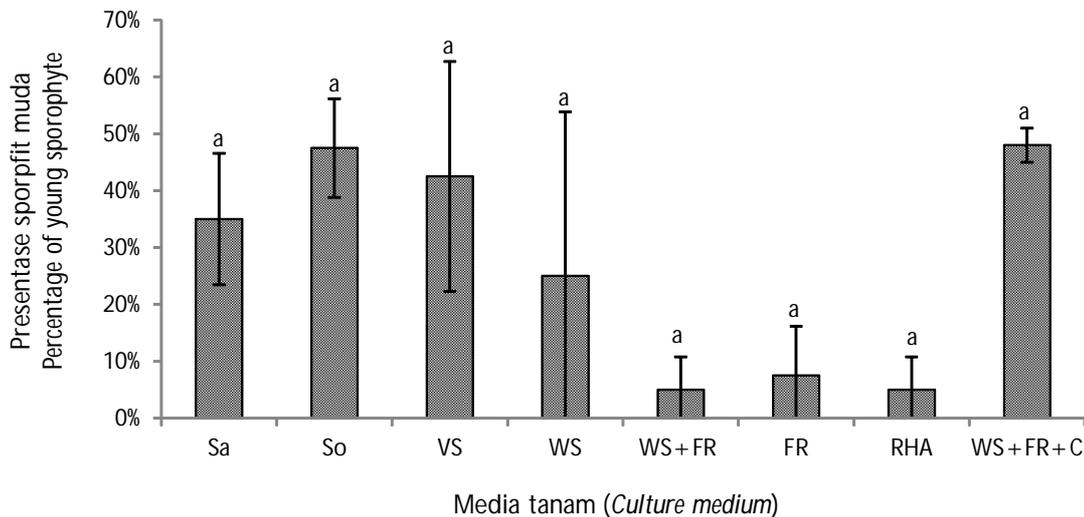
Keterangan (Note): FR= pakis (*fern root*); Sa= pasir biasa (*sand*); VS= pasir malang (*vulcano sand*); WS= serutan kayu (*wood shaving*); C= kompos (*compost*); So= tanah (*soil*); RHA= sekam (*rice husk ash*)

Gambar 3. Kecenderungan perkembangan sporofit muda *M. pteropus* pada berbagai media tanam selama penelitian.

Figure 3. Growth trend of young sporophyte of *M. pteropus* in treated media during the experiment.

ditentukan oleh kondisi lingkungan dan media pemeliharaan (Gambar 5). Lebih lanjut Goller & Rybczyński (2007) menyatakan bahwa faktor pembatas dalam kultur tanaman pakis adalah intensitas cahaya, lama penyinaran (*photoperiod*), kelembaban udara, dan

media tanam. Hasil uji coba perbanyak tanaman *M. pteropus* melalui kultur kantong spora menunjukkan bahwa sporofit yang berkembang dari kantong spora pada kondisi pemeliharaan di luar ruangan baru mencapai 48%. Masih rendahnya persentase sporofit



Keterangan (Note): FR= pakis (*fern root*); Sa= pasir biasa (*sand*); VS= pasir malang (*vulcano sand*); WS= serutan kayu (*wood shaving*); C= kompos (*compost*); So= tanah (*soil*); RHA= sekam (*rice husk ash*)

Gambar 4. Persentase sporofit muda *M. pteropus* yang berkembang pada berbagai media tanam setelah tiga bulan pemeliharaan.

Figure 4. Percentage of young sporophyte of *M. pteropus* grown in treated media after three months culture.

yang berkembang dari kantong spora ini diduga dipengaruhi oleh tinggi dan berfluktuasinya intensitas cahaya dan suhu selama pemeliharaan. Setiap tanaman memiliki respons terhadap cahaya yang berbeda di mana ada membutuhkan kondisi cahaya minim, sedang, dan berlebih. Demikian pula tanaman pakis membutuhkan cahaya mulai dari proses perkecambahan sampai tanaman dewasa baik dalam proses metabolisme maupun fotosintesis. Pada penelitian ini, kantong spora terpapar cahaya matahari langsung dari pagi sampai menjelang tengah hari dengan intensitas yang cukup tinggi (sampai dengan

8.500 lux). Intensitas cahaya yang berlebihan dari yang dibutuhkan dapat menjadi faktor pembatas pada tanaman. Bahkan pada cahaya yang kuat dapat merusak enzim akibat foto-oksidasi sehingga mengganggu proses metabolisme seperti dalam sintesis protein (Linda, 2007). Adanya pengaruh cahaya pada perkembangan sporofit pakis juga telah dilaporkan pada beberapa studi sebelumnya. Wada (2007) menyatakan bahwa cahaya memiliki peran penting pada perkecambahan (*germination*) spora pakis dan dormansi kebanyakan tanaman pakis. Sementara pembentukan sporofit dari spora *Pteridium esculentum* dan *Adiantum*



A



B



C



D



E

Gambar 5. Sporofit muda *M. pteropus* pada tiga bulan pemeliharaan pada media yang berbeda; A= media pasir; B= media pasir gunung berapi; C= media tanah; D= media campuran akar pakis + serutan kayu + kompos; E= media serutan kayu.

