

**TOLERANSI MASAM *Vitex pubescens* VAHL. IN-VITRO DAN EX-VITRO**  
*In-Vitro and Ex-Vitro Acid Tolerance of Vitex pubescens*

**Asri Insiana Putri**

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan  
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582  
Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080

**ABSTRACT**

*This study aims to observe acid tolerance of Vitex pubescens culture growth. Planlet cultures were established from seeds on Murashige & Skoog medium supplemented with 1  $\mu$ M benzylaminopurin; 0,1  $\mu$ M kinetin and 0,01  $\mu$ M naphtalenaceticacid. The pH was adjusted to 5,7; 4,0 and 3,0. The mean height of planlet were 4,44 cm  $\pm$  0,32 for pH 5,7; 2,88 cm  $\pm$  0,54 for pH 4 and 1,10 cm  $\pm$  1,38 for pH 3. The mean length of root were 13,72 cm  $\pm$  0,47 for pH 5,7; 18,88 cm  $\pm$  0,60 for pH 4 and 19,27 cm  $\pm$  0,73 for pH 3. The mean number of branch roots per cm were 1,65  $\pm$  0,058 for pH 5,7; 3,88  $\pm$  0,18 for pH 4 and 0,57  $\pm$  0,30 for pH. After 12 weeks acclimatization in Yellow Red Podzolic (YRP) soil, the mean height of plant with pH 5,7 culture were 29,86 cm  $\pm$  0,64 and 26,72 cm  $\pm$  0,40 for pH 4 culture. In-vitro acid tolerance of Vitex pubescens were at pH 4 and can grow in ex vitro condition in YRP soil with pH 4,48.*

**Key Words :** *Acid tolerance, Vitex pubescens culture, Yellow Red Podzolic (YRP) soil*

**ABSTRAK**

Tujuan penelitian ini adalah mengamati toleransi masam pada pertumbuhan kultur *Vitex pubescens*. Kultur planlet berasal dari biji pada media *Murashige & Skoog* yang diperkaya dengan 1  $\mu$ M *benzylaminopurin*; 0,1  $\mu$ M *kinetin* dan 0,01  $\mu$ M *naphtalenaceticacid*. Kemasaman diatur pada nilai pH 5,7; pH 4,0 dan pH 3,0 sebagai perlakuan. Rata-rata penambahan tinggi planlet *V. pubescens* dengan perlakuan pH 5,7 adalah 4,44 cm  $\pm$  0,32; 2,88 cm  $\pm$  0,54 untuk perlakuan pH 4 dan 1,10 cm  $\pm$  1,38 untuk perlakuan pH 3. Rata-rata panjang akar planlet pada media pH 5,7 adalah 13,72 cm  $\pm$  0,47; 18,88 cm  $\pm$  0,60 untuk perlakuan pH 4 dan 19,27 cm  $\pm$  0,73 untuk perlakuan pH 3. Rata-rata jumlah cabang akar planlet tiap cm pada media pH 5,7 adalah 1,65  $\pm$  0,058; 3,88  $\pm$  0,18 untuk perlakuan pH 4 dan 0,57  $\pm$  0,30 untuk perlakuan pH 3. Setelah 12 minggu aklimatisasi di tanah Podzolik Merah Kuning (PMK), rata-rata tinggi tanaman dengan perlakuan pH kultur 5,7 adalah 29,86  $\pm$  0,64 dan 26,73  $\pm$  0,40 untuk perlakuan pH 4. Toleransi masam *V. pubescens in-vitro* adalah pada pH 4 dan dapat tumbuh normal pada kondisi *ex-vitro* di tanah PMK dengan pH 4,48.

**Kata Kunci :** *Toleransi masam, kultur Vitex pubescens, Podzolic Merah Kuning (PMK)*

## I. PENDAHULUAN

Tanah marginal masam di Indonesia diperkirakan seluas 39,4 juta Ha (dari 188,2 juta Ha total luas tanah), didominasi oleh lahan gambut yaitu sekitar 20,6 juta Ha (50% dari tanah gambut tropis dunia) dan sisanya merupakan tanah sulfat masam. Sebagian besar tanah masam tersebar di Sumatera, Kalimantan, Sulawesi dan Papua (Pusat Penelitian Tanah, 1981; Radjagukguk, 1991; Euro Consult, 1984). Gambut tropika Indonesia berbahan induk dari kayu hutan hujan tropika, merupakan biodegradasi bahan organik tumbuhan itu sendiri yang menghasilkan unsur hara dan asam-asam organik (Wershaw *et al.*, 1996). Asam organik seperti fenolat serta tapak pertukaran tanah yang didominasi ion hidrogen menyebabkan tanah bereaksi masam sampai sangat masam dengan pH kurang dari 4 (Barchia dan Sabiham, 2001).

Pada tanah masam yang dikelola dengan sistem tebas bakar untuk perladangan atau pertambangan menyebabkan menipisnya lapisan gambut dan terungkapnya lapisan pirit ke daerah permukaan sehingga menurunkan produktivitas lahan, lebih meningkatkan kondisi ekstrem masam dan meluasnya kebakaran hutan/alang-alang gambut (Fryer, 2002). Pemulihan lahan membutuhkan biaya sangat tinggi sehingga lahan menjadi terlantar dan akan ditumbuhi tumbuhan pioner dan akhirnya membentuk hutan sekunder yang tidak produktif (Barchia, 2002).

