

PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH PADA INDUKSI KALUS EMBRIOGENIK KLON CENDANA (*Santalum album* Linn.)

*Effects of type and concentration of plant growth regulator
on embryogenic callus induction of sandalwood (*Santalum album* Linn.) clone*

Toni Herawan¹, Mohammad Na'iem², Sapto Indrioko², Ari Indrianto³,
Liliek Haryjanto⁴, dan Titis Budi Widowati⁴

¹Program Doktorat Ilmu Kehutanan, Fakultas Kehutanan, Universitas Gadjah Mada
Jl. Agro No.1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta, Indonesia
email: t_herawan64@yahoo.com

²Fakultas Kehutanan, Universitas Gadjah Mada
Jl. Agro No.1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

³Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Sinduadi, Mlati, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

⁴Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km.15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

Tanggal diterima: 20 Januari 2017, Tanggal direvisi: 2 Februari 2017, Disetujui terbit: 28 Desember 2017

ABSTRACT

Santalum album Linn.) is a tree which has a high rate of natural sprouting ability. Eventhough the propagation by the conventional techniques (shoot and root cuttings) and by the tissue culture have been reported, the percentage of plants regeneration is still low. The propagation using somatic embryogenesis was reported as better result than using shoots multiplication technique or organogenesis. The objective of this research is to examine the effect of clones, type and concentration of plant growth regulator on the development embryogenic callus of sandalwood. The three tested clones are C1, C2, and C3. The plant growth regulators are 2,4-D, Dicamba, and Picloram with the three level of concentrations: 1 mg/l, 3 mg/l, and 5 mg/l. The result of study showed that the clone of C3 performed best on embryogenic callus development. It was observed through morphological analysis that 58.12% of explants performed embryogenic callus with friable texture and white, yellowish in colours. However, there were not significant differences between the types of plant growth regulator, the level of concentrations and their interactions on embryogenic callus development of sandalwood.

Keywords: *explant, in vitro, somatic embryogenesis, plant propagation*

ABSTRAK

Cendana (*Santalum album* Linn.) adalah jenis tanaman yang memiliki pertunasan alami yang tinggi. Upaya perbanyak cendana secara konvensional (stek pucuk dan stek akar) dan kultur jaringan melalui kultur tunas aksiler telah lama dilakukan, tetapi persentasi regenerasi tanaman masih rendah. Pembiakan melalui teknik embriogenesis somatik dilaporkan memberikan hasil lebih baik bila dibandingkan dengan teknik perbanyak tunas atau organogenesis. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh klon cendana, jenis zat pengatur tumbuh (ZPT) dan tingkat konsentrasinya terhadap pembentukan kalus embriogenik. Tiga klon cendana yang diuji adalah: klon C1, C2, dan C3. Tiga jenis ZPT adalah: 2,4-D, Dicamba, dan Picloram, dengan tiga tingkat konsentrasi: 1 mg/l, 3 mg/l, dan 5 mg/l. Hasil studi menunjukkan bahwa klon C3 memberikan respon terbaik terhadap pembentukan kalus embriogenik cendana, dengan hasil analisis morfologi berupa 58,12% eksplan mampu membentuk kalus embriogenik dengan tekstur kalus friabel berwarna putih, kekuningan. Namun demikian jenis ZPT, konsentrasi ZPT dan interaksinya tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus embriogenik cendana.

Kata kunci: *eksplan, kultur jaringan, embriogenesis somatik, perbanyak tanaman*

I. PENDAHULUAN

Cendana (*Santalum album* Linn.) merupakan salah satu species dalam famili Santalaceae yang paling tinggi nilai kayu teras dan minyak esensialnya (Haryjanto, Widowati,

Fiani, & Hadiyan, 2017; Misra, Das, & Dey, 2013; Soeseno, 2001). Saat ini ketersediaan cendana sudah sangat sedikit karena pemanfaatannya yang cukup tinggi, sehingga upaya pengembangan/perbanyak tanaman cendana harus dilaksanakan. Upaya perbanyak

tanaman cendana melalui teknik vegetatif makro sudah banyak dilaporkan, namun teknik ini memiliki kelemahan, yakni tingkat keberhasilannya rendah dan membutuhkan waktu yang lama (Janarthanam & Sumathi, 2011). Salah satu alternatif teknik yang dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman cendana adalah kultur jaringan. Dengan teknik ini memperbanyak bibit unggul tanaman dapat dilakukan dalam waktu lebih singkat dan jumlah yang banyak dengan karakteristik yang identik.

