

Pengaruh periode pra-kondisi dan penutupan sungkup terhadap daya hidup planlet karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg)

Effect of pre-condition period and vessel closure on the survival rate of rubber (Hevea brasiliensis Muell. Arg) plantlets

Masna Maya SINTA^{*)}, NURHAIMI-HARIS & SUMARYONO

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Jl. Taman Kencana No. 1, Bogor 16128 Indonesia

Diterima tanggal 7 Januari 2013/disetujui tanggal 27 Maret 2013

Abstract

Acclimatization of plantlets is a critical stage in the micropropagation of many plants. An experiment was conducted to determine the effect of pre-condition period and vessel closure on the growth and survival rate of rubber (Hevea brasiliensis Muell.Arg.) plantlets derived from in vitro microcutting during acclimatization. Plantlets were planted in plastic pots containing mixed growing media after being conditioned in ex vitro environment for 0, 3 and 6 days. Five closure vessel treatments were closed pots placed in opened container, opened pots in closed glass container, closed pots in closed glass container, opened pots in closed plastic container, and closed pots in closed plastic container. Observation on leaf conditions, rooting frequency, and plant height were conducted at 1.5 months and on the percentage of survive plantlets at 1.5 and 3 months after acclimatization. The results showed that pre-condition was required to increase survival rate and growth of the plantlets. Pre-condition period of six days gave a higher survival rate than 0 and 3 days which reached 100% and 93% on opened pot in closed plastic container and closed pot in opened container, respectively after 1.5 months and was reduced to 80% after three months of acclimatization. The highest formation of new leaves and roots were also obtained on six days pre-condition period. Plantlets with pre-condition for six days and were planted on closed pots in an opened container had the best rooting frequency which was 90%. The result showed that the highest survival rate (80%) of rubber plantlets after three months was obtained when the plantlets were pre-conditioned in ex vitro conditions for six days before acclimatization and planted on opened pots in a closed plastic container or closed pots in an opened container.

[Keywords: Pre-condition, in vitro, rootstock, vessel closure, acclimatization]

Abstrak

Aklimatisasi planlet merupakan tahap kritis dalam mikropopagasi tanaman. Penelitian dilakukan untuk menentukan pengaruh periode pra-kondisi dan penyungkupan terhadap pertumbuhan dan daya hidup planlet karet (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.) asal stek mikro (*in vitro* microcutting) selama aklimatisasi. Planlet ditanam pada pot plastik berisi campuran media tanam setelah dikondisikan lebih dahulu pada lingkungan luar selama 0, 3 dan 6 hari. Lima perlakuan penyungkupan adalah penanaman planlet pada pot tertutup diletakkan dalam wadah terbuka, pot terbuka dalam wadah kaca tertutup,

pot tertutup dalam wadah kaca tertutup, pot terbuka dalam wadah plastik tertutup dan pot tertutup dalam wadah plastik tertutup. Pengamatan keadaan daun, pembentukan akar dan tinggi tanaman dilakukan pada 1,5 bulan, sedangkan persentase planlet yang hidup diamati pada 1,5 dan 3 bulan setelah aklimatisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa periode pra-kondisi diperlukan untuk meningkatkan daya hidup dan pertumbuhan planlet. Pra-kondisi selama enam hari memberikan daya hidup planlet lebih tinggi dibandingkan dengan 0 dan 3 hari yaitu 100% dan 93% pada perlakuan penanaman pada pot terbuka dalam wadah plastik tertutup dan pot tertutup dalam wadah terbuka setelah 1,5 bulan dan menjadi 80% setelah tiga bulan. Penambahan daun baru dan pembentukan akar tertinggi juga terdapat pada perlakuan pra-kondisi enam hari. Perlakuan pra-kondisi enam hari dengan pot tertutup yang diletakkan dalam wadah terbuka memperlihatkan persentase pembentukan akar yang paling baik yakni 90%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hidup planlet karet tertinggi (80%) pada umur tiga bulan diperoleh apabila planlet dipra-kondisi pada lingkungan *ex vitro* selama enam hari, kemudian ditanam pada pot terbuka dalam wadah plastik tertutup atau pot tertutup dalam wadah terbuka.

