

# Teknik mikrografting dalam perbanyakan tanaman kina (*Cinchona ledgeriana Moens*)

***Micrografting technique in cinchona (Cinchona ledgeriana Moens)  
plants propagation***

**Salwa Lubnan Dalimoenthe**

*Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung  
Pasirjambu, Kabupaten Bandung; Kotak Pos 1013 Bandung 40010  
Telepon 022 5928780, Faks. 022 5928186*

*Diajukan: 22 Januari 2013; diterima: 22 Februari 2013*

## **Abstract**

*In Indonesia has been found 11 cinchona species but only two species recognized as an economically important Cinchona succirubra known as resistant plant to root disease while Cinchona ledgeriana quinine high content. To put together those two characters from mostly through grafting it took twelve months. Micrografting is one of the propagation techniques through tissue culture. Micrografting has already been used in wide spread for plants propagation either only for research or as mass product. Hopefully, the use of micrografting to obtain cinchona propagation would be short more or less 10 months and provide plants as mass production economically. The result showed that micro grafting at V shape could be used as the propagation method on cinchona species besides bud multiplication through tissue culture. MS medium is the best medium for cinchona micrografting. If there is no IBA on rooting media, there is no root formation from the plants. The increasing of IBA from 1 up to 4 mg/l in media, will increase also the number of rooting plants. different plant material as scion and stock and different concentrarions (0,1,2,3,4 mg/l) of IBA gives the significantly different respons on rooting formation. The increasing of IBA on media will increase the number of rooting plants also. The highest rooting formation are found on medium with 3 dan 4 mg/L IBA. The combination between C. ledgeriana-C. succirubra, C. ledgeriana-C.ledgeriana, C. succrirubra-C.succirubra gives significantly difference on the growth dan development of root. The use of C. ledgeriana as a root stock doesn't showed good rooting formation. The combination between CSA/QRC205 gives the highest number of leaves result compare wth others combination on as much as 9,8. The first stage of acclimatization on culture room with temperature 25-27°C and followed by acclimatization on plastics house covered with paranet 70%. In general in vitro planlet cinchona from micrografting growing well. By the end of observation (8 weeks) growing percentage reach 90%.*

**Keywords:** *cinchona, micropropagation*

## **Abstrak**

Di Indonesia terdapat 11 spesies kina tetapi baru dua spesies yang memiliki nilai ekonomi penting yaitu *Cinchona succirubra* yang tahan terhadap penyakit akar dan *Cinchona ledgeriana* yang memiliki kandungan kinin tinggi. Kedua spesies ini harus disambung (*grafting*) untuk mendapatkan bibit yang berkualitas. Perbanyakan dengan cara ini memerlukan waktu yang relatif lama sekitar dua belas bulan. Untuk memecahkan

masalah tersebut, dilakukan penelitian teknik penyambungan mikrografting. Diharapkan teknik mikrografting dapat mempersingkat waktu tanam sambungan yang dapat dipindahkan ke lapangan dalam waktu kurang lebih sepuluh bulan. Dengan demikian, untuk menghasilkan bibit mulai dari perkecambahan benih sampai siap tanam di lapangan dengan jumlah yang banyak dan lebih ekonomis dapat dilakukan dalam waktu relatif singkat. Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa teknik mikro grafting dapat digunakan untuk memperbanyak tanaman kina. Medium MS merupakan medium yang terbaik untuk digunakan sebagai medium pertumbuhan mikrografting dan planlet kina. Penambahan IBA 1,2,3,4 mg/L memberikan hasil yang berbeda terhadap pertumbuhan dan perakaran mikrografting tanaman kina. Akar yang paling banyak diperoleh dari konsentrasi 3 dan 4 mg/L IBA. Kombinasi perlakuan *C. ledgeriana-C. succirubra*, *C. ledgeriana-C. ledgeriana*, *C. succirubra-C.succirubra* memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan dan perkembangan perakaran. Penggunaan *C. ledgeriana* sebagai batang bawah kurang baik dalam menumbuhkembangkan akar. Kombinasi CSA/QRC205 memberikan respon yang lebih baik daripada kombinasi lainnya pada parameter yang diukur, yaitu jumlah daun sebanyak 9,8 helai. Aklimatisasi dilakukan secara bertahap, yaitu dalam ruang kultur pada suhu 25–27°C diikuti dengan aklimatisasi di rumah plastik bernaungan paronet 70%. Secara umum, hasil mikrografting *in vitro* planlet kina dapat tumbuh dengan baik. Sampai akhir pengamatan (minggu kedelapan), persentase pertumbuhan planlet mencapai 90%.