Saat ini memperbanyak dengan teknik pembiakan tunas atau organogenesis telah banyak dan lazim dilakukan (Mujib, 2005), namun terdapat kelemahan dalam teknik memperbanyak melalui organogenesis karena kultur mata tunas membutuhkan waktu yang lama (Herawan, Na'iem, Indrioko, & Indrianto, 2015). Teknik lain melalui embriogenesis somatik merupakan metode yang tepat untuk memperbanyak klon unggul cendana. Salah satu ciri yang ditunjukkan oleh embriogenesis somatik adalah tahap perkembangannya menyerupai embrio zigotik, dimulai dari fase globular, fase hati, fase torpedo dan plantlet (Gaj, 2001).

Beberapa penelitian embriogenesis somatik terkait telah dilaporkan dengan menggunakan media MS (Murashige & Skoog, 1962) dan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) 2,4-D, antara lain: penelitian embriogenesis somatik eksplan bagian daun dari seedling cendana menggunakan media MS + 2,4-D dan *Thidiazuron* diperoleh persen induksi somatik embriogenesis mencapai 100% (Rugkhla & Jones, 1998) dengan eksplan yang sama menggunakan media MS + 2,4-D 13,50 μ M respon induksi kalus embriogenik mencapai 55 – 65% (Revathy & Arumugam, 2011), eksplan daun dari kecambah aseptik pada media MS + 1 mg/l 2,4-D dan 0,5 mg/l *Thidiazuron* menggunakan teknik embriogenesis somatik tidak langsung, hasil induksi kalusnya mencapai 54,23% (Bele, Tripathi, Tiwari, Baghel, & Tiwari, 2012). Berdasarkan data di atas masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam hal pengaruh sumber eksplan dan jenis ZPT serta

tingkat konsentrasi yang digunakan terhadap induksi kalus embriogenik cendana.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh klon cendana, jenis zat pengatur tumbuh, serta berbagai konsentrasi perlakuannya terhadap induksi kalus embriogenik. Penelitian ini menggunakan embriogenesis somatik secara tidak langsung, yaitu suatu proses saat sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio tanpa melalui fusi gamet.

II. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan mulai Juni 2015 sampai Agustus 2015 di laboratorium kultur jaringan BBPPBPTH (Balai Besar Penelitian Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan) Purwobinangun, Sleman, Yogyakarta.

B. Bahan dan alat

Eksplan yang digunakan berupa daun yang gugur hasil penelitian pengguguran daun menggunakan ZPT ABA (asam absisat) pada konsentrasi (0, 1, 3, dan 5) mg/l pada tahap multiplikasi cendana (Herawan, Na'iem, Indrioko, & Indrianto, 2014). Bahan biakan berasal dari pohon induk cendana umur 10 - 13 tahun yang berasal dari Kebun Konservasi Genetik di Watusipat, Playen, Gunungkidul. Bahan lain yang digunakan meliputi bahan kimia penyusun media MS (Murashige & Skoog, 1962), asam 2,4-dikloro poksiasetat (2,4-D), *Dicamba* dan *Picloram*, *naphtalene acetic acid* (NAA), sukrosa, dan agar.

Peralatan yang digunakan adalah *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, timbangan analitik, pH meter, *hot plate*, *microwave*, *blade*, *scalpel*, pinset, *beaker glass*, *erlenmeyer*, gelas ukur.

