

# ITTO CITES PHASE — II

## Kegiatan 2.1.

Pengambilan sumber genetik alam jenis ramin di  
Sumatra dan Kalimantan, pengembangan stek pucuk dan kultur jaringan  
(Activity 2.1:

Collection of wild genetic resources of ramin from  
Sumatra and Kalimantan

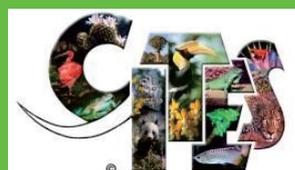
(includes the production of rooted cuttings for Sumatra and Kalimantan)

# TECHNICAL REPORT



Ministry of Environment and Forestry  
Agency for Research, Development and Innovation  
Center for Biotechnology and Tree Improvement Research and Development  
in cooperation with  
International Tropical Timber Organization  
(ITTO) - CITES Phase II Project

Indonesia  
March - 2016





# ITTO-CITES Phase II

## LAPORAN TEKNIS (Technical Report)

### **Kegiatan 2.1. Pengambilan sumber genetik alam jenis ramin di Sumatra dan Kalimantan, pengembangan stek pucuk dan kultur jaringan**

**(Activity 2.1: Collection of wild genetic resources of ramin from Sumatra and  
Kalimantan (includes the production of rooted cuttings for Sumatra and  
Kalimantan)**

**Ir. Tajudin Edy Komar, MSc  
Dra. Yelnititis, MSi**

**ITTO-CITES Project (Phase II-CFBTIR)  
“Ensuring Genetic Diversity of Ramin Seed Source and Ramin  
Population from Rooted Cuttings”**



This work was made possible by a grant from ITTO under its collaborative program with CITES “Support to ITTO CITES Implementation for Tree Species and Trade/Market Transparency (TMT). Donors to this collaboratives program include the EU(primary donor), the USA, Germany, the Netherlands and Norway.The Activity was implemented by Center for Forest Biotechnology and Tree Improvement Research and Development with Center for Forest Research and Development as Collaborating Agency.

---

**Yogyakarta, 2016**



## SUMMARY

This activity is originally aimed to enrich wild genetic resources of ramin in the previously established ramin conservation garden, beside the continued development of propagation technique using *in vitro* propagation (somatic embryogenesis). However, due to the long and complicated administrative procedures, introduced by the Executing Agency, most steps in the activity did not well performed and caused significant delay. In addition, the severe fires in Peat swamp forests, from which the wild genetic resources to be collected have also caused significant delay from the schedule for field collection and most of potential locations for the sources of materials were hit by the forest fire. However, some wildlings (genetic materials) have been able to be collected, especially from Central Kalimantan, which is District of Kapuas. Non-wildlings (genetic materials) was able to be collected, due to severe fires occurs in that year. A number of wildlings which were collected in the Central Kalimantan were pooled in the previously established conservation garden in Tumbang Nusa Research Forest. The survival rate and the growth were recorded as in addition to the regular maintenance to ensure the collected materials are growing. A number of steps in the development of somatic embryogenesis have also been carried out in the biotechnology tissue culture laboratory, Centre for Forest Biotechnology and Tree Improvement Research and Development (CFBTIR) in Yogyakarta. The trial of the somatic embryogenesis has revealed the callus formation.



## KATA PENGANTAR

Pengelolaan secara lestari jenis ramin (*Gonytylus bancanus* (Miq) Kurz.) serta upaya konservasinya merupakan komitmen pemerintah sejak tahun 2001. Komitmen tersebut ditunjukkan dengan dikeluarkannya kebijakan penghentian sementara (moratorium) kegiatan pemanenan ramin di seluruh Indonesia serta memasukkan semua jenis ramin ke dalam Appendix CITES pada tahun yang sama.

Kedua kebijakan di atas di maksudkan antara lain untuk menghentikan dan memberantas kegiatan illegal yang bersangkutan dengan ramin serta habitatnya, baik penebangan, pencurian dan konversi habitat ke penggunaan lainnya. Disamping itu, kebijakan ini juga dimaksudkan memberi ruang dan waktu bagi populasi ramin dan habitat untuk pulih (recovery) secara alamiah. Namun demikian, upaya yang telah dilakukan belum cukup untuk mencapai tujuan tersebut, sehingga berbagai bentuk intervensi manusia sangat diperlukan. Beberapa diantaranya adalah dengan membangun kebun konservasi untuk mempertahankan keragaman genetik dari sumberdaya genetik yang ada dan mendorong perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan sebagai alternatif sumber bahan untuk kegiatan penanaman ramin di Indonesia. Perjuangan untuk mencapai kelestarian ramin masih panjang, namun dengan adanya dukungan secara konsisten dari berbagai pihak maka tujuan tersebut akan dapat dicapai di masa yang akan datang.