[Kata kunci: Pra-kondisi, *in vitro*, batang bawah, penyungkupan, aklimatisasi]

Pendahuluan

Seiring dengan meningkatnya kebutuhan batang bawah tanaman karet, ketersediaan biji tidak mencukupi lagi karena selain tergantung pada jenis klon tertentu juga pada musim biji yang hanya berlangsung satu kali dalam setahun. Kelemahan lain penggunaan bibit karet asal biji sebagai batang bawah adalah adanya keragaman batang bawah sehingga potensi produksi dan karakter unggul lain dari batang atas tidak muncul karena ada perbedaan tingkat juvenilitas. Perbanyakkan klonal bahan tanam karet melalui stek mikro pada lingkungan kultur *in vitro* (*in vitro* microcutting) telah berhasil dilakukan menggunakan eksplan yang berasal dari tanaman asal biji (Carron *et al.*, 2000; Carron *et al.*, 2003). Bibit karet yang dihasilkan melalui teknik ini memiliki perakaran yang kuat dan kokoh. Pertanaman muda karet asal bibit stek mikro menunjukkan pertumbuhan yang seragam dan memiliki bentuk konikal pada batang bagian bawah (Carron *et al.*, 2000; Carron *et al.*, 2003) dan mampu memproduksi lateks 5,8 - 17% lebih tinggi

*) Penulis korespondensi: herculepoirot90@yahoo.com

dibandingkan dengan bibit asal okulasi (Dibi et al., 2010). Adaptasi teknik stek mikro karet di daerah tropik (Nurhaimi-Haris et al., 2008) menghadapi berbagai kendala, salah satunya adalah rendahnya daya hidup planlet saat diaklimatisasi (Sumaryono et al., 2008). Masalah yang sama juga dialami oleh berbagai jenis tanaman saat planlet dipindah ke kondisi *ex vitro* (Hazarika, 2003).

Pemindahan planlet dari kultur *in vitro* ke lingkungan *ex vitro* dengan kelembaban relatif rendah, intensitas cahaya yang tinggi dan kondisi planlet autotrof memerlukan suatu tahap adaptasi agar planlet tetap hidup dan berkembang (Pospisilova et al., 2007). Perlakuan pra-kondisi atau *hardening* yakni meletakkan planlet yang masih dalam tabung tertutup di lingkungan luar (*ex vitro*) bertujuan untuk memaparkan planlet ke lingkungan luar terutama fluktuasi suhu dan intensitas cahaya yang ekstrem tetapi tanpa kehilangan air karena masih dalam tabung tertutup. Perlakuan pra-kondisi juga telah dilakukan dengan hasil yang baik pada aklimatisasi planlet tembakau (Kadlecek et al., 2001), krisan (Nuraini, 2004), dan *Bambusa tulda* (Mishara et al., 2011).

Di samping faktor lingkungan luar, komposisi media tumbuh juga berpengaruh terhadap pertumbuhan dan daya hidup planlet pada tahap aklimatisasi. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penggunaan campuran media tanah, *cocopeat*, pupuk kandang dan zeolit dengan perbandingan 6:2:1:1 (v/v) dengan lama penyungkupan enam minggu meningkatkan daya hidup planlet karet asal stek mikro hingga mencapai 73,3% pada umur 1,5 bulan (Sumaryono et al., 2012). Namun, untuk produksi masal bibit kultur jaringan tanaman secara komersial, persentase daya hidup tersebut masih dianggap rendah.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh periode pra-kondisi dan penyungkupan terhadap pertumbuhan dan daya hidup planlet karet hasil stek mikro selama aklimatisasi ke lingkungan *ex vitro*.

Bahan dan Metode

Bahan tanaman

Planlet karet yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil stek mikro karet genotipe 2 dan 63 setelah mengalami induksi akar. Kedua genotipe tersebut adalah genotipe yang paling responsif dalam kultur stek mikro karet yang diseleksi dari 100 genotipe terpilih asal biji (Nurhaimi-Haris & Carron, 2007). Pra-kondisi dilakukan dengan meletakkan planlet yang masih berada dalam tabung kultur (Gambar 1a) di lingkungan luar (*ex vitro*) selama 0, 3 dan 6 hari sebelum diaklimatisasi. Perlakuan pra-kondisi dan aklimatisasi dilakukan di rumah plastik di bawah naungan

paranet yang dilengkapi dengan *sprinkler* untuk menurunkan suhu lingkungan pada saat udara panas di siang hari. Planlet dicuci hingga bersih dari sisa medium dan direndam dalam fungisida Benlate 0,2% selama satu menit untuk mencegah kontaminasi saat aklimatisasi. Ujung daun dipotong untuk mencegah transpirasi berlebihan dan sebagai penanda munculnya daun baru.