C. Metode penelitian

Penelitian menggunakan percobaan dengan perlakuan terdiri dari 3 faktor, yaitu klon,

jenis zat pengatur tumbuh dan konsentrasinya. Informasi sumber materi eksplan klon cendana yang diuji disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Informasi sumber materi eksplan tiga klon cendana yang diuji

No klon	Kode	Asal	Lokasi	Jumlah eksplan
C1	P.6.2	Pailelang, P. Alor, Nusa Tenggara Timur	Plot Konservasi Genetik Cendana tahun tanam 2012 di Watusipat, Gunungkidul.	45
C2	A.III.4.14	Seabela, P. Rote, Nusa Tenggara Timur.	Plot Konservasi Genetik Cendana tahun tanam 2015 di Watusipat, Gunungkidul.	45
C3	TA.12	Tegakan alam di Watusipat, Gunungkidul.	Plot Konservasi Genetik Cendana tahun tanam 2012 di Watusipat, Gunungkidul.	45
Jumlah				135

Jenis ZPT yang diuji meliputi *2,4-D*; *Dicamba* dan *Picloram*, dengan tiga tingkat konsentrasi: 1 mg/l, 3 mg/l dan 5 mg/l. Secara keseluruhan diperoleh 27 kombinasi perlakuan dengan masing-masing kombinasi perlakuan diulang 5 kali, sehingga total sampel yang diamati $27 \times 5 = 135$ sampel. Akan tetapi karena sampel dari klon C3 hanya tersedia 42 eksplan, sehingga jumlah total eksplan yang bisa diteliti hanya 132 sampel saja. Hasil pengamatan terhadap induksi kalus embriogenik selanjutnya dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

D. Prosuder kerja

1. Penyediaan eksplan

Tunas hasil perbanyakan *in vitro* dipisahkan/di sub kultur ke media dengan perlakuan ABA (1, 2, dan 3) mg/l, kemudian diinkubasi selama 4 - 6 minggu. Daun-daun yang gugur yang berwarna hijau gelap, tebal, dan sehat yang berukuran 0,5 - 1 cm² diambil sebagai sumber eksplan lalu diiris bagian pangkal, ujung dan kedua sisinya dan dilukai bagian tengahnya, selanjutnya diinduksi ke dalam media dengan perlakuan yang sudah ditetapkan.

2. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan

Media yang telah ditanami eksplan kemudian ditutup dengan aluminium foil dan direkatkan menggunakan plastik wrap kemudian diinkubasi pada suhu 22 – 26°C, kelembaban 60 – 70% dalam kondisi gelap selama 12 minggu. Pengamatan meliputi: (1) persentase kalus yang terbentuk, (2) struktur, dan (3) warna kalus.

E. Analisis data

Tahap induksi kalus dianalisis menggunakan analisis varians pada tingkat kepercayaan 95%, apabila ada perlakuan yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan dan perkembangan kalus embriogenik cendana maka dilanjutkan dengan DMRT dengan jenjang nyata 5%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data induksi kalus diperoleh hasil bahwa dari 132 eksplan yang diinkubasi, sebanyak 7 eksplan (5,30%) mengalami kontaminasi, dan sebanyak 125 eksplan (94,70%) memberi harapan untuk tumbuh dan berkembang. Eksplan yang digunakan berasal dari hasil perontokan daun yang diinkubasi di ruang terkendali dan steril. Dari data induksi

kalus embriogenik sampai dengan hari ke-25 diperoleh data menggulungnya daun sebanyak 3% dan pembengkakan daun mulai terjadi pada

hari ke-32 sebanyak 25%. Hasil induksi kalus embriogenik cendana disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil induksi kalus cendana pada media MS selama 12 minggu dalam kondisi gelap

Klon	ZPT	Konsentrasi (mg/l)	Kontaminasi	Mati	Tidak Berkalus	Berkalus		
						Friabel	Kompak	
C1	2,4-D	1	1	1	3	-	1	
		3	-	-	3	-	2	
		5	-	-	4	-	1	
	Dicamba	1	-	-	4	-	1	
		3	-	-	-	2	3	
		5	-	-	3	2	-	
	Picloram	1	1	1	4	-	-	
		3	-	-	5	-	-	
		5	1	1	4	-	-	
	Jumlah			3	3	30	4	8
	Persen (%)			6,67	6,67	66,67	9,40	17,78
	C2	2,4-D	1	-	-	2	3	-
3			-	-	4	1	-	
5			-	-	4	-	1	
Dicamba		1	-	-	2	1	2	
		3	-	-	5	-	-	
		5	1	1	4	-	-	
Picloram		1	1	1	4	-	-	
		3	-	-	3	-	2	
		5	1	1	4	-	-	
Jumlah			3	3	32	5	5	
Persen (%)			6,67	6,67	71,11	10,11	10,11	
C3		2,4-D	1	-	-	1	4	-
	3		1	1	1	2	1	
	5		-	-	3	2	-	
	Dicamba	1	-	-	1	3	1	
		3	-	-	-	4	-	
		5	-	-	1	2	-	
	Picloram	1	-	-	-	2	2	
		3	-	-	-	3	1	
		5	-	-	-	3	1	
	Jumlah			1	1	7	25	6
	Persen (%)			2,38	2,38	16,67	58,12	14,29
	Total			7	7	69	34	19
Persen (%)			5,30	5,30	52,27	25,76	14,39	

