

## Perbanyak *in vitro* tanaman kina (*Cinchona ledgeriana* Moens) melalui tunas aksiler dan apikal

*In vitro propagation of cinchona (Cinchona ledgeriana Moens)  
from axillary and apical buds*

Imron RIYADI & J. S. TAHARDI

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Bogor 16151, Indonesia

### Summary

The use of the appropriate source of nodal bud explants in culture can increase the effectiveness and efficiency of shoot multiplication. An experiment was conducted to determine and compare the rate of *in vitro* shoot multiplication from apical and axillary buds in cinchona (*Cinchona ledgeriana* Moens) and their subsequent growth and development.

The plant material used was *Cinchona ledgeriana* originating from the Indonesian Tea and Cinchona Research Institute, Gambung, West Java. Explants were taken from apical and axillary nodes from *in vitro* germinated seedlings. The cultures were incubated at 26°C and 60% relative humidity under a 14-h photoperiod with light intensity of 30  $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{sec}$ . provided by cool-white fluorescent tubes (TL 40 W) for 4 - 8 weeks. The parameters observed were shoot multiplication rate, shoot growth and development such as shoot length, leaf number and rooting frequency. Apical and axillary nodes produced shoots at different multiplication rates on Murashige-Skoog (MS) standard medium containing 30 g/L sucrose and supplemented with 1 - 5 mg/L BA in combination with 0.1 mg/L IBA. Furthermore, shoots or plantlets of cinchona grew and developed on the same media containing 5 - 10 mg/L IAA combined with 0.5 mg/L IBA. The results showed that shoot multiplication rate was higher in axillary than in apical nodes. The highest multiplication rate in axillary

nodes was 24.6 shootlets with 3 mg/L BA treatment, whereas in apical nodes it was 17.2 shootlets with 5 mg/L BA treatment for eight weeks. The highest rooting frequency of cinchona plantlet was 90%, achieved with 5 mg/L IAA in combination with 0.5 mg/L IBA. The plantlets were successfully acclimatized and transplanted to the field.

[Key words: Shoot multiplication, *Cinchona ledgeriana*, apical bud, axillary bud].

### Ringkasan

Sumber eksplan berupa nodus/tunas pada kultur *in vitro* umum digunakan untuk multiplikasi tunas. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan tingkat multiplikasi antara tunas apikal dengan tunas aksiler tanaman kina Ledger secara *in vitro*. Bahan tanaman yang digunakan adalah kina Ledger (*Cinchona ledgeriana* Moens) yang berasal dari Pusat Penelitian Teh dan Kina, Gambung, Jawa Barat. Eksplan berupa nodus/tunas apikal dan aksiler asal biji yang dikecambahkan secara *in vitro*. Kultur tersebut diinkubasikan dalam ruang terang pada intensitas cahaya 30  $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$  dengan periode penyinaran 14 jam pada suhu 26 °C dan kelembaban relatif  $\pm 60\%$  selama 4 - 8 minggu. Parameter yang diamati adalah perbandingan multiplikasi tunas dan pertumbuhan tunas yang meliputi rata-rata tinggi tunas, jumlah daun dan frekuensi

pengakaran. Nodus apikal maupun aksiler menghasilkan tunas dengan tingkat multiplikasi yang berbeda pada medium Murashige-Skoog (MS) standar yang mengandung sukrosa 30 g/L dan ditambahkan BA 1 – 5 mg/L dikombinasikan IBA 0,1 mg/L. Selanjutnya tunas/planlet kina tersebut berhasil tumbuh dan berkembang pada medium sama yang diberi IAA 5 – 10 mg/L dikombinasikan dengan IBA 0,5 mg/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat multiplikasi tunas aksiler lebih tinggi dari pada tunas apikal. Multiplikasi tunas aksiler menghasilkan jumlah tunas rata-rata tertinggi sebesar 24,6 tunas per eksplan pada perlakuan BA 3 mg/L sedangkan multiplikasi tunas apikal tertinggi sebesar 17,2 tunas per eksplan pada perlakuan BA 5 mg/L pada umur delapan minggu. Frekuensi pengakaran planlet kina tertinggi mencapai 90% pada perlakuan IAA 10 mg/L yang dikombinasikan dengan IBA 0,5 mg/L. Planlet yang dihasilkan telah berhasil diaklimatisasi dan dipindahkan ke tempat persemaian lapang.