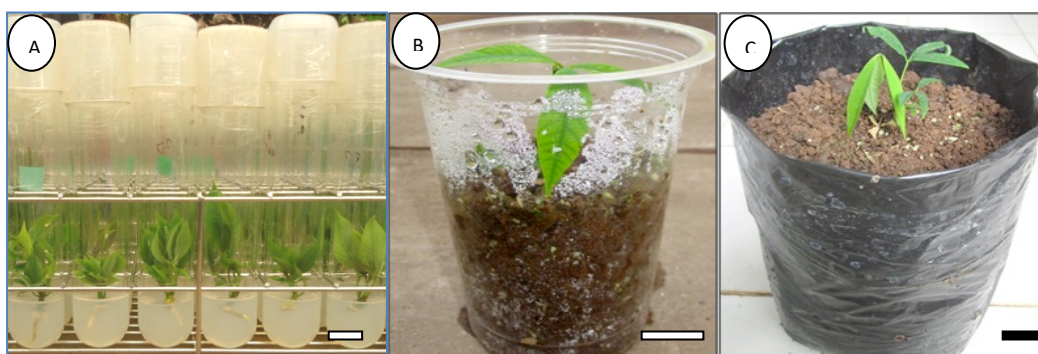
Pencatatan data awal dilakukan untuk mengetahui kondisi planlet pada saat aklimatisasi. Kondisi awal planlet yang diamati antara lain kelas akar, jumlah akar, kelas warna daun dan tinggi planlet. Pengamatan warna daun dilakukan menggunakan bagan warna IRRI (Anonim, 2006) untuk mengkuantitatifkan tingkat kehijauan warna daun. Daun dengan pigmentasi terendah (hijau muda) berada pada kelas dua sedangkan pigmentasi tertinggi (hijau tua) pada kelas lima. Planlet ditanam dalam pot plastik bening berbahan *polyethylene terephthalate* (tinggi 11 cm, diameter 8 cm) dan dipindah ke dalam polibeg (20 cm x 30 cm) setelah dua bulan. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah campuran tanah, *cocopeat*, pupuk kandang dan zeolit dengan perbandingan 6:2:1:1 (v/v) (Sumaryono et al., 2012). Pot kultur kemudian diletakkan dalam wadah plastik (panjang 44 cm, lebar 30 cm, tinggi 15 cm) dan wadah kaca (panjang 53 cm, lebar 30 cm, tinggi 36 cm). Pot kultur diletakkan dalam rumah plastik menggunakan paranet dengan tingkat naungan 60%.

Desain penelitian

Jumlah planlet yang digunakan sebanyak 225 planlet dengan tiga perlakuan periode pra-kondisi yaitu 0, 3 dan 6 hari, serta lima perlakuan penyungkupan yaitu pot tertutup diletakkan dalam wadah plastik terbuka, pot terbuka dalam wadah kaca tertutup (Gambar 2a), pot tertutup dalam wadah kaca tertutup, pot terbuka dalam wadah plastik tertutup, dan pot tertutup dalam wadah plastik tertutup (Gambar 2b). Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 15 ulangan tiap perlakuan. Daya hidup planlet diamati pada 1,5 dan 3 bulan setelah aklimatisasi. Parameter pertumbuhan planlet yakni kondisi daun, tinggi planlet dan akar diamati setelah 1,5 bulan. Kondisi daun ditentukan berdasarkan kerontokan daun dan terbentuknya daun baru, dengan nilai 0 = daun rontok (tanpa daun), 1 = daun lama (belum terbentuk daun baru), 2 = terbentuk daun baru.

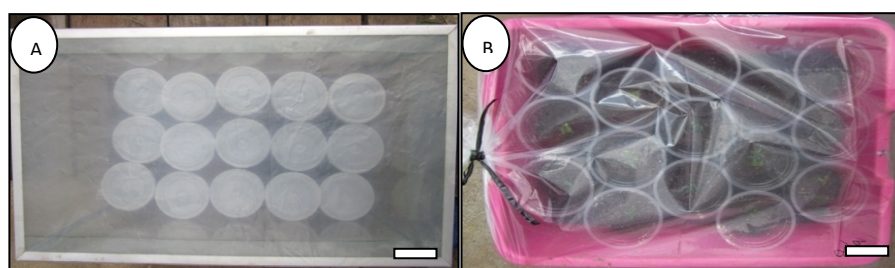
Hasil dan Pembahasan

Daya hidup planlet karet hasil stek mikro saat aklimatisasi semakin meningkat dengan meningkatnya periode pra-kondisi (Gambar 3). Setelah 1,5 b.