**Kata kunci:** kina, mikropropagasi

## PENDAHULUAN

Tanaman kina (*Cinchona succirubra* dan *Cinchona ledgeriana*) merupakan tanaman industri yang mempunyai nilai ekonomi penting serta mengandung 25 macam senyawa alkaloid yang terbentuk secara alami walaupun belum semua senyawa alkaloid tersebut diketahui kegunaannya (Santoso dan Wibowo, 2000). Alkaloid yang sudah dimanfaatkan sampai saat sekarang adalah kinin ( $C_2OH_{24}O_2N_2$ ), kinidin ( $C_20H_{24}O_2N_2$ ), sinkonin ( $C_{19}H_{22}ON_2$ ), dan sinkonidin ( $C_{19}H_{22}ON_2$ ).

Empat jenis alkaloid tersebut banyak ditemukan di dalam kulit batang sedangkan pada bagian lain ditemukan dalam jumlah relatif sedikit. Alkaloid ini umumnya digunakan dalam industri farmasi, kosmetik, industri makanan dan minuman, serta industri agrochemical (Widayat, 2000). Kinin digunakan sebagai bahan tonik, intermediet pembuat vitamin B, dan obat antimalaria,

sedangkan kinidin digunakan sebagai obat pengatur irama denyut jantung (Dayrit, 1994).

Upaya yang sudah dilakukan untuk menggabungkan kedua karakter tersebut adalah dengan melakukan setek sambung (sambung meja) dan benih sambung (*seedling*). Perbanyakan dengan kedua cara ini memerlukan waktu yang relatif lama, yaitu sekitar 2,5 tahun. Dalam proses produksi bibit, perbanyakan dengan cara ini juga membutuhkan entres sebagai batang atas yang spesifik, yaitu tunas yang tumbuh dari bekas tebangan (bukan cabang) dari tanaman yang sudah diproduksi berumur 5–8 tahun. Selain itu, produksi benih secara massal dalam waktu yang bersamaan ternyata menghadapi kendala keterbatasan tunas entres yang seragam.

Untuk mengatasi masalah tersebut, salah satu cara adalah dengan menggunakan teknologi mikrografting *in vitro*. Mikrografting *in vitro* adalah salah satu cara per-

banyak vegetatif yang dilakukan dalam kondisi aseptik dengan menggunakan teknik kultur *in vitro*.

Keunggulan penggunaan mikrografting *in vitro* adalah dapat mempersingkat waktu penyediaan bibit sambung yang siap dipindahkan ke lapangan, menghasilkan tanaman yang bebas penyakit, tanaman lebih seragam, dan dapat diproduksi dalam jumlah yang banyak serta rendahnya inkompatibilitas (Kala *et al.*, 2002 dan Ke *et al.*, 1993).

Diperkirakan, teknik mikrografting *in vitro* kina hanya membutuhkan waktu kurang lebih 10 bulan untuk menghasilkan bibit mulai dari perkembahan benih sampai siap tanam di lapangan. Selain memperoleh entres yang mudah dari hasil kultur jaringan, teknik mikrografting juga dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dengan lebih ekonomis dan waktu relatif singkat.

Saat ini belum diketahui teknologi yang cocok untuk memperbanyak tanaman kina secara mikrografting. Untuk itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan teknologi yang cocok guna memperbanyak tanaman kina secara mikrografting.

Secara fisik, penyambungan dengan cara mikrografting sama seperti cara penyambungan pada tanaman kina secara umum, yakni dibutuhkan batang atas dan batang bawah dengan bentuk sayatan seperti huruf V. Yang membedakan hanyalah ukuran tanamannya. Pada penyambungan tanaman kina secara normal, sambungan dikat dengan tali plastik, sedangkan penyambungan dengan cara mikrografting dibalut dengan aluminium foil. Mikrografting juga dapat dilakukan untuk perbanyakan tanaman bebas virus, misalnya pada tanaman jeruk (George dan Sherrington, 1984).

Perbanyakan tanaman kina secara mikrografting memerlukan keahlian dan fasilitas khusus. Walaupun demikian, diharapkan di masa depan, mikrografting bisa menjadi salah satu cara untuk perbanyakan tanaman kina.

Diharapkan dengan diperolehnya teknologi perbanyakan tanaman kina secara mikrografting, akan diperoleh manfaat berupa:

1. Mempersingkat waktu.
2. Mendapatkan bibit dalam jumlah banyak dan seragam.
3. Menurunkan biaya pembuatan bibit hingga 50%.
4. Menambah metode perbanyakan tanaman.
5. Mendapatkan tanaman yang sehat dan bebas penyakit.