Sampai dengan minggu ke – 12, induksi kalus embriogenik pada klon C1 mencapai 9,40%, klon C2 10,11%, dan klon C3 58,12%. Hasil analisis morfologis menunjukkan bahwa klon C1 kalusnya friabel berwarna putih – coklat muda, klon C2 kalusnya friabel berwarna putih,

sedangkan hasil analisis morfologis pada klon C3 kalusnya friabel berwarna putih – kuning.

Hasil analisis varian untuk menguji pengaruh klon cendana, jenis dan konsentrasi ZPT disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Analisis varians pengaruh klon cendana, jenis dan konsentrasi ZPT pada pembentukan kalus setelah diinkubasi selama 12 minggu dalam kondisi gelap

Sumber Variasi	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F _{Hit.}	Sig.
Klon	2	67685.946	33842.973	73.071**	0,000
Jenis ZPT	2	198.882	99.441	0.215 ^{ns}	0.807
Konsentrasi	2	396.630	198.315	0.428 ^{ns}	0.653
Klon x Jenis ZPT	4	3689.384	922.346	1.991 ^{ns}	0.101
Klon x Konsentrasi	4	417.926	104.482	0.226 ^{ns}	0.924
Jenis ZPT x konsentrasi	4	4403.878	1100.969	2.377 ^{ns}	0.057
Klon x Jenis ZPT x konsentrasi	8	3406.798	425.850	0.919 ^{ns}	0.504
Galat	105	48631.067			

Keterangan: ** = berbeda nyata pada taraf 1%
^{ns} = tidak signifikan

Pada Tabel 3 diketahui bahwa klon memberikan pengaruh nyata terhadap induksi kalus embriogenik cendana, sedangkan jenis dan konsentrasi ZPT, serta seluruh interaksi antar perlakuan tidak memberikan pengaruh yang

nyata terhadap induksi kalus embriogenik cendana. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan diantara tiga klon cendana dilakukan uji lanjut dengan analisis DMRT sebagaimana disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji DMRT pengaruh tiga klon cendana terhadap pembentukan kalus setelah diinkubasi selama 12 minggu dalam kondisi gelap

Klon	Persen pertumbuhan kalus* (%)	Kenampakan morfologis
C1	9,40 a	Kalus friabel, putih - coklat muda
C2	10,11 a	Kalus friabel, putih
C3	58,12 b	Kalus friabel, putih – kuning

* Angka-angka dalam satu lajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda pada taraf nyata 5%

Tabel 4 menunjukkan bahwa hasil induksi kalus embriogenik pada klon C1 tidak berbeda nyata dengan klon C2, tetapi keduanya berbeda nyata dengan klon C3. Secara keseluruhan klon C3 menunjukkan hasil induksi kalus embriogeniknya terbaik. Hal ini didukung oleh data pengaruh jenis klon pada persen induksi kalus embriogenik cendana pada klon C3 sebesar 58,12%. Berdasarkan hasil induksi kalus menunjukkan bahwa eksplan dari daun cendana yang diuji tidak semua mampu membentuk kalus dan berkembang pada semua perlakuan. Hal ini diduga karena kondisi lingkungan dan waktu inkubasi yang juga sangat menentukan dalam hal proses pembentukan kalus. Lingkungan dan kondisi eksplan akan berpengaruh terhadap kecepatan kalus untuk berkembang.