Gambar 1. Aklimatisasi planlet karet asal stek mikro, (A). pra-kondisi planlet sebelum diaklimatisasi, (B). setelah 1,5 bulan dalam pot plastik, dan (C). setelah tiga bulan dalam polibeg. Bar = 1 cm.

Figure 1. Acclimatization of rubber plantlets derived from microcutting, (A). pre-condition of plantlets prior to acclimatization, (B). after 1.5 month on a plastic pot, and (C). after three months on a plastic bag. Bar = 1 cm.



Gambar 2. Dua dari lima metode penyungkupan: (A). pot tertutup dalam wadah kaca tertutup, (B). pot terbuka dalam wadah plastik tertutup. Bar = 5 cm.

Figure 2. Two out of five vessel closure treatments: (A). closed pot in closed glass container, (B). open pot in closed plastic container. Bar = 5 cm.

bulan, daya hidup paling rendah tampak pada perlakuan tanpa pra-kondisi (0 hari), dengan rata-rata 40-46%. Daya hidup planlet dengan pra-kondisi tiga hari berkisar antara 60 dan 73% dan dengan pra-kondisi enam hari berkisar 73 dan 100%. Kondisi planlet pada umur 1,5 bulan setelah diaklimatisasi disajikan pada Gambar 1. Planlet beradaptasi pada lingkungan aklimatisasi selama periode pra-kondisi, dengan medium pertumbuhan masih seperti kondisi *in vitro*. Pada perlakuan pra-kondisi planlet telah terpapar pada lingkungan *ex vitro*, tetapi masih berada dalam botol dengan media kultur yang kaya hara mineral dan kelembaban udara masih tinggi. Pra-kondisi selama enam hari paling baik dilakukan untuk meningkatkan daya hidup planlet karet. Kondisi ini memungkinkan planlet beradaptasi terhadap lingkungan *ex vitro* secara bertahap sebelum dipindah ke media baru. Kondisi lingkungan aklimatisasi yang sangat berbeda dengan kultur *in vitro* mempengaruhi daya hidup planlet (Pospisilova *et al.*, 2007). Kondisi transisi diperlukan untuk meningkatkan daya hidup planlet, yaitu dengan memanipulasi lingkungan dengan penggunaan sungkup yang sesuai.

Penanaman planlet pada pot terbuka dalam wadah plastik tertutup dan pot tertutup dalam

wadah kaca tertutup mampu mempertahankan kelembaban relatif yang tinggi dan menjaga kondisi lingkungan, sehingga mengurangi terjadinya stres pada saat aklimatisasi. Kondisi lingkungan yang sesuai dikombinasikan dengan penguatan planlet melalui perlakuan pra-kondisi terbaik mampu meningkatkan daya hidup. Daya hidup planlet karet dengan sistem tanam pada pot terbuka dalam wadah plastik tertutup dan pot tertutup dalam wadah kaca tertutup (Gambar 2) dengan pra-kondisi enam hari menunjukkan daya hidup planlet yang tinggi (100%) setelah 1,5 bulan (Gambar 3). Persentase daya hidup planlet karet ini lebih tinggi dari hasil yang diperoleh sebelumnya yakni sekitar 73,3% (Sumaryono *et al.*, 2012).