Hasil penelitian Santoso *et al.* (2004) menemukan bahwa penggandaan tunas kina melalui metode kultur jaringan dengan menggunakan media MS + BAP 3 mg/l dengan laju penggandaan tunas untuk *C. ledgeriana* Moens sebanyak 45,5 buah dalam waktu 20 minggu, sedangkan untuk *C. succirubra* Pavon sebanyak 25 planlet untuk 20 minggu. Hasil penelitian ini merupakan dasar penentuan medium yang cocok digunakan untuk perbanyakan kina melalui mikrografting.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2005 sampai dengan bulan Desember 2005 di Laboratorium Kultur Jaringan dan Biomolekuler Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI), Bogor.

Eksplan yang digunakan dalam percobaan ini adalah klon *C. succirubra* sebagai batang bawah dan klon QRC 205 *C. ledgeriana* sebagai batang atas hasil kultur *in vitro*. Planlet hasil mikrografting *in vitro* selanjutnya dikulturkan pada medium perakaran dan diinkubasi di ruang inkubasi.

Metode penyambungan dilakukan dengan cara bagian planlet yang digunakan untuk batang bawah dipotong sepanjang dua buku dari pangkal batang bawah, sedangkan sebagai batang atas dipotong dua buku dari tajuk. Batang bawah yang diperlukan harus seragam, yaitu memiliki diameter yang sama dengan batang atas atau batang bawah sedikit lebih besar dari batang atas. Bagian tajuk batang bawah dipangkas kemudian dibuat sayatan sesuai dengan perlakuan, yaitu tipe V sepanjang 1 cm dengan menggunakan pisau skalpel. Sayatan batang atas dibuat sesuai dengan sayatan batang bawah baik bentuk dan ukurannya. Selanjutnya, batang atas ditanak pada batang bawah yang sudah disayat. Untuk memperkokoh sambungan, eksplan diikat dengan menggunakan aluminium foil yang sudah disterilkan, kemudian dikulturkan pada medium mikrografting *in vitro*. Selanjutnya, kultur diinkubasi di ruang inkubasi pada suhu 25-27°C dengan pencahayaan 12 jam per hari.

Optimasi medium mikrografting *in vitro*: Untuk melihat pengaruh IBA (*indole butyric acid*) terhadap mikrografting kina, dilakukan dengan menggunakan percobaan faktorial dua faktor, yaitu perbedaan bahan tanaman dan konsentrasi IBA yang disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL).

Faktor kombinasi bahan tanaman yang digunakan adalah *Cinchona ledgeriana* (CL) dengan *Cinchona succirubra* (CS), CL dengan CL, dan CS dengan CS.

Sedangkan faktor lainnya yaitu konsentrasi IBA dengan empat taraf, yaitu 1, 2, 3, dan 4 mg/L IBA pada medium dasar MS (Murasige & Skoog, 1962). Setiap percobaan diulang sepuluh kali, setiap ulangan terdiri atas satu botol dan setiap botol terdiri atas tiga planlet.

Planlet hasil mikrografting *in vitro* selanjutnya dikulturkan pada medium perakaran dan diinkubasi di ruang inkubasi serta peubah yang diukur dan analisis data dilakukan dengan menggunakan metode seperti di atas.

Kesesuaian batang bawah dan batang atas hasil mikrografting: Eksplan yang digunakan dalam percobaan ini adalah klon *C. succirubra* klon A (CSA), *C. succirubra* klon B (CSB) sebagai batang bawah dan klon *C. ledgeriana* yang terdiri atas QRC 205, dan *Cibeureum* 5 (Cib 5) sebagai batang atas hasil kultur *in vitro*. Tipe sambung yang digunakan dalam percobaan ini adalah tipe V dan medium yang digunakan dalam percobaan ini adalah medium MS dengan penambahan IBA 4 mg/L. Selanjutnya, planlet ditempatkan dalam ruang kultur pada suhu 25-27°C dan pencahayaan 12 jam per hari. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap faktor tunggal (RAL) dengan tiga taraf, yaitu kombinasi kontrol, CSA/QRC205-V, CSB/QRC205-V, dan CSA/Cib5-V setiap percobaan diulang sepuluh kali, setiap ulangan terdiri atas satu botol dan setiap botol terdiri atas tiga planlet (Lukman *et al.*, 2005). Peubah yang diukur berupa pertumbuhan daun dari planlet.