Penyusun



## DAFTAR ISI

**KATA PENGANTAR**

i

**DAFTAR ISI**

**SUMMARY**

### **I. PENDAHULUAN**

- a. Latar Belakang
- b. Tujuan

### **II. METODOLOGI**

- 1.1. Eksplorasi, Pengambilan Anakan Alam dan Pemeliharaan Kebun Konservasi
- 1.2. Pengembangan Kultur Jaringan

### **III. HASIL KEGIATAN DAN PEMBAHASAN**

- 3.1. Hasil eksplorasi, Pengambilan dan Pemeliharaan
- 3.2. Pengembangan kultur jaringan
  - 3.2.1. Embriogenesis somatik langsung.
  - 3.2.2. Embriogenesis somatik tidak langsung.
    - 3.2.2.a. Induksi kalus embriogenik.
    - 3.2.2.b. Pembentukan embrio somatik.

### **IV. KESIMPULAN DAN SARAN**

- Kesimpulan
- Saran

**DAFTAR PUSTAKA**



## I. PENDAHULUAN

### a. Latar Belakang

Ramin, dari jenis *Gonystylus* spp, merupakan salah satu jenis pohon yang tumbuh di Hutan Rawa Gambut (HRG) di Indonesia yang saat ini sedang menghadapi berbagai tantangan. Populasi di alam sudah menurun sangat tajam, regenerasi berjalan sangat lambat, illegal logging terus berlangsung dan konversi habitat alamnya terus terjadi. Keterancamannya jenis ini di alam telah mendorong berbagai pihak terutama negara pengimpor untuk memasukkan jenis ini ke dalam mekanisme perdagangan CITES, Pada tahun 2001 semua jenis *Gonystylus* masuk ke dalam Appendix III dan pada tahun 2004, masuk ke dalam Appendix II dan mulai berlaku pada tahun 2005. Pada tahun 2001, Pemerintah Indonesia juga telah mengeluarkan kebijakan moratorium penebangan ramin di seluruh Indonesia kecuali satu perusahaan yang telah mendapat sertifikat kelestarian pengelolaan hutan, yaitu PT Diamond Raya Timber, di provinsi Riau.

Dengan semakin menurunnya populasi ramin, konservasi sumberdaya genetik semakin penting. Salah satu cara adalah dengan membangun kebun konservasi baik di dalam habitat alamnya maupun di luar habitat alamnya. Beberapa kegiatan pembangunan kebun konservasi tersebut telah dilakukan. Pengumpulan materi genetik terus dilakukan dari berbagai sumber untuk memastikan koleksi genetik telah mewakili keberadaan sumber daya genetik yang ada di alam.

Sampai tahun 2015, tiga kebun konservasi ramin dan satu kebun pangkas ramin telah dibangun, yaitu di KHDTK Lubuk Sakat, Kabupaten Kampar (Riau), di Kedaton, Ogan Komering Ilir (Sumatra Selatan), di KHDTK Tumbangnusa (Kalimantan Tengah) dan satu Kebun Pangkas berlokasi di Sukomoro (Palembang). Jumlah individu ramin yang berasal dari anakan alam yang telah ditanam di lokasi kebun konservasi ini adalah sebagai berikut,

KHDTK Lubuk Sakat sebanyak lebih dari 5000 anakan, Kedaton, Ogan Komering Ilir sebanyak lebih dari 4000 anakan yang dibuat dari stek pucuk dan anakan, Kebun Pangkas Sukomoro sebanyak 1300 individu ramin dari stek pucuk dan KHDTK Tumbangnusa sekitar 14000 anakan alam, belum termasuk anakan yang digunakan untuk penyulaman. Berdasarkan evaluasi terakhir pada 2014-2015 jumlah anakan yang masih bertahan hidup berkisar 10-50%. Kurangnya pemeliharaan dan gangguan keamanan seperti kebakaran merupakan penyebab rendahnya persentase hidup anakan ramin di dalam kebun konservasi tersebut. Kegiatan pengumpulan anakan alam dalam kegiatan ini juga dimaksudkan untuk penyulaman dan penambahan koleksi genetik ramin.