### Pendahuluan

Kulit batang tanaman kina (*Cinchona spp.*) mengandung alkaloid kuinolin (*quinoline*) yang dapat digunakan sebagai obat penyakit malaria, jantung, kram (*night cramps*) dan penimbul rasa pahit (*bittering agent*) serta pencerah minuman ringan (Sumaryono & Riyadi, 2005). Permintaan terhadap bahan baku tersebut oleh industri minuman dan obat-obatan terus meningkat, sehingga produksi kulit kina perlu ditingkatkan melalui perluasan areal tanaman (Widayat, 2000).

Perbanyakan tanaman kina secara konvensional biasanya dilakukan dengan biji, setek, sambungan dan okulasi. Namun, penyediaan bibit melalui biji menghasilkan keragaman tanaman yang tinggi akibat adanya penyerbukan silang. Biasanya turunannya mempunyai

kandungan kuinolin yang lebih rendah, sedangkan cara setek menghadapi kesulitan dalam menginduksi perakarannya. Untuk teknik sambungan dan okulasi selain diperlukan batang bawah dalam jumlah besar, juga perlu diperhatikan kesesuaian batang bawah dengan batang atasnya. Kendala lain yang dihadapi dalam penyediaan bibit secara konvensional antara lain dengan setek sambung memerlukan waktu cukup lama yaitu 10 – 12 bulan, dengan kematian mencapai 20-30 %. Selain itu, dengan teknik pembibitan secara konvensional pemenuhan kebutuhan bibit jarak jauh juga menjadi kendala, kematian akibat pengangkutan cukup tinggi, yaitu mencapai 50 % (Sukasmono *et al.*, 1980). Teknik *in vitro* melalui penggandaan tunas pucuk dan tunas aksiler merupakan metoda alternatif untuk perbanyakan tanaman kina secara cepat dan efisien (Krikorian *et al.*, 1982). Bibit yang dihasilkan selain bersifat klonal juga memiliki kejaguran yang lebih tinggi dibandingkan dengan bibit asal biji, setek, sambungan ataupun okulasi (Cestellanos *et al.*, 2008).

Penelitian penggandaan tunas aksiler tanaman kina secara *in vitro* telah dilaporkan oleh Santoso *et al.* (2004) yang menggunakan medium MS dengan penambahan BA pada konsentrasi 0 – 5 mg/L. Penggandaan terbaik tanaman kina Ledger sebanyak 7 tunas/eksplan dan Succin sebanyak 3 – 4 tunas/eksplan yang diperoleh pada konsentrasi BA sebesar 3 mg/L. Untuk pengakaran planlet, digunakan medium B5 dengan penambahan IBA konsentrasi 0 – 2,5 mg/L. Hasil pengakaran terbaik diperoleh pada konsentrasi IBA 2 mg/L. Selanjutnya, Riyadi & Tahardi (2005) melaporkan

hasil penelitiannya tentang pengaruh kombinasi NAA dengan IBA terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas, jumlah daun dan pengakaran tanaman kina Succi (*C. succirubra* Pavon) asal nodus apikal *in vitro*. Konsentrasi NAA yang digunakan adalah 0,05 – 2,0 mg/L sedangkan untuk IBA adalah 0 – 1,5 mg/L. Hasil terbaik diperoleh pada konsentrasi NAA 0,05 mg/L ditambah IBA 0,05 mg/L dengan rata-rata pertumbuhan tinggi tunas 36,3 mm, jumlah daun 11,5 buah dan frekuensi pengakaran 13,1 planlet selama empat minggu. Dari beberapa penelitian tersebut, belum diketahui perbandingan tingkat multiplikasi antara tunas apikal dengan tunas aksiler. Selain itu, daya multiplikasi tunas kina tersebut masih perlu ditingkatkan untuk mengefisienkan proses penggandaannya.

Sumber eksplan untuk perbanyakan tunas tanaman kina secara *in vitro*, selain tunas aksiler juga dapat digunakan tunas apikal. Namun, daya penggandaan tunas apikal dibandingkan dengan tunas aksiler belum diketahui. Oleh karena itu, penting untuk diteliti tingkat penggandaan tunas dari kedua sumber eksplan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat multiplikasi tunas apikal dan aksiler tanaman kina (*C. ledgeriana*) secara *in vitro*. Selain itu, juga ditentukan pengaruh kombinasi konsentrasi ZPT yang efektif dan efisien untuk pertumbuhan dan perkembangan tunas yang meliputi: jumlah daun, tinggi tunas dan tingkat pengakaran planlet tanaman kina tersebut.