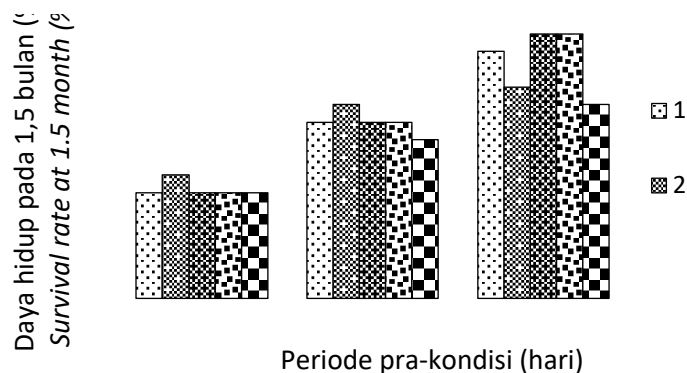
Beberapa penelitian adaptasi lingkungan telah dilakukan pada tanaman lain untuk meningkatkan daya hidup planlet. Daya hidup planlet krisan (*Chrysanthemum morifolium*) meningkat setelah dilakukan pra-kondisi selama tujuh hari pada ruangan tidak berpendingin (AC) dan diletakkan dekat jendela (Nuraini, 2004). Aklimatisasi bertahap juga telah dilakukan pada *Bambusa tulda* Roxb. dan mampu meningkatkan daya hidup planlet selama aklimatisasi hingga 91% (Mishara *et al.*, 2011).

Gambar 4. menunjukkan kondisi daun planlet karet setelah 1,5 bulan berdasarkan kerontokan daun dan kemunculan daun baru. Pada perlakuan pra-kondisi enam hari daun baru rata-rata terbentuk setelah 1,5 bulan. Pada pra-kondisi tiga hari umumnya belum terbentuk daun baru dan tidak terjadi kerontokan daun, sedangkan pada perlakuan tanpa pra-kondisi responsnya bervariasi. Tanpa pra-kondisi, planlet yang ditanam dalam pot tertutup dalam wadah plastik tertutup sebagian telah memiliki daun baru, bahkan lebih baik dibandingkan dengan penyungkupan yang sama pada pra-kondisi tiga dan enam hari. Kecuali planlet yang ditanam dalam wadah plastik tertutup tanpa pra-kondisi, kondisi daun planlet tidak banyak dipengaruhi oleh cara penyungkupan, tetapi lebih dipengaruhi oleh ada dan tidak adanya tahapan pra-kondisi. Hal ini bisa dimengerti karena daun mengalami perubahan selama periode pra-kondisi yang menyebabkan daun menjadi lebih kuning. Pra-kondisi planlet dilakukan pada media *in vitro* yang sama, yaitu media penginduksi akar (Nurhaimi-Haris & Carron, 2007) yang digunakan selama satu minggu. Periode induksi akar yang lebih lama dikhawatirkan akan menyebabkan perubahan warna daun menjadi lebih pucat (klorosis) atau rontok (nekrosis).

Pra-kondisi juga mempengaruhi induksi perakaran. Gambar 5 menunjukkan pengaruh periode pra-kondisi terhadap induksi planlet setelah 1,5 bulan. Planlet yang diaklimatisasi pada umumnya belum berakar (82,2% belum berakar) meski sudah dilakukan induksi akar selama satu minggu saat kultur *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa penanaman planlet karet pada pot tertutup dalam wadah plastik terbuka dengan pra-kondisi enam hari mampu menginduksi akar hingga 81,8%.

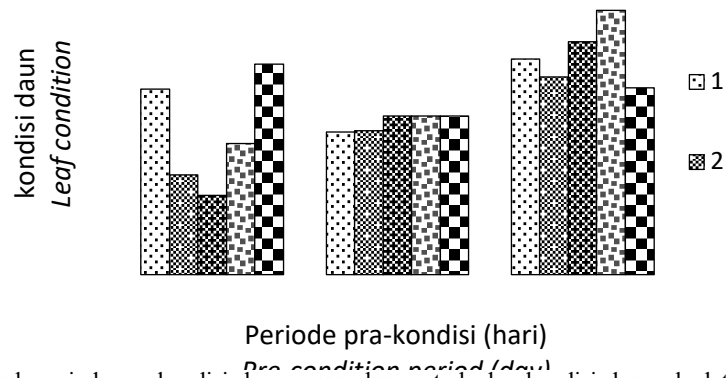
Keberadaan akar penting dalam menunjang daya hidup planlet, sehingga pada perlakuan tersebut, daya hidup planlet setelah tiga bulan juga masih tinggi, yaitu 80% setara dengan perlakuan penanaman planlet pada pot terbuka dalam wadah plastik tertutup (Gambar 5). Planlet yang telah memiliki akar akan lebih mudah beradaptasi pada saat aklimatisasi sehingga dilakukan induksi akar dalam kondisi *in vitro* pada planlet yang belum berakar sebelum aklimatisasi (Nizam & Te-Chato, 2009).