Figure 5. Young sporophyte of *M. pteropus* after three months culture in different media; A= sand medium; B= vulcano sand medium; C= soil medium; D= mixture of fern root + wood shaving + compost medium; E= wood shaving medium.

reniforme var. *Sinense* dipengaruhi oleh fase gelap, intensitas cahaya, dan fluktuasi cahaya (Willyams & Daws, 2014; Hua *et al.*, 2010).

Di samping cahaya, perkembangan sporofit dari kantong spora ini mungkin juga dipengaruhi oleh fluktuasi dan tingginya suhu lingkungan pemeliharaan (24°C-36°C). Adanya pengaruh suhu pada germinasi tanaman pakis juga telah dilaporkan. Fluktuasi suhu (20°C-30°C) dilaporkan dapat menghambat germinasi tanaman pakis *Tectaria heracleifolia*, *T. incisa*, *T. mexicana*, dan *T. transiens* (Pe'rez-Garcý'a *et al.*, 2007). Suhu sendiri berperan penting dalam mempertahankan viabilitas spora (Whittier, 1990).

Selain kondisi lingkungan, media tanam berperan penting pada pembentukan sporofit tanaman pakis di mana media berperan penting dalam memasok air dan nutrisi yang diperlukan untuk germinasi spora dan perkembangan sporofit (Camloh, 1999; Dyer, 1979; Fernández *et al.*, 1997; Higuchi *et al.*, 1987; Khoo & Thomas, 1980; Mohr, 1963). Dari hasil analisis didapatkan bahwa respons pembentukan sporofit *M. pteropus* terlihat berbeda antar media yang diujikan. Dari semua media yang diujikan, media tanah, dan media campuran akar pakis + serutan kayu + kompos terlihat memberikan hasil yang paling baik. Sebaliknya media abu sekam padi, media akar pakis, dan media campuran serutan kayu dan akar pakis adalah yang paling sedikit menghasilkan pembentukan sporofit muda *M. pteropus*. Rendahnya sporofit muda yang berkembang pada media akar pakis, media abu sekam padi, dan media campuran serutan kayu dan akar pakis diduga karena media ini kurang baik dalam menyediakan air dan nutrisi bagi sporofit muda. Hal ini terlihat pada permukaan dari ketiga media ini yang terlihat lebih kering dibandingkan media lain. Sebaliknya tingginya sporofit yang berkembang pada media tanah dan media campuran akar pakis + serutan kayu + kompos diduga karena media ini lebih baik dalam menyediakan air untuk menjaga kelembaban kantong spora dan menyediakan nutrisi bagi sporofit muda untuk berkembang. Lebih baiknya perkembangan sporofit pada media tanah diduga karena tanah merupakan habitat asli di mana tanaman ini biasa tumbuh. Menurut Lansdown (2011), bahwa habitat alami tanaman *M. pteropus* yaitu gundukan tanah di pinggir sungai kecil atau di batuan basah yang tergenang air atau terkena percikan air yang terlindung dari sinar matahari langsung. Hasil ini sesuai dengan Hua *et al.* (2010) yang melaporkan bahwa media tanah dan pasir baik dalam sporofit pakis karena dapat menyediakan air untuk pembentukan sporofit untuk tumbuh. Sementara tingginya presentase sporofit muda pada media campuran akar pakis + serutan kayu + kompos diduga karena media ini memiliki

kemampuan yang baik dalam menyediakan air dan nutrisi bagi sporofit di samping *drainase* yang baik. Nampaknya tanaman *M. pteropus* seperti tanaman pakis pada umumnya menyukai kelembaban udara yang tinggi (Thomas & Garber, 2009) di mana kelembaban merupakan salah satu faktor penting untuk perkembangan sporofit (Mikula *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Media terbaik untuk perbanyak *M. pteropus* melalui kultur kantong spora adalah media tanah, dan media campuran akar pakis + serutan kayu + kompos. Sebaliknya media akar pakis, media arang sekam padi dan media campuran serutan kayu + akar pakis kurang baik untuk mengembangkan sporofit dari kantong spora. Melalui kultur kantong spora, sporofit muda *M. pteropus* mulai berkembang setelah satu bulan pemeliharaan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Para penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Nian untuk membantu selama pelaksanaan penelitian. Penelitian ini dibiayai oleh APBN.