### **Bahan dan Metode**

Bahan penelitian yang digunakan adalah tanaman kina (*Cinchona ledgeriana* Moens) yang berasal dari

Pusat Penelitian Teh dan Kina, Gambung, Jawa Barat. Biji kina yang berasal dari buah masak. Biji disterilkan dalam larutan kloroks 20% selama 15 menit diikuti dengan sterilisasi dalam larutan Dithane M-45 (1 g/L) selama dua jam sambil dikocok dengan kecepatan 80 rpm di atas mesin pengocok. Biji dibilas beberapa kali dengan akuades steril lalu dikecambahkan dalam cawan Petri yang berisi kertas saring basah. Biji dikecambahkan dalam ruang dengan pencahayaan 14 jam/hari selama 2–4 minggu. Kecambah dipindahkan ke medium padat MS dengan konsentrasi 50% unsur makro tanpa ZPT sampai tingginya mencapai  $\pm 15$  cm. Kecambah tersebut digunakan sebagai sumber eksplan untuk penelitian multiplikasi tunas dan pembesaran/pertumbuhan serta pengakaran tunas menjadi planlet.

### *Multiplikasi tunas*

Sumber eksplan yang digunakan adalah tunas apikal dan aksiler dengan panjangnya  $\pm 10$  mm berasal dari kecambah *in vitro*. Medium yang digunakan adalah Murashige-Skoog (1962) mengandung 3% sukrosa dan ditambah 1 – 5 mg/L BA yang masing-masing dikombinasikan dengan 0,1 mg/L IBA, gelrite 2,5 g/L. pH medium diatur menjadi 5,7 sebelum disterilisasi. Sterilisasi medium dilakukan dengan *autoklaf* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit. Kultur diinkubasikan di dalam ruang terang di bawah lampu TL dengan intensitas cahaya 30  $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$  dengan periode penyinaran 14 jam pada suhu 26 °C dan kelembaban relatif  $\pm 60\%$  selama empat dan delapan minggu yang masing-masing diulang sebanyak 10 kali. Setelah tercapai

waktu kultur, maka tunas-tunas tersebut dipanen dan diamati dengan memisahkan rerumpunan tunas dengan pisau *scalpel* sehingga memudahkan dalam penghitungan tingkat multiplikasi tunas.

#### *Pertumbuhan dan pengakaran tunas*

Tunas aksiler hasil multiplikasi diseleksi berdasarkan tingkat keseragaman dengan tinggi tunas 5 mm dan jumlah daun dua buah (satu pasang) yang selanjutnya ditransfer pada medium MS dengan penambahan IAA 5 & 10 mg/L masing-masing ditambah IBA 0 & 0,5 mg/L dalam tabung. Kemudian tunas tersebut dikulturkan dalam ruang terang di bawah lampu TL 40 W dengan intensitas cahaya 30  $\mu\text{mol}$  foton/ $\text{m}^2$ /detik dengan periode penyinaran 14 jam pada suhu 26°C dan kelembaban relatif  $\pm$  60%. Tunas tersebut dikulturkan selama enam minggu yang diulang sebanyak 10 kali, sehingga dapat terlihat pertumbuhan dan perkembangan tunas menjadi planlet meliputi jumlah daun, tinggi tunas dan persentase tunas yang berakar.

#### *Aklimatisasi planlet*

Sebanyak 30 tunas yang sudah berakar banyak dan berdaun cukup lebat, selanjutnya ditransplantasi dan diaklimatisasi pada campuran medium tanah dan pasir dengan perbandingan 1 : 1 yang dimasukkan dalam polibag hitam berdiameter 10 cm (tahap I) selama empat minggu. Setelah tunas mencapai tinggi lebih dari 25 cm, planlet/bibit tersebut dipindah-kan ke polibag berdiameter 20 cm sampai siap tanam di lapang (tahap II) selama empat minggu.