Penelitian induksi akar juga pernah dilakukan oleh Ebrahim *et al.* (2007) pada kopi (*Coffea arabica* L) untuk meningkatkan daya hidup planlet hingga 100%. Setelah tiga bulan dalam lingkungan *ex vitro*, daya hidup planlet karet dengan pra-kondisi enam hari masih tetap paling tinggi (Gambar 6). Planlet yang mampu beradaptasi dengan baik terhadap kondisi lingkungan akan mampu bertahan hidup dan menjalankan proses fisiologis dengan baik. Daya hidup tertinggi setelah tiga bulan pada penelitian ini didapatkan pada perlakuan penanaman planlet pada pot tertutup dalam wadah plastik terbuka dan pot terbuka dalam wadah plastik tertutup, dengan daya hidup mencapai 80%. Akar terinduksi dengan baik pada planlet yang ditanam pada pot tertutup dalam wadah plastik terbuka dengan pra-kondisi enam hari selama 1,5 bulan (Gambar 5), sehingga planlet menjadi lebih kuat dan persentase kematian planlet rendah pada umur tiga bulan. Daun baru pada perlakuan penanaman dalam pot terbuka dalam wadah plastik tertutup terbentuk setelah 1,5 bulan (Gambar 4), oleh karena itu daya hidup planlet tetap tinggi meskipun induksi akar pada perlakuan tersebut rendah (Gambar 5).



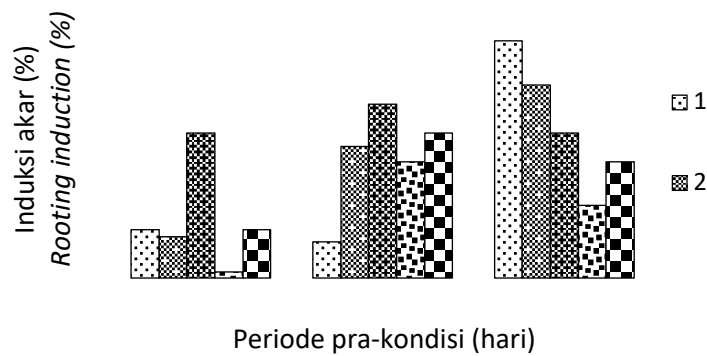
Gambar 3. Pengaruh periode pra-kondisi dan penyungkupan terhadap daya hidup planlet karet setelah 1,5 bulan. Lima perlakuan penyungkupan: (1). Pot tertutup dalam wadah plastik terbuka, (2). Pot terbuka dalam wadah kaca tertutup, (3). Pot tertutup dalam wadah kaca tertutup, (4). Pot terbuka dalam wadah plastik tertutup, dan (5). Pot tertutup dalam wadah plastik tertutup.

Figure 3. Effect of pre-condition period and vessel closure on the survival rate of rubber plantlets after 1.5 month. Five vessel closure treatments: (1). Closed pot in open plastic container, (2). Open pot in closed glass container, (3). Closed pot in closed glass container, (4). Open pot in closed plastic container, and (5). Closed pot in closed plastic container.



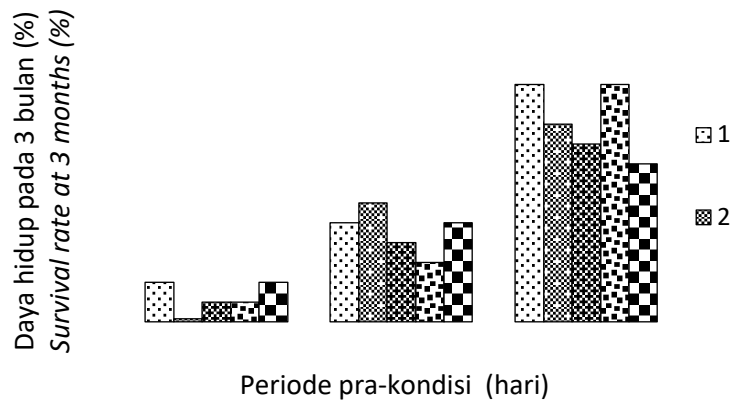
Gambar 4. Pengaruh periode pra-kondisi dan penyungkupan terhadap kondisi daun planlet karet setelah 1,5 bulan. Keterangan perlakuan penyungkupan sama dengan catatan pada Gambar 3. Kondisi daun: 0 = tanpa daun, 1= daun lama, 2 = terbentuk daun baru.