Untuk menunjang kegiatan penanaman kembali ramin, khususnya pengadaan bahan tanaman, maka berbagai kegiatan menggunakan teknik kultur jaringan (embriogenesis somatik) juga terus dilakukan. Hal ini merupakan alternatif penyediaan bahan tanaman ramin sebagai akibat semakin menurunnya sumber benih yang ada di hutan alam.

b. Tujuan

Kegiatan ini bertujuan untuk melestarikan sumber daya genetik ramin dengan membangun dan menambah koleksi pada kebun konservasi yang ada serta menambah tingkat keragaman genetik ramin, secara terus menerus mengembangkan teknik perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan.

Teknik kultur jaringan (embriogenesis somatik) juga terus dikembangkan sebagai alternatif sumber bahan tanaman ramin. Bahan tanaman ramin sampai saat ini masih terbatas pada benih dan biji yang produksinya tidak teratur dan semakin hari semakin menurun dengan makin berkurangnya pohon induk ramin.

## II. METODOLOGI

### 1.1. Eksplorasi, Pengambilan Anakan Alam dan Pemeliharaan Kebun Konservasi

Berbagai lokasi pengambilan anakan alam sudah diidentifikasi sebelumnya, yaitu sumber-sumber benih ramin baik di Sumatra maupun di Kalimantan. Namun pelaksanaan pengambilan anakan alam terhambat oleh bencana alam, kebakaran hutan rawa gambut yang pada tahun ini (2015) diperkirakan merupakan salah satu kebakaran hutan rawa gambut terbesar setelah tahun 1997/1998. Di samping itu, adanya keterlambatan dalam administrasi, penunjukan pelaksana kegiatan dan pencairan dana yang tertunda hingga pertengahan tahun (sekitar Juni-Juli), di mana pada bulan Juni dan Juli merupakan awal terjadinya kebakaran hutan rawa gambut yang hampir merata di seluruh Sumatra dan Kalimantan, yang merupakan sumber bibit dan anakan alam ramin di Indonesia.

Setelah menjelang akhir tahun, kebakaran telah mereda dan beberapa lokasi sudah dapat dijangkau untuk pengambilan bahan anakan alam, baik untuk menuju lokasi maupun perjalanan pelaksana kegiatan menuju lokasi terdekat.

Beberapa lokasi pengambilan anakan yang berhasil dikunjungi adalah Kalimantan Tengah, yaitu 4 lokasi pengambilan di Kabupaten Kapuas, 1 lokasi di Kabupaten Pulang Pisau). Anakan alam yang diperoleh, kemudian ditanam dan diperlihara di KHDTK Tumbangnusa, Kalimantan Tengah. Pemeliharaan dan pengamatan pertumbuhan selanjutnya dilakukan di KDTK Tumbangnusa. Pemeliharaan tanaman juga dilakukan di kebun konservasi Kedaton, Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan dan Kebun Pangkas di Sukomoro, Palembang, Sumatera Selatan.

## 1.2. Pengembangan Kultur Jaringan

Tujuan utama pengembangan kultur jaringan ini adalah untuk mendapatkan perlakuan terbaik untuk mendapatkan kalus embriogenik dan embrio somatik melalui embriogenesis somatik langsung dan embriogenesis somatik tidak langsung.

Beberapa jenis bahan yang digunakan pada embriogenesis somatik langsung adalah eksplan potongan daun, media MS yang dimodifikasi, zat pengatur tumbuh auksin (tunggal). Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan kalus, baik tekstur maupun warna dan embrio somatik yang diperoleh.

Sedangkan untuk induksi embrio somatik tidak langsung, bahan yang diperlukan adalah eksplan potongan daun, media dasar MS yang dimodifikasi dan 2,4-D, thidiazuron, NAA. Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan kalus, tekstur dan warna kalus dan embrio somatik yang diperoleh.