#### *Analisis statistik*

Data dari parameter multiplikasi tunas apikal dan aksiler maupun pertumbuhan planlet yang meliputi jumlah daun dan tinggi tunas diuji statistik menggunakan analisis keragaman (Anova) dengan metode rancangan acak lengkap (RAL). Perbedaan antar perlakuan ditentukan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf uji  $\alpha = 0,05$ .

### **Hasil dan Pembahasan**

#### *Multiplikasi tunas*

Tunas apikal maupun aksiler telah mengalami multiplikasi tunas pada umur empat minggu (Gambar 1b & 1d) pada semua perlakuan konsentrasi ZPT (Tabel 1). Namun, tingkat multiplikasi pada tunas apikal masih rendah yaitu kurang dari tujuh buah dengan perbedaan antar perlakuan tidak signifikan pada semua perlakuan. Sebaliknya, pada tunas aksiler menghasilkan tingkat multiplikasi tunas lebih tinggi yaitu lebih dari tujuh buah. Tingkat multiplikasi tunas rata-rata pada nodus apikal tertinggi sebanyak 6,6 tunas yang diperoleh pada perlakuan BA 2 mg/L dikombinasikan dengan IBA 0,1 mg/L, sedangkan pada nodus aksiler mencapai 9,6 tunas yang diperoleh pada perlakuan BA 1 mg/L dikombinasikan dengan IBA 0,1 mg/L.

Umur kultur delapan minggu mampu menaikkan tingkat multiplikasi tunas yang cukup tinggi pada nodus aksiler maupun apikal (Gambar 1c & 1e). Hasil analisis statistik dengan uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$  menghasilkan perbedaan signifikan antar perlakuan konsentrasi BA

*Perbanyakan in vitro tanaman kina (Cinchona ledgeriana Moens) melalui tunas....*



Gambar 1. Kultur *in vitro* tanaman kina (a) kecambah *in vitro* umur 3-4 minggu yang digunakan sebagai sumber eksplan, (b) multiplikasi tunas apikal umur delapan minggu, (c) multiplikasi tunas aksiler umur delapan minggu, (d) pemisahan tunas dari multiplikasi tunas apikal umur delapan minggu, (e) pemisahan tunas dari multiplikasi tunas aksiler umur delapan minggu, (f) plantlet berakar sempurna yang siap diaklimatisasi umur enam minggu dan (g) bibit hasil aklimatisasi umur 12 minggu.

Figure 1. *In vitro* culture of cinchona (a) in vitro germinants as explant source, 3-4 weeks (b) apical shoot multiplication, eight-week-old, (c) axillary shoot multiplication, eight-week-old, (d) shoots separated from multiplying apical shoot cluster, eight-week-old, (e) shoots separated from multiplying axillary shoot cluster, eight-week-old, (f) plantlet with roots ready to be acclimated, six-week-old and (g) plantlets that have been acclimated, twelve-week-old.

baik pada nodus aksiler maupun apikal (Tabel 1). Tingkat multiplikasi tunas rata-rata pada nodus aksiler tertinggi sebanyak 24,6 tunas yang diperoleh pada perlakuan konsentrasi BA 3 mg/L dikombinasikan dengan IBA 0,1 mg/L, sedangkan pada nodus apikal hanya 17,2 tunas yang

diperoleh pada perlakuan konsentrasi BA 5 mg/L dikombinasikan dengan IBA 0,1 mg/L. Santoso *et al.* (2004), melaporkan multiplikasi tunas aksiler tanaman kina Ledger terbaik menggunakan BA 5 mg/L sebesar 13,2 tunas pada umur 16 minggu dan 45 tunas pada umur 24

minggu menggunakan BA 3 mg/L. Sedangkan untuk kina *Succi*, multiplikasi tunas terbaik diperoleh pada BA 3 mg/L sebesar 8,1 tunas pada umur 16 minggu dan 25,5 tunas pada umur 24 minggu pada konsentrasi BA sama.