Aklimatisasi: Medium yang digunakan dalam percobaan ini adalah medium yang terbaik, yaitu perbandingan arang sekam: top soil (1 : 1) berdasarkan metode Santoso *et al.* (2004). Aklimatisasi dilaku-

kan dengan dua tahap, yaitu (1) aklimatisasi di ruang kultur ber-AC pada suhu 25-27°C dengan pencahayaan 12 jam per hari, dan (2) aklimatisasi di rumah plastik bernaungan paronet 70% menurut metode Lukman *et al.* (2005).

Medium aklimatisasi dimasukkan ke dalam gelas air mineral setebal 9 cm. Dalam setiap botol air mineral yang berisi medium ditanamkan satu planlet dan diberi sungkup plastik transparan. Selanjutnya, planlet ditempatkan di ruang kultur. Setelah satu minggu, sungkup dibuka satu jam per hari. Setelah minggu kedua dan minggu ketiga, sungkup dibuka selama dua jam per hari. Setelah minggu keempat, planlet dipindahkan ke rumah plastik bernaungan paronet 70%. Medium yang digunakan pada aklimatisasi di lapangan sama dengan medium pada aklimatisasi dalam ruang kultur.

Untuk menjaga kelembapan, dilakukan penyungkupan secara kolektif. Pada umur tiga minggu, sungkup dibuka secara bertahap mulai 30 menit per hari, satu jam per hari, hingga sungkup dapat dibuka seluruhnya (Lukman *et al.*, 2005).

Percobaan ini dilakukan selama dua bulan. Peubah yang diukur adalah persentase planlet yang dapat bertahan hidup dengan baik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Optimasi medium mikrografting *in vitro* planlet kina

#### Pembentukan akar

Terlihat bahwa penambahan IBA pada medium MS sangat berpengaruh terhadap perakaran mikrografting *in vitro*

planlet kina. Pada perlakuan kontrol yang tidak diberi IBA, terlihat bahwa tidak satupun planlet berakar. Akan tetapi, pada penambahan IBA pada konsentrasi yang semakin meningkat (1, 2, 3 dan 4 mg/L) terlihat bahwa pertumbuhan akar semakin banyak (Tabel 1). Penambahan IBA pada medium MS sangat berpengaruh terhadap perakaran mikrografting *in vitro* planlet kina.

Terdapat interaksi yang nyata antara jenis bahan tanaman yang digunakan dengan konsentrasi IBA yang dicobakan. Penggunaan jenis kina *C. ledgeriana* dan *C. succirubra* sebagai batang atas dan batang bawah memberikan hasil yang berbeda nyata dengan jika sambungan menggunakan batang atas dan batang bawah dari jenis kina *C. ledgeriana*.

Percobaan ini juga menggunakan kombinasi batang atas dan batang bawah dari jenis kina *C. succirubra* dan *C. succirubra* serta jenis kina *C. ledgeriana* dan *C. ledgeriana*. Perlakuan penggunaan batang atas dan batang bawah dari jenis kina yang sama lebih ditujukan untuk melihat respon batang bawah terhadap pembentukan perakaran pada media tumbuh yang digunakan.

Respon kina *C. succirubra* lebih baik terhadap pembentukan dan perkembangan perakaran. Tujuan penggunaan batang bawah dari jenis kina *C. succirubra* adalah untuk mendapatkan tanaman kina yang tahan terhadap penyakit, terutama penyakit akar.

Tabel 1 memperlihatkan dengan jelas bahwa semakin tinggi konsentrasi IBA yang digunakan, pembentukan akar semakin banyak. Jika dilihat dari kecenderungannya, penggunaan IBA hingga 4 mg/l pada media menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan pembentukan perakaran.

**TABEL 1**

Rata-rata pengaruh penambahan IBA pada medium MS terhadap persentase berakar planlet kina umur 8 minggu setelah mikrografting *in vitro*

Kombinasi	Konsentrasi IBA (mg/L)					Rata-rata
batang atas dan batang bawah	0	1	2	3	4	
CS/CL	0	60	70	80	85	73,75 a
CS/CS	0	60	70	80	85	73,75 a
CL/CL	0	50	70	80	85	71,25 b
Rata-rata	0e	56,7d	70,0c	80b	85a	

**Keterangan:**

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada  $P < 0,05$ .

Gambar 1 memperlihatkan pertumbuhan dan pembentukan akar tanaman kina yang diperbanyak melalui mikrografting. Terlihat bahwa planlet sudah mulai berakar. Terlihat juga cara mikrografting dilakukan untuk tanaman kina. Penyatuan sambungan batang atas dan batang bawah menggunakan aluminium foil yang dililitkan.