### III. HASIL KEGIATAN DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Hasil eksplorasi, Pengambilan dan Pemeliharaan

Beberapa kegiatan eksplorasi yang dilakukan di Kabupaten Pulang Pisau, sebanyak 12 anakan dikumpulkan dari Nyaru Menteng dengan ukuran anakan sekitar 1-2 meter. Sedangkan di Kabupaten Kapuas diperoleh anakan alam ramin sebanyak 122 anakan dari desa Lahei, 71 anakan dari Tepian Humbang I, 19 anakan dari Tepian Humbang II, dan sebanyak 31 anakan diperoleh dari Petuk Liti. Semua anakan ini dikumpulkan dan dipelihara di KHDTK Tumbang Nusa, Kalimantan Tengah.

Berdasarkan hasil pengamatan sementara terhadap persentase tumbuh anakan ramin yang diambil dari beberapa lokasi, maka diperoleh data pertumbuhan sebagai berikut, yaitu persentase tumbuh anakan yang berasal dari Lahei sebesar 87 %, Tepian Humbang 1 sebesar 28 %, Tepian Humbang 2 sebesar 21 % dan dari Petuk Liti sebesar 45 %.

Sedangkan pertumbuhan individu ramin di kebun konservasi Kedaton dan Kebun Pangkas Sukomoro tidak dilakukan pengukuran. Namun dari kunjungan ke lokasi dapat disimpulkan bahwa secara umum keadaan kebun konservasi di Kedaton dan kebun pangkas ramin di Sukomoro relatif terkelola relatif baik (Gambar 2). Pemeliharaan Kebun Pangkas ramin di Sukomoro pernah mengalami kekeringan selama beberapa bulan akibat tidak tersedianya anggaran pengelolaan yang merupakan tanggungjawab BPTH Palembang, sebagai mitra kerja.



Gambar 1. a-c. Kegiatan eksplorasi, d-e. anakan ramin hasil eksplorasi, f-h. kegiatan penanaman anakan dan i-k. anakan ramin umur 6 bulan setelah ditanam



Gambar 2. a. Kebun Konservasi ramin di Kedaton, Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan dan b. Kebun Pangkas Ramin di Sukomoro, Palembang, Sumatera selatan

### 3.2. Pengembangan kultur jaringan

Pengembangan teknik embriogenesis somatik langsung dan tidak langsung dari eksplan daun ramin (*Gonystilus bancanus* (Miq.) Kurz) yang telah dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi Yogyakarta menunjukkan hasil sementara sebagai berikut:

#### 3.2.1. Embriogenesis somatik langsung.

Untuk induksi embrio somatik langsung menunjukkan perkembangan sebagai berikut, yaitu pembentukan embrio somatik terjadi setelah 6 bulan dikulturkan di dalam zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi relatif tinggi. Umumnya embrio somatik yang dihasilkan baru pada tahap globular sampai umur 8 bulan (Gambar 3a-d).



Gambar 3. a-d. Perkembangan eksplan menjadi embrio somatik

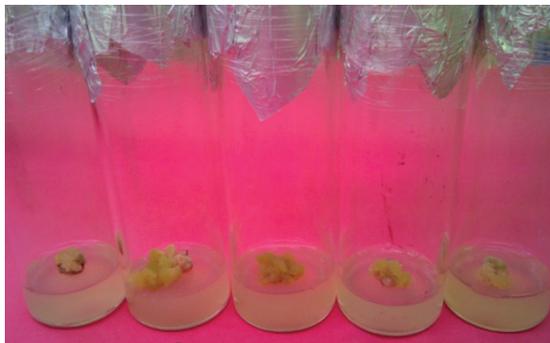
Embrio somatik yang terbentuk dapat dilihat dan dibedakan dengan jelas diantara kalus kompak yang tumbuh tanpa menggunakan mikroskop. Embrio somatik mempunyai permukaan yang lebih halus dan warna yang berbeda dengan kalus yang ada disekitarnya. Pada Gambar 3b dapat dilihat embrio somatik dengan jelas yang berwarna kuning kehijauan dan pada Gambar 3c embrio somatik terlihat berwarna hijau. Hal ini disebabkan karena jenis auksin yang digunakan juga berbeda. Kebanyakan embrio somatik yang dihasilkan berbentuk bulat atau globular (Gambar 3d) dan beberapa diantaranya berkembang membentuk tahapan berikutnya yaitu fase hati dan fase torpedo awal. Pada fase torpedo awal bakal kotiledonnya masih pendek. Sedangkan pada fase hati hanya dapat dilihat dengan jelas dengan menggunakan mikroskop.