Proses multiplikasi tunas tanaman memerlukan adanya hormon tumbuh eksternal khususnya golongan sitokinin seperti BA karena untuk mendapatkan tingkat multiplikasi tunas yang tinggi, sitokinin internal masih kurang. Staba & Chung (1981), melaporkan bahwa dalam menumbuhkan eksplan tunas *C. ledgeriana* dan *C. succirubra* hingga menghasilkan planlet sempurna menggunakan ZPT berupa BA dikombinasikan IBA. Penggunaan BA juga diaplikasikan dalam multiplikasi tunas tanaman lain seperti tanaman pisang abaca (Avivi & Ikrarwati,

2004). Konsentrasi BA terbaik yang digunakan untuk multiplikasi tunas pisang abaca sebesar 6 - 7 mg/L yang menghasilkan tunas rata-rata sebesar 8,4 - 8,6 buah. Penggunaan hormon tumbuh diperlukan untuk pengembangan dan penumbuhan planlet, karena produksi *in vivo* hormon tersebut belum cukup sehingga perlu penambahan ZPT ke dalam medium kultur (Cestellanos *et al.*, 2008). Selain hormon tumbuh, sumber tunas dan umur kultur yang tepat juga mempengaruhi tingkat multiplikasi tunas tanaman kina. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa, sumber tunas pada nodus aksiler menghasilkan tingkat multiplikasi tunas lebih tinggi dibandingkan nodus apikal (Tabel 1 dan 2). Hal ini mungkin disebabkan jumlah mata tunas pada nodus aksiler lebih banyak

Tabel 1. Pengaruh zat pengatur tumbuh (ZPT) terhadap multiplikasi tunas asal nodus apikal dan aksiler tanaman kina setelah empat dan delapan minggu pada medium MS.

Table 1. Effect of plant growth regulators (PGR) on shoot multiplication from apical and axillary nodes of cinchona after four and eight-week-old on MS media.

Kombinasi ZPT Combination of PGR (mg/L)		Rata-rata jumlah tunas (Average of bud number) buah/shootlets			
BA	IBA	Asal nodus apikal From apical node		Asal nodus aksiler From axillary node	
		Empat minggu Four-week-old	Delapan minggu Eight-week-old	Empat minggu Four-week-old	Delapan minggu Eight-week-old
1	0,1	4,6 a	7,8 c	9,6 a	11,4 c
2	0,1	6,6 a	9,2 c	6,0 a	15,2 c
3	0,1	5,2 a	13,8 b	4,6 a	24,6 a*
5	0,1	5,4 a	17,2 a	6,2 a	20,6 ab

\*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$ .

\*) Means in the same column followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0,05$ .

*Perbanyakkan in vitro tanaman kina (Cinchona ledgeriana Moens) melalui tunas....*

Tabel 2. Pengaruh zat pengatur tumbuh (ZPT) terhadap pertumbuhan tinggi tunas dan jumlah daun tanaman kina setelah enam minggu pada medium MS.

Table 2. Effects of plant growth regulators (PGR) on shoot length and leaf number in cinchona after six-week-old on MS media.

Kombinasi ZPT Combination of PGR (mg/L)		Tinggi tunas Shoot length (mm)	Jumlah daun Leaf number (buah/sheets)
IAA	IBA		
5	0	22,2 a	7,8 a
10	0	21,4 a	7,8 a
5	0,5	16,5 a	7,4 a
10	0,5	16,1 a	6,4 a

\*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$ .

\*) Means in the same column followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test at  $\alpha = 0.05$ .

dibandingkan nodus apikal karena pada satu nodus yang sama terdapat dua mata tunas untuk nodus aksiler dan satu mata tunas pada nodus apikal. Selain itu, dengan adanya pemotongan tunas apikal maka dominansi tunas apikal terhadap tunas aksiler menjadi hilang sehingga pertumbuhan mata tunas pada nodus aksiler menjadi pesat. Menurut Ruttink *et al.* (2007) pada nodus apikal terdapat penumpukan hormon tumbuh internal terutama auksin yang mempengaruhi pertumbuhan tunas. Akibat penumpukan hormon di bagian pucuk tersebut, maka pengaruh hormon di bagian mata tunas aksiler menjadi lemah, sehingga memunculkan fenomena yang disebut “dominansi apikal.”

#### *Pertumbuhan dan pengakaran tunas*

Tunas-tunas hasil multiplikasi setelah dikulturkan selama enam minggu telah menampakkan pertumbuhan dan perkembangan cukup pesat yang mencapai lebih

dari 3-4 kali lipat dari awal kultur yang tingginya hanya 5 mm (Gambar 1f). Pada parameter tinggi tunas dan jumlah daun perbedaannya tidak signifikan untuk semua konsentrasi ZPT dengan uji jarak berganda Duncan pada  $\alpha = 0,05$  (Tabel 2). Rata-rata tinggi tunas tertinggi sebesar 22,21 mm yang diperoleh pada perlakuan IAA 5 mg/L, sedangkan jumlah daun tertinggi diperoleh pada perlakuan IAA 5 mg/L ataupun 10 mg/L. Persentase pengakaran tertinggi sebesar 90% diperoleh pada perlakuan IAA 10 mg/L.