**GAMBAR 1**  
Mikrografting kina

**Pertumbuhan akar**

Penambahan IBA terhadap mikrografting *in vitro* planlet kina tidak berpengaruh nyata terhadap perakaran. Akan tetapi, penambahan IBA seperti perlakuan pertumbuhan akar cenderung meningkat. Akar yang paling banyak diperoleh dari konsentrasi 3 dan 4 mg/L IBA (Tabel 2).

Tabel 2 memperlihatkan bahwa penggunaan *C. ledgeriana* maupun *C. succirubra* sebagai batang bawah tidak memperlihatkan perbedaan nyata pada jumlah akar yang terbentuk. Artinya, kemampuan membentuk akar pada *C. ledgeriana* dan *C. succirubra* melalui perbanyak secara kultivasi jaringan sama baiknya. Pembentukan dan pertumbuhan akar pada mikrografting tanaman kina pada medium MS lebih banyak dipengaruhi oleh konsentrasi IBA yang ditambahkan.

**TABEL 2**

Pengaruh penambahan IBA pada media dasar MS terhadap jumlah akar planlet dengan berbagai kombinasi batang bawah dan batang atas umur 8 minggu setelah mikrografting *in vitro*

Kombinasi	Konsentrasi IBA (mg/L)				
	0	1	2	3	4
CS/CL	0 (0,71)	2 (1,45)	3,10 (1,75)	4 (1,96)	4 (1,89)
CS/CS	0 (0,71)	2 (1,42)	2,81 (1,72)	3 (1,87)	3 (1,80)
CL/CL	0 (0,71)	2 (1,33)	2,50 (1,65)	3 (1,85)	3 (1,78)
Respon	tn	tn	tn	tn	tn

**Keterangan:**

tn = tidak berbeda nyata menurut uji Duncan  $P < 0,05$

Gambar 2 merupakan visualisasi pengaruh pemberian IBA terhadap mikrografting tanaman kina. Belum jelas terlihat pengaruh IBA terhadap perakaran yang terbentuk pada planlet.



GAMBAR 2

Planlet kina

Dapat disimpulkan bahwa penambahan 4 mg/L IBA pada medium MS adalah yang terbaik untuk mikrografting *in vitro* planlet kina. Hasil yang diperoleh sama seperti yang dilakukan oleh Santoso *et al.* (2004) dan Lukman *et al.* (2005). Kala *et al.* (2002) menyatakan bahwa medium merupakan faktor utama dalam penentuan keberhasilan mikrografting.

Sementara itu, Oda (1995) menyatakan bahwa IBA berpengaruh terhadap pertumbuhan akar. Sedangkan Agustiansyah, (2002) melaporkan bahwa pemberian IBA dengan konsentrasi 5 mg/l dapat meningkatkan jumlah akar planlet stroberi.

#### Kesesuaian batang bawah dan batang atas hasil mikrografting

Perbanyakan tanaman kina dilakukan dengan menyambungkan dua jenis kina, yaitu *C. ledgeriana* sebagai batang atas dengan *C. succirubra* sebagai batang bawah. Penyambungan seringkali menimbulkan masalah ketidaksesuaian antara batang atas dengan batang bawah. Akibatnya, hasil sambungan tersebut tidak dapat tumbuh

dengan baik. Sambungan berhasil dengan baik jika pertumbuhan batang atas berlangsung baik dengan penambahan tinggi dan jumlah daun. Sedangkan untuk batang bawah, keberhasilan dilihat dari pertumbuhan dan perkembangan akar. Penyambungan tanaman, baik secara *in vitro* (mikrografting *in vitro*) atau *in vivo* (semai sambung dan setek sambung) yang melibatkan dua individu tanaman yang berbeda menyebabkan timbulnya interaksi antara batang bawah dengan batang atas, interaksi yang timbul dapat berupa interaksi positif (kompatibel) atau interaksi negatif (inkompatibel).

Hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa dari semua kombinasi yang diuji, kombinasi CSA/QRC205 memberikan respon yang lebih baik daripada kombinasi lainnya pada parameter yang diukur yaitu jumlah daun (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi CSA/QRC-205 memiliki hubungan/interaksi positif yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya.

Tampak bahwa pada kombinasi yang sesuai antara batang bawah dengan batang atas menyebabkan pertumbuhan lebih cepat dan planlet lebih vigor. Sebaliknya, pada kombinasi yang tidak sesuai atau kurang kompatibel seperti CSB/Cib5 pertumbuhannya lebih lamban. Diduga, pada kombinasi yang tidak kompatibel terjadi gangguan translokasi air, hara mineral, serta fotosintat yang menyebabkan terganggunya metabolisme dan pertumbuhan menjadi lambat.