### 3.2.2. Embriogenesis somatik tidak langsung.

Untuk embriogenesis somatik tidak langsung menunjukkan bahwa embrio somatik terbentuk melalui pembentukan kalus seperti terlihat pada Gambar 4 sampai Gambar 7. Menurut Sharp *et al.* (1990) dalam Figueroa *et al.* (2002), embriogenesis somatik tidak langsung adalah eksplan yang mengalami proliferasi sebelum perkembangan embrio somatik. Pada penelitian ini embriogenesis somatik tidak langsung dilakukan melalui dua tahap kegiatan yaitu :

### 3.2.2.a. Induksi kalus embriogenik.

Induksi kalus embriogenik dilakukan dengan menggunakan kalus friable. Kalus friable diperoleh dengan melakukan subkultur kalus kompak secara berulang pada kombinasi perlakuan dua jenis auksin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus friabel dihasilkan setelah dilakukan 3 kali subkultur dengan interval waktu selama 5 minggu pada perlakuan yang sama, berwarna hijau kekuningan sampai kuning muda dan antara satu sel dengan sel yang lain sangat mudah dipisahkan (Gambar 4).



**Gambar 4. Kalus friable dari beberapa perlakuan.**

Kalus friable yang diperoleh dikulturkan pada perlakuan thidiazuron 0.1 mg/l merupakan perlakuan terbaik untuk induksi kalus embriogenik. Dari pengamatan yang dilakukan, kalus friabel mengalami pertumbuhan dengan warna yang berbeda yaitu berwarna putih, putih kehijauan dan hijau muda (Gambar 5b). Sedangkan kalus yang terdapat pada bagian bawah berubah menjadi coklat dan mati.



Gambar 5. a-b. Perkembangan kalus kompak menjadi kalus friable,

Kalus yang berwarna putih secara visual terlihat sangat berbeda dibandingkan dengan kalus yang berwarna putih kehijauan dan hijau muda. Kalus tersebut lebih friable dan kering dibandingkan dengan yang lainnya. Subkultur kalus yang berwarna putih pada perlakuan yang sama sebanyak 3 kali dengan interval 5 minggu pada perlakuan yang sama menghasilkan kalus embriogenik. Berbeda dari penelitian Ermayanti dan Rantau (2009) menunjukkan bahwa kalus embriogenik dihasilkan dalam waktu 4 – 6 minggu.



Gambar 6. a-c. Perkembangan kalus friable menjadi kalus embriogenik

Kalus embriogenik yang dihasilkan berwarna putih susu, kering dengan tekstur friable (Gambar 6b-c). Menurut Gandonou *et al.* (2005) kalus embriogenik dicirikan dengan tekstur friable, kering dan berwarna putih susu atau putih kekuningan.

### 3.2.2.b. Pembentukan embrio somatik.

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses pembentukan embrio melalui perubahan morfologi dan biokimia yang dapat merangsang terbentuknya embrio somatik. Menurut Gernakaneh *et al.*, (2009), embrio somatik memainkan peranan penting dalam perbanyakan klonal. Secara umum pada media kultur jaringan digunakan sukrosa sebagai sumber karbon dan sumber energi dan juga mengatur osmolalitas medium.



Gambar 7. Perkembangan kalus embriogenik menjadi embrio somatik

Penggunaan jenis karbohidrat dan konsentrasinya memainkan peranan penting dalam beberapa tahap pada proses embriogenesis somatik. Al-Khateeb (2008) menyatakan bahwa komponen penting lain dalam media kultur jaringan adalah sumber karbon dan sumber energi pada tanaman khususnya disaat tanaman belum siap/ belum dapat melakukan fotosintesa pada fase awal kultur jaringan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan sukrosa dapat merangsang kalus embriogenik berkembang membentuk embrio somatik (Gambar 7). Semakin tinggi sukrosa yang digunakan diiringi dengan semakin banyaknya embrio somatik yang dihasilkan dan embrio yang dihasilkan berwarna lebih hijau (Gambar 7 b–c). Menurut Slesak dan Przywara (2003), pada beberapa spesies perkembangan embrio dapat diatur dengan mengubah kandungan gula pada media tumbuh yang digunakan.

Pada penelitian ini, embrio somatik tahap globular yang dihasilkan hanya dapat dilihat secara visual pada bagian permukaan (Gambar 7b). Selain itu jumlah embrio somatik yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan dengan embrio somatik yang diperoleh melalui embriogenesis somatik langsung. Hal ini disebabkan karena masing-masing sel kalus embriogenik dapat berkembang menjadi embrio somatik.