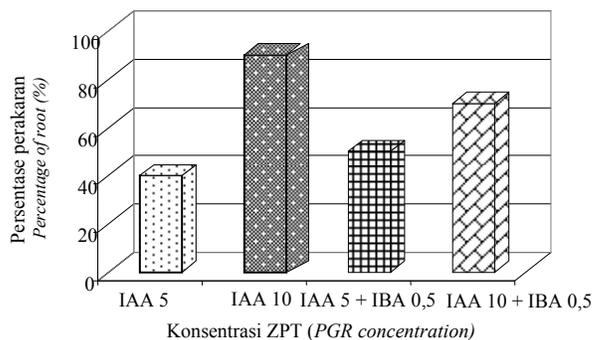
Pertumbuhan tinggi tunas mulai terlihat pada umur  $\pm 5$  hari dan berkembang cukup pesat pada umur 15 hari setelah tanam. Dari empat perlakuan konsentrasi ZPT yang diuji, hasilnya menunjukkan bahwa tinggi tunas pada semua perlakuan mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang cukup pesat meskipun perbedaannya tidak signifikan. Pemberian IAA secara tunggal dengan konsentrasi 5 mg/L pada kultur tunas kina telah cukup untuk memacu pertumbuhan

tinggi tunas. Peningkatan konsentrasi IAA dua kali lipat menjadi 10 mg/L tidak meningkatkan laju tinggi tunas. Penambahan auksin lain berupa IBA pada konsentrasi 0,5 mg/L juga tidak meningkatkan laju tinggi tunas (Tabel 2).

Pertumbuhan dan pertambahan daun mulai terlihat seminggu setelah kultur dengan adanya pertumbuhan tunas atau bakal daun baru. Pada awal kultur, rata-rata jumlah daun sebesar empat buah per tunas, dan enam minggu setelah kultur jumlah daun telah mencapai rata-rata 7,8 buah per tunas (Tabel 2). Daun-daun baru dapat tumbuh dan berkembang sempurna. Bentuk dan ukuran daun tersebut sesuai dengan besar tunas yang tumbuh. Menurut Webster *et al.* (2006), penggunaan kombinasi beberapa ZPT akan mempercepat dan meningkatkan hasil induksi tunas daun dalam kultur. Menurut Cestellnos *et al.* (2008), hormon tumbuh golongan auksin (IAA, NAA, IBA) sangat diperlukan dalam masa

pertumbuhan organogenesis termasuk pembentukan tunas daun.

Inisiasi akar adventif mulai terlihat 15 hari setelah kultur. Akar tersebut tumbuh mulai dari bagian distal tunas atau tepat pada permukaan medium. Setelah akar tersebut berkembang, akar baru tumbuh lagi di bagian bawahnya sehingga sistem akar menjadi besar atau lebat yang berbentuk serabut. Frekuensi pembentukan akar tertinggi sebesar 90% yang diperoleh pada perlakuan IAA sebesar 10 mg/L (Gambar 2). Pada konsentrasi IAA 5 mg/L frekuensi perakaran hanya 40%. Dengan demikian, pengaruh IAA secara tunggal dapat menginduksi perakaran tanaman kina Ledger. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Tahardi (1994), yang melaporkan keberhasilannya dalam menginduksi akar pada tanaman teh (*Camellia sinensis* L) dengan menggunakan auksin (berupa NAA) secara tunggal. Eksplan yang digunakan adalah tunas aksiler pada medium WP dengan



Gambar 2. Persentase planlet kina (*C. ledgeriana* Moens) yang berakar pada medium pembesaran setelah enam minggu.