Selain itu, bentuk penyambungan juga berpengaruh terhadap keberhasilan mikrografting. Oda (1995) menyebutkan bahwa pada penyambungan dengan menggunakan sambung tipe V, pertautan antara batang bawah dengan batang atas dapat ter-

jadi dengan cepat dan kokoh. Sedangkan yang dilakukan dengan menggunakan bentuk sambung tipe L dan tipe datar menyebabkan pertumbuhan lebih lambat. Untuk tanaman kina, bentuk V merupakan bentuk penyambungan terbaik. Sedangkan untuk tanaman karet, bentuk pelana (/) merupakan bentuk terbaik untuk penyambungannya.

TABEL 3

Rata-rata jumlah daun planlet kina kombinasi batang bawah dan batang atas yang berbeda umur 8 minggu setelah mikrografting *in vitro*

Perlakuan	Jumlah daun
CSA/QRC205	9,8a
CSA/Cib5	9,4ab
CSB/QRC205	9,2b
CSA/CSA	9,8a
CSB/CSB	9,2ab
Cib/Cib5	9,6ab

Keterangan:

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada  $P < 0,05$ .

Gambar 3 memperlihatkan daun yang terbentuk pada planlet tanaman kina yang diperbanyak secara mikrografting. Jumlah daun yang terbentuk dipengaruhi pula oleh jenis bahan tanaman yang digunakan sebagai batang atas dan batang bawah.



GAMBAR 3  
Pembentukan daun

Hartmann *et al.* (1997) menjelaskan bahwa dalam proses penyembuhan planlet yang terluka adalah setiap sel, baik planlet batang bawah maupun batang atas, membentuk jaringan kalus berupa sel-sel parenkim. Sel-sel parenkim dari batang bawah dan batang atas saling kontak, menyatu dan membaur, sel-sel parenkim yang terbentuk dan terdiferensiasi membentuk kambium sebagai lanjutan dari lapisan kambium batang bawah dan batang atas yang lama. Dari lapisan kambium akan membentuk jaringan pembuluh sehingga proses translokasi hara dari batang bawah ke batang atas atau hasil fotosintesis dari batang atas ke batang bawah berlangsung lancar.

Kala *et al.* (2002) melaporkan bahwa mikrografting pada planlet karet mulai tumbuh dengan baik pada umur tiga minggu setelah perlakuan. Proses penyembuhan luka pada planlet akibat mikrografting berbeda-beda bergantung pada jenis dan karakter planlet yang diuji. Rifa'i (2003) melaporkan bahwa pada penyambungan tanaman duku perkembangan kalus masih terjadi hingga tanaman berumur tiga bulan setelah penyambungan.

Toruan-Mathius *et al.* (1999) menemukan bahwa hasil okulasi tanaman karet yang memiliki interaksi positif antara batang bawah dengan batang atas dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman ke arah yang lebih baik. Reaksi yang inkompatibel dalam penyambungan dapat berupa pembengkakan batang di sekitar daerah pertautan, penghambatan pertumbuhan, dan tingkat produksi rendah (Boerhendhy, 1989). Selanjutnya, Madjid (1974) mengemukakan bahwa pada tanaman karet yang tidak kompatibel dapat menurunkan produksi sampai 40%.

Toruan-Mathius *et al.* (2002) mene-

mukan pada tanaman karet yang tidak kompatibel terbentuknya protein lateks baru dengan BM 24 kDa pada beberapa kombinasi batang bawah terhadap batang atas dari klon tertentu yang sama. Toruan-Mathius *et al.* (1999) juga menyatakan pada penyambungan tanaman karet yang tidak kompatibel terdapat penyempitan kulit kayu dengan ketebalan kulit batang bawah yang lebih besar serta meningkatnya jumlah sel parenkim dan sel batu pada daerah pertautan sampai bagian kulit kayu lunak.

Penyambungan yang kompatibel ditunjukkan dengan batas pertautan yang tidak tampak. Sedangkan penyambungan yang inkompatibel ditunjukkan dengan banyaknya akumulasi lignin pada daerah pertautan. Hal tersebut dipengaruhi translokasi air dan unsur hara dari bawah ke atas, serta terhambatnya translokasi hasil asimilat ke akar.

#### *Aklimatisasi*

Tahap akhir dari perbanyakan secara kultur jaringan maupun mikropropagasi adalah aklimatisasi. Aklimatisasi dilakukan agar tanaman yang diperbanyak secara kultur jaringan dapat beradaptasi dengan lingkungan luar.