#### **IV. KESIMPULAN DAN SARAN**

Kesimpulan.

Dari beberapa hasil diatas beberapa hal dapat disimpulkan bahwa,

1. Sumberdaya genetik ramin dalam bentuk anakan alam (wildlings) masih dapat dikumpulkan dari beberapa lokasi di Kalimantan, meski dengan hasil yang relatif terbatas. Kendala utama dalam pengumpulan sumberdaya genetik ramin adalah penetapan waktu pengampilan, yaitu pada saat muka air di lokasi pengambilan (hutan rawa gambut) masih relatif tinggi. Pada kondisi ini aksesibilitas lokasi masih relatif baik. Pada saat muka air rendah maka aksesibilitas ke lokasi menjadi lebih sulit dan adanya ancaman kebakaran atau asap seperti yang terjadi pada tahun 2015. Oleh perencanaan harus dibuat sedemikian rupa dan hambatan administrasi dan birokrasi yang rumit dan panjang harus dihilangkan.
2. Pertumbuhan anakan yang dikumpulkan dari lapangan relatif baik sehingga diharapkan dapat memperkaya keragaman genetik di dalam kebun konservasi ramin yang sedang dibangun.
3. Potensi pengembangan teknik perbanyakan ramin melalui teknik in vitro propagation masih ada dan masih dapat diharapkan untuk terus

dikembangkan di masa yang akan datang. Hasil penelitian di atas menunjukkan hal tersebut.

4. Embriogenesis somatik langsung dapat terbentuk dari perlakuan dicamba dan picloram pada konsentrasi yang relative tinggi. Sedangkan embrio somatik tidak langsung dapat diinduksi dari kombinasi dua atau lebih zat pengatur tumbuh dengan kandungan sukrosa relatif tinggi.

#### Saran

Dari beberapa hasil di atas, maka disarankan agar pengumpulan materi genetik ramin secara terus menerus dilakukan sampai materi genetik ramin yang telah terkumpul dapat mencerminkan keterwakilan sumber genetik di alam. Hal yang sama juga disarankan pengembangan kultur jaringan terus dilakukan terutama untuk produksi bahan tanaman ramin sebagai pengganti anakan dari biji yang semakin hari semakin berkurang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albarra'n, J.; B. Bertrand; M. Lartaud & H. Etienne (2005). Cycle characteristics in a temporary immersion bioreactor affect regeneration, morphology, water and mineral status of coffee (*Coffea arabica*) somatic embryos. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 81, 27–36.
- Al-Khateeb, A.A. 2008. Regulation of in vitro bud formation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Khanezi by different carbon sources. *Bioresource Technol* 99(14) : 6550 – 6555.**
- Aman, N. dan H. Afrasiab. 2014. Primary dan secondary somatic embryogenesis from leaf explants of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L. – Lamiaceae). *Pak. J. Bot.*, 46(3) : 903 – 909.
- Bastoni. 2005. Kajian ekologi dan silvikultur ramin di Sumatera Selatan dan Jambi. Prosiding Semiloka Nasional Konservasi dan pembangunan hutan ramin di Indonesia.. Bogor, 28 September 2008.
- Biahoua, A. dan L. Bonneau. 1999. Control of *in vitro* somatic embryogenesis of the spindle tree (*Euonymus europaeus* L.) by the sugar type and the osmotic potential of the culture medium. *Plant Cell Report* 19 : 185 – 190.
- Ermayanti, T.M dan D.E. Rantau. 2009. Establishment of somatic embryogenesis of some mango cultivars (*Mangifera indica* L.) grown in Indonesia. *Journal of Biotech. Res. in Trop. Region* 2(2) : 1 – 5.**
- Etienne, H; B. Bertrand. 2003. Somaclonal variation of *Coffea Arabica*: effects of genotype and embryogenic cell suspension age on frequency and phenotype of variants. *Tree Physiol.* 23 : 419 – 426.
- Figuroa, F.R.Q; C.F.J. F. Cerda; R.R. Herrera dan V.M.L. Vargas. 2002. Histological studies on the developmental stages and differentiation of two different somatic embryogenesis systems of *Coffea Arabica*. *Plant Cell Rep.* 20 : 1141 – 1149.**
- Gandonou, CH; T. Errabii; J. Abrinii; M. Idaomari; F. Chibi dan N.S. Senhaji. 2005. Effect of genotype on callus induction and plant regeneration from leaf explants of sugarcane (*Saccharum* sp.). *African J. Biotechnol.* 4(11) : 1250 -1255.**
- Gatica, A.M; G. Arrieta; A.M. Espinoza. 2007. Comparison of three in vitro protocols for direct somatic embryogenesis and plant regeneration of *Coffea arabica* L. cvs Cattura and Catuai. *Agronomia Costarricense* 31 : 85 – 94.