Figure 2. Root percentage of cinchona plantlet (*C. ledgeriana* Moens) on development media after six-week-old.

dengan penambahan NAA pada konsentrasi 1 – 3 mg/L secara tunggal, mampu menghasilkan akar sampai 82%. Muhit (2007) melaporkan hasil penelitiannya dalam menginduksi akar tanaman beberapa varietas krisan yang menggunakan IAA konsentrasi 0,5 mg/L pada medium MS berkonsentrasi 50% unsur makro. Akar tanaman krisan tersebut tumbuh setelah 1 – 4 minggu.

Penggunaan IAA 5 mg/L bersama IBA 0,5 mg/L dapat meningkatkan persentase perakaran. IAA pada konsentrasi 5 mg/L secara tunggal menghasilkan frekuensi perakaran 40%, namun pada kombinasi IAA 5 mg/L dengan IBA 0,5 mg/L dapat meningkat menjadi 50%. Dengan demikian, pemberian IBA dalam medium yang dikombinasikan dengan IAA 5 mg/L dapat meningkatkan laju induksi pengakaran pada tanaman kina Ledger. Namun, pada konsentrasi IAA 10 mg/L yang dikombinasikan dengan IBA 0,5 mg/L tidak dapat meningkatkan persentase perakaran justru menurunkan. Hal ini dimungkinkan bahwa untuk induksi perakaran tanaman kina Ledger menggunakan IAA konsentrasi 10 mg/L sudah melebihi kebutuhan optimal jika ditambahkan auksin lagi seperti IBA 0,5 mg/L. Menurut Holiday (2004) dan Cestellmor *et al.* (2008), auksin sangat diperlukan dalam pertumbuhan organogenesis termasuk dalam pembentukan akar. Kombinasi ZPT antara beberapa jenis auksin dengan konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan hasil inisiasi dan induksi akar pada kultur tanaman.

#### *Aklimatisasi Planlet*

Semua planlet diseleksi berdasarkan perkembangan daun dan tunas serta pertumbuhan akar yang memadai untuk aklimatisasi. Planlet kina pada tahap I tersebut dapat tumbuh dan berkembang pada medium aklimatisasi yang digunakan sehingga perlu dipindah lagi ke polibag yang ukurannya lebih besar (diameter 20 cm). Setelah empat minggu bibit tersebut dikeluarkan dari kotak kaca, kemudian ditempatkan di dalam rumah kaca dengan intensitas cahaya yang lebih tinggi (tahap II) selama empat minggu. Pertumbuhan dan perkembangan planlet pada tahap II semakin cepat dan tampak lebih kuat dan jagur (Gambar 1g).

Pada aklimatisasi tahap I rata-rata tingkat kematian planlet relatif tinggi yaitu  $\pm 40\%$  dari 30 bibit. Sedangkan pada aklimatisasi tahap II tingkat kematian planlet sudah menurun pesat yaitu  $\pm 10\%$  dari 18 bibit. Hasil ini dimungkinkan karena pada medium tumbuh dengan perbandingan tanah dan pasir 1:1 merupakan medium yang sesuai bagi serapan air, ketersediaan unsur hara maupun kondisi lingkungan perakaran planlet tanaman kina. Sampai akhir aklimatisasi tahap II planlet tanaman kina mampu tumbuh dan berkembang dan siap dipindahkan ke tempat persemaian lapang sampai siap transplanting di lapangan. Pada umur 16 minggu, tinggi bibit kina mencapai  $\pm 40$  cm dengan jumlah daun lebih dari 10 helai sehingga bibit tersebut telah siap ditransplanting di lapang.

### Kesimpulan

Tanaman kina (*Cinchona ledgeriana* Moens) dapat diperbanyak secara *in vitro* dengan multiplikasi tunas aksiler maupun apikal. Pada tunas aksiler, tingkat multiplikasi tertinggi selama empat minggu rata-rata mencapai 11,6 kali (pada perlakuan BA 1 mg/L + IBA 0,1 mg/L), selanjutnya pada umur delapan minggu meningkat pesat menjadi 24,6 kali (pada perlakuan BA 3 mg/L + IBA 0,1 mg/L). Untuk tunas apikal, tingkat multiplikasinya lebih rendah yaitu 6,6 kali selama empat minggu (pada perlakuan BA 2 mg/L + IBA 0,1 mg/L) dan 17,2 kali selama delapan minggu (pada perlakuan BA 5 mg/L + IBA 0,1 mg/L).