Figure 4. Effect of pre-condition period and vessel closure on the leaf conditions of rubber plantlets after 1.5 month. Description of vessel closure treatment is the same as the note at Figure 3. Leaf conditions: 0=without leaf, 1=old leaves, 2=new leaves were formed.



Gambar 5. Pengaruh periode pra-kondisi dan penyungkupan terhadap induksi akar planlet karet setelah 1,5 bulan. Keterangan perlakuan penyungkupan sama dengan catatan pada Gambar 3.

Figure 5. Effect of pre-condition period and vessel closure on rooting induction of rubber plantlets after 1.5 month. Description of vessel closure treatments is the same as the note at Figure 3.



Gambar 6. Pengaruh periode pra-kondisi dan penyungkupan terhadap persentase daya hidup planlet karet setelah tiga bulan. Keterangan perlakuan penyungkupan sama dengan catatan pada Gambar 3.

Figure 6. Effect of pre-condition periods and vessel closure on the survival rate of rubber plantlets after three months. Description of vessel closure treatments is the same as the note at Figure 3.

Setelah tiga bulan semua planlet telah berakar dan sebagian besar telah membentuk daun baru berwarna hijau muda (Gambar 1c). Penggunaan wadah plastik pada penelitian ini lebih baik dibandingkan dengan wadah kaca, hal ini diduga karena pada wadah yang terbuat dari kaca, suhu di dalam wadah meningkat. Kaca mampu menahan panas, sehingga suhu di dalam wadah lebih panas yang berakibat meningkatnya kematian planlet karet.

Aklimatisasi merupakan periode kritis setelah proses *in vitro* di laboratorium. Perubahan media dari keadaan heterotrof menjadi autotrof serta perubahan lingkungan yang ekstrem dari lingkungan terkondisi di dalam ruangan ke lingkungan tak terkondisi di luar ruangan menyebabkan rendahnya daya hidup planlet hasil kultur *in vitro* (Hazarika, 2003; Pospisilova et al., 2007). Penelitian untuk mengoptimalkan aklimatisasi dilakukan oleh Chen et al. (2006) dengan penggunaan penutup botol kultur berventilasi yang mampu meningkatkan daya hidup *Scrophularia yoshimurae* hingga 66,7%. Perlakuan pra-kondisi pada planlet karet hasil stek mikro dilakukan untuk menguatkan planlet sebelum tahap induksi perakaran dan aklimatisasi, serta untuk menghilangkan komponen bahan kimia tertentu seperti zat pengatur tumbuh yang terakumulasi pada saat kultur *in vitro* (Nurhaimi-Haris & Carron, 2007). Di samping itu, peningkatan kualitas planlet karet dapat dilakukan dengan menggunakan *micro-box* yang tutupnya dilengkapi filter sehingga pertukaran udara terjadi dengan lebih baik (Nurhaimi-Haris et al., 2011). Penggunaan *microbox* tersebut menyebabkan planlet mempunyai morfologi, stomata dan kandungan klorofil yang lebih baik dibandingkan dengan planlet yang ditumbuhkan dalam tabung tertutup rapat. Kualitas planlet yang baik selama proses *in vitro* turut menentukan keberhasilan proses aklimatisasi (Zobayed, 2005).

Kesimpulan

Planlet karet hasil stek mikro dengan perlakuan pra-kondisi selama enam hari sebelum aklimatisasi memiliki daya hidup yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan pra-kondisi 0 atau 3 hari. Planlet karet dengan pra-kondisi enam hari yang ditanam pada pot terbuka dalam wadah plastik tertutup atau pada pot tertutup dalam wadah plastik terbuka memiliki daya hidup tertinggi yaitu 80% setelah tiga bulan, sehingga kedua perlakuan penyungkupan ini dapat direkomendasikan untuk aklimatisasi planlet karet hasil stek mikro.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PT Perkebunan Nusantara III atas kerjasama penelitian yang dilakukan.