- Gernakaneh, M; A.A. Mozafari; A. Khalighi dan A. Sioseh-Mardah. The effect of carbohydrate source and concentration on somatic embryogenesis of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Amer-Eurasian J. Agric. Sci.* 6(1) : 76 – 80.**
- Litz, R.E and D.J. Gray. (1995). Somatic embryogenesis for agriculture improvement. *World Jour. Microbiol. And Biotech* 11 : 416 – 425.
- Molina, D.M., M.E. Aponte, H. Cortina and German Moreno. 2002. The effect of genotype and explant age on somatic embryogenesis of Coffee. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 71 : 117 – 125.
- Nugent, G.; S.F. Chandler, P. Whiteman and T.W. Stevenson. 2001. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus globules*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 67 : 85 – 88.
- Sagare, A.P., K. Suhasini and K.V. Krishnamurthy. 1993. Plant regeneration via somatic embryogenesis in chick pea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Cell Reports* 12 : 652 – 655.
- Sidha, M.; P. Suprasanna; V.A. Bapat; U.G. Kulkarni dan .B.N. Shinde. 2007. Developing somatic embryogenic culture system and plant regeneration in banana. *Barc. News Letter* 285 : 153 – 161.
- Slesak, H. dan L. Przywara. 2003. The effect of carbohydrate source on the development of *Brassica napus* L. immature embryo in vitro. *Acta Biologica Cracoviensia series Botanica* 45(2) : 183 - 190.**
- Stella, A. and M.R. Braga. 2002. Callus and suspension cultures of *Rudgea jasminoides*, a tropical woody Rubiaceae. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 68 : 271 -278.
- Sudarmonowati, E. dan G.G. Henshaw. 1996. The use of picloram and dicamba to induce somatic embryogenesis in cassava. *Annales Bogoriensis* 4(1) : 27 – 34.
- Sujatha, M. and A.J. Prabakaran. 2001. High frequency embryogenesis in immature zygotic embryos of *sunflower*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 65 : 23 – 29.
- Widoretno, W.; C. Martasari dan F.D. Nirmala. 2013. Pengaruh sukrosa dan fotoperiode terhadap embriogenesis somatik jeruk keprok batu 55 (*Citrus reticulata* Blanco.). *J. Hort. Indonesia* 4(1) : 44 – 53.

- Widoretno, W; E.L. Arumningtyas dan Sudarsono. 2003. *In vitro* methods for inducing somatic embryos of soybean and plantlet regeneration. *Hayati* 10(1) : 19 – 24.
- Yelnititis. 2007. Induksi embrio somatik *Shorea pinanga* Sheff. dengan 2,4-D dan NAA. *Jurnal Penelitian Tanaman Hutan* 4 (1) : 235 – 243.
- Yelnititis dan T.E. Komar. 2008. Perbanyak vegetatif ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) secara *in vitro*. Laporan Hasil penelitian. 24 hal.
- Yelnititis. 2012. Pembentukan kalus remah dari eksplan daun ramin (*Gonystylus bancanus* (Miq) Kurz.). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 6(3) : 181 – 194.
- Zuyasna dan S. Hafisah. 2013. Induksi embrio somatik dari tanaman kakao adaptive Aceh menggunakan eksplan bunga serta zat pengatur tumbuh picloram. *Jurnal Floratek* 8 : 1 – 9.



Agency for Research, Development and Innovation  
 Center for Biotechnology and Tree Improvement  
 Research and Development  
 Jalan Palagan Tentara Km. 15, Purwobinangun  
 Pakem, Sleman - Yogyakarta  
 Phone. + 62 – 274 – 895954  
 Fax: + 62 – 274 - 896080  
 Email: [ramgaryogya@gmail.com](mailto:ramgaryogya@gmail.com)