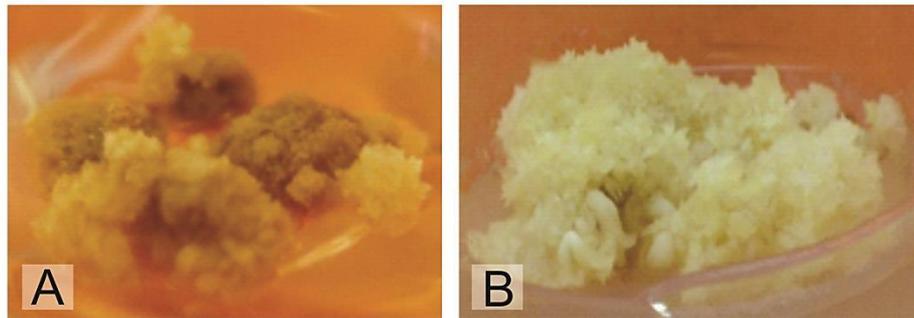
Salah satu ciri bahwa kalus berkembang adalah adanya perubahan warna krim atau

kuning menjadi putih kekuningan dan selanjutnya menjadi kehijauan seperti tampak pada Gambar 1.

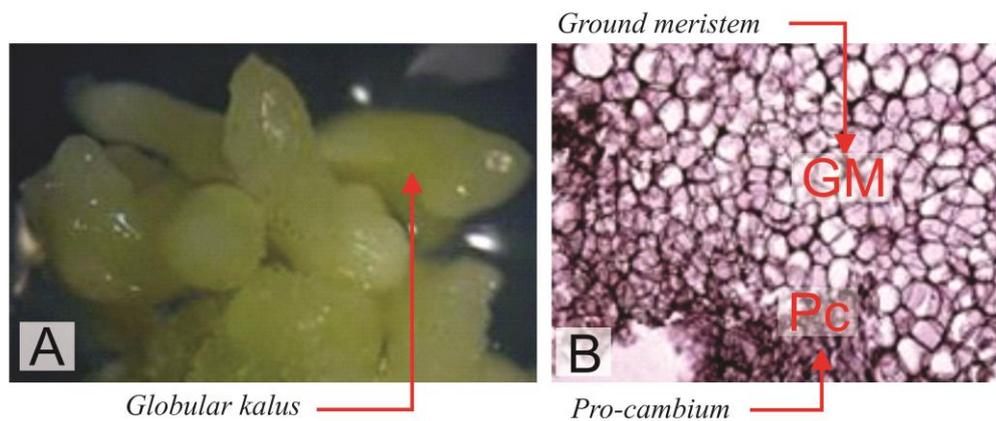
Struktur kalus dari berbagai varietas berbeda-beda tergantung pada formulasi medium yang digunakan. Kalus yang berbentuk globular (nodul-nodul) dan berwarna bening (Gambar 1B) biasanya mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk tunas daripada kalus yang bersifat kompak dan berwarna putih kekuningan (Gambar 1A). Kalus yang bersifat kompak dapat dikarenakan adanya kutikula pada bagian dinding selnya yang menandakan sel mengalami pepadatan dan mengeras. Kalus yang memiliki struktur yang keras akan sangat sulit untuk diinduksi menjadi kalus embriogenik.

Kenampakan perkembangan lebih lanjut induksi globular kalus cendana setelah

diinkubasi selama 12 minggu sebagaimana terlihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Kalus cendana pada minggu ke-8 saat diinkubasi pada kondisi gelap. Kalus terlihat berwarna putih bening sampai kekuningan. Ket: A. Kalus dari klon C1 yang berstruktur kompak, dan B. Kalus dari klon C3 bertekstur friabel



Gambar 2. Induksi globular kalus cendana setelah diinkubasi selama 12 minggu: (A) morfologi globular kalus cendana pada klon C3 dan (B) histologi globular kalus cendana

Gambar 2A menunjukkan morfologi kalus cendana yang berhasil didapatkan dalam penelitian ini. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ dan jenis tanaman yang berbeda akan menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Embrio zigotik muda dalam biji tanaman, hipokotil, kotiledon, daun dan batang muda adalah contoh-contoh eksplan yang sangat tanggap untuk pembentukan kalus. Hal ini dikarenakan bagian-bagian tersebut masih memiliki jaringan meristematik yang terus aktif membelah. Daerah kambium merupakan daerah yang aktif membelah yang terdapat pada bagian batang dan daun muda. Pengamatan secara histologi pada kalus akan terlihat bagian-bagian

sel yang bersifat meristematik (Gambar 2B). Sel-sel parenkim terlihat berukuran kecil dan padat yang menandakan bahwa sel-sel tersebut aktif membelah.