Rata-rata planlet yang dapat bertahan hidup setelah dilakukan aklimatisasi secara bertahap adalah sebagai berikut: aklimatisasi dalam ruangan pada suhu 25°C dengan media arang sekam yang dicampur dengan tanah topsoil steril dengan perbandingan (1 : 1) dilakukan selama satu bulan, seluruh planlet dapat bertahan hidup dengan baik (100%). Namun, hanya 90% planlet dapat bertahan hidup setelah planlet dipindah ke rumah plastik bernaungan dengan komposisi media tumbuh yang sama (Tabel 4).

Walaupun demikian, persentase planlet yang hidup masih cukup tinggi, yaitu 90%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penyesuaian planlet terhadap suhu luar perlu dilakukan secara bertahap, yaitu melalui pre-aklimatisasi dalam ruang kultur (suhu 25-27°C) pencahayaan 12 jam per hari, dan diikuti dengan aklimatisasi di bawah naungan paronet 70%. Diduga bahwa pada pre-aklimatisasi sudah terjadi penebalan lapisan lilin pada daun, akar sudah berfungsi dengan baik, fotosintesis juga sudah berjalan dengan baik.

**TABEL 4**

Persentase aklimatisasi planlet kina hasil mikrografting *in vitro* umur 1 bulan dalam ruangan dan 2 bulan di rumah plastik

Kombinasi	Dalam ruangan (suhu 25°C) (%)	Di rumah plastik (%)
CS/CL-V	100	90
CS/CS-V	100	90
CL/CL-V	100	90
Rata-rata	100	90

Gunawan (1992) dan Posposilova *et al.* (1996) menyatakan bahwa sifat-sifat planlet hasil kultur *in vitro* yang kurang menguntungkan antara lain lapisan lilin/kutikula tidak berkembang dengan baik, lignifikasi batang kurang, sel-sel palisade daun sedikit, jaringan pembuluh dari akar ke pucuk kurang berkembang, dan stomata sering tidak berfungsi (tidak menutup pada penguapan tinggi) sehingga pucuk sangat peka terhadap evapotranspirasi, serangan cendawan dan bakteri tanah, serta Cahaya dengan intensitas tinggi. Oleh sebab itu, diperlukan aklimatisasi sebelum memindahkan planlet ke lapang. Planlet kina hasil mikrografting *in vitro* yang ditumbuhkan pada kondisi heterotrof dapat ditanam pada

kondisi yang autotrof setelah mendapat perlakuan adaptasi pada suhu rendah. Secara umum hasil mikrografting *in vitro* planlet kina dapat tumbuh dengan baik. Sampai akhir pengamatan (minggu kedelapan), persentase pertumbuhan planlet mencapai 90%.

## KESIMPULAN

Medium MS merupakan medium yang terbaik untuk digunakan sebagai medium pertumbuhan mikrografting dan planlet kina.

Penambahan IBA 1, 2, 3, dan 4 mg/L memberikan hasil yang berbeda terhadap pertumbuhan dan perakaran mikrografting tanaman kina. Akar paling banyak diperoleh dari konsentrasi 3 dan 4 mg/L IBA.

Kombinasi perlakuan *C. ledgeriana*-*C. succirubra*, *C. ledgeriana*-*C. ledgeriana*, dan *C. succirubra*-*C. succirubra* memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan dan perkembangan perakaran. Penggunaan *C. ledgeriana* sebagai batang bawah kurang baik dalam menumbuhkan akar.

Kombinasi CSA/QRC205 memberikan respon yang lebih baik daripada kombinasi lainnya pada parameter yang diukur, yaitu jumlah daun sebanyak 9,8 helai.

Aklimatisasi dilakukan secara bertahap, yaitu dalam ruang kultur pada suhu 25-27°C diikuti dengan aklimatisasi di rumah plastik bernaungan parenet 70%. Secara umum, hasil mikrografting *in vitro* planlet kina dapat tumbuh dengan baik. Sampai akhir pengamatan (minggu kedelapan), persentase pertumbuhan planlet mencapai 90%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustiansyah. 2002. Studi Perbanyakan Tanaman Strowberi (*Fragaria ananassa* Duch) secara *In Vitro*. [Tesis] Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Boerhendhy, I. 1989. Efek okulasi tajuk terhadap beberapa sifat anatomi dan fisiologi tanaman karet. *Buletin Perkebunan Rakyat* 6: 70-72.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein-dye. *Binding Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Dayrit, F.M, A. Guldotea, M.L. Generalao, C. Serna. 1994. Determination of the quinine content in the bark of the *Cinchona* tree grown in Mt. Kitang-land, Bukindon. *Philip. J. Sci.* 123 (3): 5-2277.
- George, E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Exogenics.
- Gunawan, L.W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Biotechnologi, Bogor, Institut Pertanian Bogor.
- Hartmann, H.T., D.E. Kester, dan F.T. Davies. 1997. *Plant Propagation, Principles and Practice*. Edisi keenam. New Jersey: Practice Hall International.
- Hidayat, E.B. 1995. *Anatomii Tumbuhan Berbiji*. Bandung: Jurusan Biologi FMIPA-ITB.