DAFTAR ACUAN

- Camloh, M. (1999). Spore age and sterilization affects germination and early gametophyte development of *Platyserium bifurcatum*. *Am. Fern. J.*, 89, 124-132.
- Cody, M.L. (2006). *Plants on islands: Diversity and dynamics on a continental archipelago*. California: University of California Press, 259 pp.
- Djorongaa, M.I., Pandiangan, D., Kandoua, F.E.F., & Tangapoa, A.M. (2014). Penapisan alkaloid pada tumbuhan paku dari Halmahera Utara. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 3(2), 102-107.
- Dyer, A.F. (1979). The culture of fern gametophytes for experimental investigation. In Dyer, A.F. (Ed.). *The experimental biology of ferns*. London: Academic Press.
- Fernández, H., Bertrand, A.M., & Sánchez-Tamés, R. (1997). Gemmation in *Osmunda regalis* L. gametophyte cultured *in vitro*. *Plant Cell Rep.*, 16, 358-362.
- Fernández, H., Kumar, A., & Revilla, M.A. (2011). Working with ferns. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer.
- Goller & Rybczyński. (2007). Gametophyte and sporophyte of tree ferns *in vitro* culture. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 76(3), 193-199.
- Higuchi, H., Amaki, W., & Suzuki, S. (1987). *In vitro* propagation of *Nephrolepis cordifolia*. *Prsel. Sci. Hort.*, 32, 105-113.

- Hua, W., Qun, L.X., Hua, J., & Qing, C.L. (2010). Effects of light, macronutrients, and sucrose on germination and development of the endangered fern *Adiantum reniforme* var. *sinense* (Adiantaceae). *Scientia Horticulturae*, 125, 417-421.
- Johnburom, A., Thenahom, A.A., & Jaruwattanaphan, T. (2016). A survey of pteridophytes use for aquatic ornamental plants in Thailand. *Songklanakarin Journal of Plant Science*, 3(11), M01/1-9.
- Khoo, S.I. & Thomas, M.B. (1980). Studies on the germination of fern spores. *Plant Propagator*, 26(2), 11-15.
- Kowalski, E. (2004). Husbandry and breeding of the narrow-striped dwarf siren (*Pseudobranchius axanthus*). *Caudata. Org. Magazine*, Issue 1, Autumn 2004.
- Lansdown, R.V. (2011). *Microsorium pteropus*. The IUCN Red List of Threatened species 2011: e.T199682A9116734. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T199682A9116734.en>.
- Lan, X.Y., Yang, B., Yan, Y.Y., Li, X.Y., & Xu, F.L. (2018). Resistance mechanisms and their difference between the root and leaf of *Microsorium pteropus*: A novel potential aquatic cadmium hyperaccumulator. *Science of the Total Environment*, 616-617, 480-490.
- Linda, R. (2007). Pengaruh cahaya terhadap perkembangan tumbuhan. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Luna, M.L., Yañez, A., Giacosa, J.P R., Gorrer, D., Berrueta, P.C., & Gabriela, E. (2016). *In vitro* spore culture and reproductive aspects of the annual fern *Anogramma chaerophylla* (Pteridaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51(4), 675-682.
- MikuLa, A., Tomiczak, K., Makowski, D., Niedzielski, M., & Rybczyński, J.J. (2015). The effect of moisture content and temperature on spore aging in *Osmunda regalis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 229.
- Mohr, H. (1963). The influence of visible radiation on the germination of archegoniate spores and the growth of the fern protonema. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 58, 287-296.
- Nath, K., Bhattacharya, M.K., & Kar, S. (2016). Antibacterial activity of rhizome extracts of four pteridophytes from Southern Assam, North East India. *Asian Journal of Phytomedicine and Clinical Research*, 4(1), 1-5.
- Pe´rez-Garcý´a, B., Mendoza-Ruiza, A., Sa´nchez-Coronado, M.E., & Orozco-Segovia, A. (2007). Effect of light and temperature on germination of spores of four tropical fern species. *Acta oecologica*, 32, 172-179.
- Pradissan, R., Pongchawee, K., & Pipatcharoenchai, W. (2010). *In vitro* multiplication of *Microsorium pteropus* (Blume) Ching, 1933. Inland Fisheries Research and Development Bureau. Department of Fisheries. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Thailand. *Technical Paper No. 27/2010*.
- Simbala, H.E.I. (2008). Analisis senyawa alkaloid beberapa jenis tumbuhan obat sebagai bahan aktif fitofarmaka. *Jurnal Pacific*, 1(1), 489-494.
- Thomas, P.A. & Garber, M.P. (2009). Growing ferns, Bulletin 737, Learning for Live. The University of Georgia and Ft. Valley State University, The United State. Department of Agriculture and counties of the state cooperating. p. 1-14.
- USDA. (2013). Weed risk assessment for *Leptochilus pteropus* (Blume) Fraser-Jenk. (Polypodiaceae)-Java fern. http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/weeds/downloads/wra/Leptochilus_pteropus_WRA.pdf.
- Wada, M. (2007). The fern as a model system to study photomorphogenesis. *Journal of Plant Research*, 120, 3-16.
- Whittier, P. (1990). Factors affecting the viability of *Psilotum* spores. *American Fern Journal*, 80(3), 90-96.
- Willyams, D. & Daws, M.I. (2014). Mass propagation of austral bracken fern (*Pteridium esculentum*) sporophytes from *in vitro* gametophyte cultures. *South African Journal*.