Sebagian eksplan asal klon C1 dan klon C2 kalus embriogenik-nya tidak terbentuk, diduga bahwa daun yang digunakan sebagai eksplan memiliki umur yang berbeda, bahkan ada perbedaan sifat genetik dari masing-masing klon yang diteliti. Hal lain kemungkinan karena adanya perbedaan fisiologis pada masing-masing eksplan (Zuyasna, Nurahmi, & Fajri, 2014). Avivi, Prawoto, dan Oetami (2010) menyatakan bahwa adanya perbedaan respon klon yang diuji disebabkan pengaruh konsentrasi ZPT pada media terhadap jumlah embrio somatik yang

terbentuk. Media yang ditambahkan ZPT auksin saja responnya kurang efektif untuk pertumbuhan embrio sedangkan media yang ditambah auksin dikombinasikan dengan kinetin lebih efektif untuk merangsang pembentukan embrio somatik pada tanaman tingkat tinggi (Chantrapradist & Kanchanapoom, 1995). Media MS yang ditambahkan kinetin cukup tinggi, yaitu 2,5 – 3 mg/l ternyata mampu menginduksi kalus setelah 8 minggu diinkubasi (Peeris & Senarath, 2015). Pemberian kombinasi auksin dan kinetin pada media, setelah diinkubasi selama 2 - 4 minggu ternyata cukup optimum bagi pembentukan calon embrio. Hasil penelitian yang dilakukan pada tanaman kopi Arabika varietas Kartika-1 menggunakan media dengan semua perlakuan 2,4-D yang dikombinasikan dengan kinetin 0,1 mg/l berpengaruh terhadap induksi embrio secara langsung (Riyadi & Tirtobomo, 2004). Penelitian yang menggunakan perlakuan 3 mg/l 2,4-D + 1 mg/l kinetin dalam media SCG (*secondary callus growth*) merupakan perlakuan terbaik dalam menginduksi kalus (Zuyasna et al., 2014). Auksin sintetik yang lain seperti *Picloram* dan *Dicamba* memiliki daya aktivitas rendah sehingga dapat digunakan dalam inisiasi kalus pada tanaman herba (Hadrami, Carron, & D'Auzac, 1991). ZPT dan konsentrasi yang ditambahkan pada media yang diinkubasi dalam lingkungan yang gelap dalam waktu tidak terlalu lama tanpa ada cahaya serta adanya keseimbangan unsur hara baik makro, mikro, protein, dan vitamin dalam media juga sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus maupun diferensiasinya membentuk tunas. Salah satu hal yang mudah diketahui pada perkembangan kalus dalam penelitian ini adalah adanya perubahan warna dari warna coklat muda dan kuning menjadi putih dan kuning, hal ini sebagai akibat adanya keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara ZPT endogen di dalam tanaman dan ZPT eksogen yang diserap dari media tumbuh.

IV. KESIMPULAN

Hasil induksi kalus menunjukkan bahwa terdapat respon yang berbeda nyata diantara ketiga klon cendana yang diteliti dalam pembentukan kalus embriogenik. Klon C3 yang berasal dari tegakan alam di kawasan plot konservasi genetik cendana di Watusipat, Gunungkidul menunjukkan hasil terbaik dalam induksi kalus embriogenik dengan kenampakan morfologis kalus yang friabel berwarna putih – kuning. Jenis ZPT 2,4-D, *Dicamba*, dan *Picloram* dan tingkat konsentrasinya tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada pembentukan kalus embriogenik cendana.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan bagian dari disertasi yang berjudul Pengembangan klon cendana (*Santalum album* Linn.) melalui teknik kultur mata tunas dan embriogenesis somatik. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Suprihati yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini secara utuh, serta kepada Fithry Ardhan yang telah memberikan saran, masukan, dan penyempurnaan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Avivi, S., Prawoto, A., & Oetami, R. F. (2010). Regenerasi embriogenesis somatik pada beberapa klon kakao Indonesia dari eksplan bunga. *J. Agr. on Indonesia*, 38(2), 138–143. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/279372554>
- Bele, D., Tripathi, M. . K., Tiwari, G., Baghel, B. S., & Tiwari, S. (2012). Microcloning of sandalwood (*Santalum album* Linn) from cultured leaf discs. *Journal of Agricultural Technology*, 8(2), 571–583.
- Chantrapradist, C., & Kanchanapoom, K. (1995). Somatic embryo Formation From Cotyledonary Culture of *Theobroma cacao* L. *J. Sci. Soc. Thailand*, 21, 125–130. Retrieved from http://www.scienceasia.org/1995.21.n2/v21_125_130.pdf