- Kala, R.G., M.P. Asokan, K.P. Jayasree, S. Sobha, R. Jayasree, K. Rekha, dan Thulaseedharan. 2002. Optimization of conditions for *in vitro* micrografting in rubber (*Hevea brasiliensis*). *Indian J. Nat. Rub. Res.*, 15(2): 165-171.
- Ke S, Cai Q dan Skirvin RM. 1993. Mikrografting speed growth and fruting of protoplast-derived clones of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *J. Hort. Sci.* 68: 837.
- Kerbosch, M. 1948. Perkebunan kina. Terjemahan dari De kina cultur oleh R. Harjono Danoesastro dalam C.J.J. van Hall en C. van de Koppel. *Delandbow in de Indische Archipel II A*.
- Laemli, U.K. 1992. Cleavage of struktural protein during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* 224: 680-685.
- Lukman, N. Toruan-Mathius, dan Agus-Purwita. 2005. *Analisis tipe mikrografting in vitro tanaman kina, dan uji kompatibilitasnya*. Pasca Sarjana IPB..
- Madjid A. 1974. Bahan tanaman karet untuk peremajaan. *Menara Perkebunan* 42(5): 267-269.
- Murashige, T. dan F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* (15): 473-497.
- Oda, M. 1995. New grafting methods for fruit-bearing vegetables in Japan. *JARQ* 29: 187-194.
- Posposilova, J.J, Catsky, dan Sestak. 1996 Photosynthesis in plant cultivated *in vitro*. 252.
- Pusat Penelitian Teh dan Kina. 1995. *Petunjuk Kultur Teknis Tanaman Kina*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian: Asosiasi Penelitian dan Pengembangan Perkebunan Indonesia.
- Rohlf, F. 1993. *NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Versi 2.02*. New York: Exeter Publishing.
- Rifa'i, Faiz. 2003. Pengaruh batang bawah dan jenis bibit serta studi anatomi bidang penyambungan pada bibit grafting duku (*Lansium domesticum* Corr). *Skripsi*. Jurusan Budidaya Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Santoso, J. dan S. Wibowo. 2000. *Usaha Memperpendek Umur Bibit Semai Sambung Kina di Pembibitan*. Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung.
- Santoso, J., N. Toruan-Mathius, U. Sastraprawira, G. Suryatmana, dan D. Saodah. 2004. Perbanyakan tanaman kina *Cinchona ledgeriana* Moens, dan *Cinchona succirubra* Pavon melalui penggandaan tunas aksilar. *Menara Perkebunan* 72(1): 11-27.
- Sopandi, O. 2008. Teknik sambung mikro *in vitro* kina (*Cinchona succirubra*) dengan (*C.ledgeriana*). Makalah pada mata kuliah *Mikropropagasi*. Program Pendidikan Diploma 4 Vedca. Joint Program Pusat Pengembangan dan Pemberdayaan Pendidikan dan Tenaga Kependidikan Pertanian Cianjur dan Politeknik Negeri Jember.

- Toruan-Mathius, N., S.A. Adimihadja, dan I. Boerhendhy. 1999. Rootstock-scion interaction in *Hevea*: Bark protein patterns and anatomy in correlation with genetic similarities. *Menara Perkebunan* 67(1): 1-2.
- Toruan-Mathius, N, I. Boerhendhy, Madjid Akbar, dan Kuswanhadi. 2000. Rootstock-scion interaction induced the alteration of protein banding patterns of scion, and its correlation with genetic similarities in *Hevea brasiliensis* Muell Agr. *Dalam Proc. Indonesin Rubb. Conf. & IRRDB Symposium*. Bogor, 12-14 September, Volume I: 169-179.
- Toruan-Mathius, N., Lizawati, H. Aswidinnoor, dan I. Boerhendhy. 2002. Pengaruh batang bawah terhadap pola pita isoenzim dan protein batang atas pada okulasi tanaman karet (*Hevea brasiliensis* Muell Agr.). *Menara Perkebunan* 70(1): 20-34.
- Widayat W. 2000. Peluang pasar dan perkembangan kina Indonesia. Makalah *Seminar Sehari Pengembangan Kina Nasional*. 3 Agustus. Bandung.