Daftar Pustaka

- Anonim (2006). *Bagan Warna Daun*. Diunduh dari: <http://www.knowledgebank.irri.org/indonesia/JuknisBWD.pdf>, [22 September 2011].
- Carron MP, L Lardet, A Leconte, C Boko, BG Dea & J Keli (2003). Field growth and rubber yield of *Hevea brasiliensis* (Muell. Arg.) from budded versus *in vitro* micropropagated plants from clone IRCA 18. In: Economou & Read (eds.). *Proc the First Internat. Symp on Acclim & Establish of Micropropagated Plants* p. 283-293.
- Carron MP, Y Le Roux, J Tison, BG Dea, V Caussanel, J Clair & J Keli (2000). Compared root system architectures in seedlings and *in vitro* plantlets of *Hevea brasiliensis*, in the initial years of growth in the field. *Plant & Soil* 223(2), 73-85.
- Chen U, CH Hsia, DC Agrawal & HS Tsay (2006). Influence of ventilation closures on plant growth parameters, acclimation and anatomy of leaf surface in *Scrophularia yoshimurae* Yamazaki - a medicinal plant native to Taiwan. *Bot Studies* 47, 259-266.
- Dibi K, C Boko, S Obouayeba, M Gnagne, GB Dea, MP Carron & AP Anno (2010). Field growth and rubber yield of *in vitro* micropropagated plants of clones PR 107, IRCA 18 and RRIM 600 of *Hevea brasiliensis* (Muell. Arg.). *Agric Biol J North America* 1(6), 1291-1298.
- Ebrahim N, R Shibli, I Makhadameh, M Shatnawi & A Abu-Ein (2007). *In vitro* propagation and *in vivo* acclimatization of three coffee cultivars (*Coffea arabica* L.) from Yemen. *J World Appl Sci* 2(2), 142-150.
- Hazarika BN (2003). Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current Sci* 85(12), 1704-1712.
- Kadlecek P, I Ticha, D Haisel, V Capkova & C Schafer (2001). Importance of *in vitro* pretreatment for *ex vitro* acclimatization and growth. *Plant Sci* 161, 695-701.
- Mishara Y, P Patel & SA Ansari (2011). Acclimatization and micropropagation of micropropagated plants of *Bambusa tulda* Roxb. *Asian J Exp Biol Sci* 2(3), 498-501.
- Nizam K & S Te-Chato (2009). Optimizing of root induction in oil palm plantlets for acclimatization by some potent plant growth regulators (PGRs). *J Agric Technol* 5(2), 371-383.
- Nuraini (2004). Upaya aklimatisasi planlet krisan (*Chrysanthemum morifolium*): Pengaruh prakondisi, media tanam dan jenis naungan. *Tesis*, Palembang, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sriwijaya.

- Nurhaimi-Haris & MP Carron (2007). Toward the development of rootstock clones for high productivity in rubber plants (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.). *Progress Report*. Indonesian Biotechnol Res Inst for Estate Crops
- Nurhaimi-Haris, Sumaryono, PD Kasi, Siswanto, Sumarmadji & MP Carron (2008). Achievements in the implementation of microcutting technology for clonal rubber rootstock propagation. *In: Proc Internat Workshop Rubber Planting Materials*. Bogor, 28-29 October 2008, p.117-128.
- Nurhaimi-Harris, NS Ayuningtyas & JH Suparto (2011). Pengaruh ventilasi terhadap morfologi, stomata dan kadar klorofil tunas karet yang diperbanyak melalui *microcutting*. *Menara Perkebunan* 79(2), 58-64.
- Pospisilova J, H Synkova, D Haisel & S Semoradova (2007). Acclimation of plantlets to *ex vitro* conditions: Effects of air humidity, irradiance, CO₂ concentration and abscisic acid (a review). *Acta Hort* 748, 29-38.
- Sumaryono, PD Kasi, Nurhaimi-Haris & MP Carron (2008). Aklimatisasi planlet karet yang diperbanyak melalui teknologi *microcutting*. *Dalam: Pros Lokakarya Nasional Agribisnis Karet*, Yogyakarta, 20-21 Agustus 2008, p.323-329.
- Sumaryono, MM Sinta & Nurhaimi-Haris (2012). Daya hidup planlet karet asal *in vitro microcutting* pada berbagai periode penutupan sungkup plastik dan komposisi media tumbuh. *Menara Perkebunan* 80(2), 25-31.
- Zobayed SMA (2005). Ventilation in micropopagation. *In: T. Kozai et al. (eds.) Photoautotropic (Sugar-Free Medium) Micropopagation as A New Micropropagation and Transplant Production System. The Netherlands*, Springer. p.147-186.