- Gaj, M. D. (2001). Direct somatic embryogenesis as a rapid and efficient system for in vitro regeneration of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 64(1), 39–46. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1023/A%3A1010679614721>
- Hadrarni, I. El, Carron, M., & D’Auzac, J. (1991). Influence of exogenous hormones on somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis*. *Annals of Botany*, 67(6), 511–515.
- Haryjanto, L., Widowati, T. B., Fiani, A., & Hadiyan, Y. (2017). Variasi kandungan kimia minyak cendana (*Santalum album* Linn) dari berbagai provenans di Indonesia. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 11(1), 77–85. <https://doi.org/10.20886/jpth.2017.11.1.77-85>
- Herawan, T., Na’iem, M., Indrioko, S., & Indrianto, A. (2014). Somatic embryogenesis of Sandalwood (*Santalum album* L.). *Indonesian Journal of Biotechnology*, 19(2), 168–175. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.9311>
- Herawan, T., Na’iem, M., Indrioko, S., & Indrianto, A. (2015). Kultur jaringan cendana (*Santalum album* L.) menggunakan eksplan mata tunas. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 9(3), 177–188. <https://doi.org/10.20886/jpth.2015.9.3.177-188>
- Janarthanam, B., & Sumathi, E. (2011). High frequency shoot regeneration from internodal explants of *Santalum album* L. *International Journal of Botany*, 7(3), 249–254. <https://doi.org/10.3923/ijb.2011.249.254254>
- Misra, B. B., Das, S. S., & Dey, S. (2013). Volatile profiling from heartwood of East Indian sandalwood tree. *Journal of Pharmacy Research*, 7(4), 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.04.030>
- Mujib, A. (2005). In vitro regeneration of sandal (*Santalum album* L.) from leaves. *Turkish Journal of Botany*, 29(1), 63–67.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473–497. Retrieved from <http://files.florestal81.webnode.com/200000040-03153040fe/07 Artigo MS 1962.pdf>
- Peeris, M., & Senarath, W. (2015). In vitro propagation of *Santalum album* L. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 43(3), 265–272. <https://doi.org/10.4038/jnsfsr.v43i3.7954>
- Revathy, E., & Arumugam, S. (2011). Somatic embryogenesis and plantlets regeneration from seedling explants of *Santalum album* L. *International Journal of Current Research*, 33(6), 237–241.
- Riyadi, I., & Tirtobomo, F. (2004). Pengaruh 2,4-D terhadap induksi embrio somatik kopi arabika. *Buletin Plasma Nutfah*, 10(2), 82–89. <https://doi.org/10.21082/blpn.v10n2.2004.p.82-89>
- Rugkhla, A., & Jones, M. G. K. (1998). Somatic embryogenesis and plantlet formation in *Santalum album* and *S. spicatum*. *Journal of Experimental Botany*, 49(320), 563–571. <https://doi.org/10.1093/jxb/49.320.563>
- Soeseno, O. H. (2001). Prospek pengembangan cendana di Nusa Tenggara Timur. *Berita Biologi*, 5(5), 479–486. Retrieved from <https://media.neliti.com/media/publications/61745-ID-none.pdf>
- Zuyasna, Z., Nurahmi, E., & Fajri, R. (2014). pengaruh jenis kakao dan kombinasi zat pengatur tumbuh terhadap induksi embrio sematik secara in vitro. *Jurnal Floratek*. <https://doi.org/https://doi.org/10.24815/florat.ek.v9i2.2007>