Tunas-tunas tersebut mengalami pertumbuhan dan perkembangan normal yang tercermin pada tinggi tunas, jumlah daun dan sistem perakaran. Planlet kina tersebut telah berhasil diaklimatisasi pada medium campuran tanah dan pasir dengan perbandingan 1 : 1 dengan tingkat keberhasilan 75%.

### Daftar Pustaka

- Avivi, S. & Ikrarwati (2004). Mikropropagasi pisang abaca (*Musa textilis* Nee) melalui teknik kultur jaringan. *Ilmu Pertanian*, **11** (2), 27-34.
- Cestellanos, M., B. Power & M. Davery (2008). Tissue culture technologies for micropropagation, *in vitro* regeneration and genetic improvement of poinsettia. *Propagation on Ornamental Plants*, **8** (4), 173-185.
- Halliday, K. J. (2005). Plant Hormones: The Interplay of Brassinosteroids and Auxin. *Curr. Biol.*, **14** (23), R1008-R1010.
- Han, Y.S., R.V.D. Heijden, A.W.M. Lefeber, C. Erkelens & R. Verpoorte (2002). Biosynthesis of anthraquinones in all cultures of *Cinchona* 'robusta' proceeds via the methylerythritol 4-phosphate pathway. *Phytochem.*, **59** (1), 45-55.
- Hunter, C.S. (1988). *Cinchona* spp. : Micropropagation, and the *in vitro* production of quinine and quinidine. In: Bajaj, Y.P.S. (ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol. 4: Medicinal and Aromatic Plants I*. New York. Springer-Verlag.
- Krikorian, A.D., M. Singh & C. E. Quinn (1982). Aseptic micropropagation of *Cinchona*: Prospects and problems. In: Rao, A.N. (ed.) *Tissue Culture of Economically Important Plants. Proc. Int'l. Symp.*, National University of Singapore, 28-30 April 1981.
- Muhit, A. (2007). Teknik produksi tahap awal benih vegetatif krisan (*Chrysanthemum morifolium* R). *Bul. Teknik Pertanian*, **12** (1), 14-18.
- Murashige, T. & F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-479.
- Riyadi, I & J.S. Tahardi (2005). Pengaruh NAA dan IBA terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas kina (*Cinchona succirubra*). *J. Bioteknologi Pertanian*, **10**(2), 45-50.
- Ruttink, T., M. Arend, K. Morreel, V. Storme, S. Rombauts, J. Fromm, R.P. Bhalerao, W. Boerjan & A. Rohde (2007). A Molecular Timetable for Apical Bud Formation and Dormancy Induction in Poplar. *Plant Cell*, **19**, 2370-2390.
- Santoso, J., N. Toruan-Mathius, U. Sastraprawira, G. Suryatmana & D. Saodah (2004). Perbanyakan tanaman kina *Cinchona ledgeriana* Moens dan

*Perbanyak in vitro tanaman kina (Cinchona ledgeriana Moens) melalui tunas....*

- C. succirubra* Pavon melalui pengandaan tunas aksiler. *Menara Perkebunan*, **72** (1), 11-25.
- Staba, E.J. & A.C. Chung (1981). Quinine and quinidin production by cinchona leaf, root and unorganized cultures. *Phytochem.* **20** (11), 2495-2498.
- Sukasmono, M., Suhawijaya & A. L. Supartoyono (1980). Setek sambungan kina hasil pengujian di lapangan. *Warta BPTK.*, **6**(1/2), 105-109.
- Sumaryono & I. Riyadi (2005). Pertumbuhan biak kalus dan suspensi sel tanaman kina (*Cinchona ledgeriana* Moens). *Menara Perkebunan*, **73** (1), 1-11.
- Tahardi, J.S. (1994). Micropropagation of tea through shoot proliferation from excised axillary buds. *Menara Perkebunan*, **62** (2), 20-24.
- Webster, S.A., S.A. Mitchell, W.A. Reid & M. H. Ahmad (2006). Somatic embryogenesis from leaf and zygotic embryo explants of *Blighia sapida* 'cheese' ackee. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*, **42**, 467-472.
- Widayat, W. (2000). Peluang pasar dan perkembangan industri kina Indonesia. In M. Martono *et al.* (eds.) *Pros. Seminar Sehari Pengembangan Perkebunan Indonesia, Buku II: Pengembangan Kina Nasional*. Bandung, 3 Agustus 2000. p. 4-10.