*Vitex pubescens* telah direkomendasikan sebagai salah satu pohon untuk reklamasi lahan marginal karena disamping merupakan tanaman pioner yang tahan kondisi kering juga mempunyai daya tahan yang cukup tinggi terhadap api/kebakaran (Fryer, 2002; de Jong, 1999;

Lemmens *et al.*, 1995). *V. pubescens* ditemui sebagai salah satu tanaman sekunder di lahan alang-alang masam Riam Kiwa, Kalimantan Selatan (Otsamo, 2000). Jenis ini termasuk kayu komersial untuk industri perkapalan, bangunan dan arang, dapat dijumpai hidup berkelompok atau terpencar di daerah Sulawesi, Maluku dan Papua (Martawijaya *et al.*, 1987).

Dalam upaya intensifikasi, telah banyak dilakukan pengujian secara *ex-vitro* maupun *in-vitro* untuk mendapatkan tanaman toleran di lahan masam. Siklus regenerasi yang panjang pada tanaman kehutanan menjadikan metode seleksi *in-vitro* digunakan sebagai alternatif untuk identifikasi dan regenerasi kultur sel/jaringan yang toleran masam (Widoretno, 2003). Tingginya sensitifitas sinyal terhadap induksi jaringan tanaman secara *in-vitro* juga menjadi pertimbangan dalam penelitian ini untuk mengamati toleransi adaptasi masam. Perubahan genetik atau karena adanya mutasi sel-sel jaringan induk dapat terjadi selama periode kultur *in-vitro* (Ahloowalia, 1986; Evans dan Sharp, 1986).

Asam fenolat berpengaruh utama pada tanah masam yang berakibat buruk terhadap serapan hara dan pertumbuhan tanaman. Pengaruh penting yang disebabkan bahan-bahan fitotoksik hasil pelapukan bahan organik di tanah masam terutama adalah penghambatan pertumbuhan dan nekrosis sel akar disamping mengganggu serapan hara, klorosis, tanaman layu dan mati (Patrick, 1971). Dengan demikian dalam rangka penyediaan bibit unggul tahan masam maka penelitian toleransi masam *Vitex pubescens* Vahl. *in-vitro* dan *ex-vitro* penting dilakukan.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan rumah kaca Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Purwobinangun, Yogyakarta.

### B. Bahan dan Peralatan

Bahan dan peralatan yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Bahan eksplan tanaman : biji campuran dari areal hutan *V. pubescens* di Kabupaten Bulukumba, Sulawesi Selatan.
2. Bahan kimia:
  - a. Hara makro dan mikro media MS (*Murashige & Skoog*) sukrosa dan *glycerite*.
  - b. Zat pengatur tumbuh sitokinin BAP (*Benzyl Amino Purin*) dan Kinetin (6-*Furfurylaminopurine*).
  - c. Vitamin *myo-inositol*, *glysine*, *nicotinic acid*, *thiamin-HCl*, *pyridoxyn-HCl*.
  - d. Larutan NaOH dan HCl
  - e. Bahan pembantu: alkohol, sublimat ( $\text{HgCl}_2$ ) dan *tween* 20.
3. Peralatan:

Peralatan di laboratorium: mikroskop, *lamina air flow*, *autoclave*, *aluminium foil*, *wrapping plastic*, *glove*, *masker*, kertas tissue, label, alat tulis. Peralatan di rumah kaca: *polybag*, *sprayer*, label, alat tulis.

### C. Prosedur Penelitian

Bahan tanaman yang diuji adalah kecambah steril pada media MS (*Murashige & Skoog*) yang diperkaya dengan 1  $\mu\text{M}$  *benzylaminopurin*; 0,1

$\mu\text{M}$  kinetin dan 0,01  $\mu\text{M}$  *naphtalenaceticacid* dengan 3 tingkatan pH yaitu pH 5,7; pH 4,0 dan pH 3,0 sebagai perlakuan. Masing-masing perlakuan 25 ulangan dengan 1 planlet tiap botol. Pengamatan *in-vitro* dilakukan melalui pertumbuhan planlet berdasarkan rata-rata tinggi planlet dari pangkal akar sampai ujung tunas tertinggi; panjang akar; jumlah cabang akar dari kultur aseptik setelah 16 minggu (3 kali subkultur setelah transfer planlet) dan pengamatan bulu akar dengan mikroskop.

Aklimatisasi planlet dilakukan pada media tanah Podzolik Merah Kuning (PMK) dengan pH  $\text{H}_2\text{O}$  4,48. Di rumah kaca, pemupukan dilakukan melalui daun dengan sitokinin *Novelgrow*. Pengamatan *ex-vitro* dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman setelah aklimatisasi 12 minggu di rumah kaca.

Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varians, apabila berbeda nyata analisis dilanjutkan dengan uji Duncan (*Least Significant Range Test*).

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan planlet *V. pubescens*

Pertumbuhan planlet ditunjukkan pada Tabel 1. Rata-rata penambahan tinggi terbaik terjadi pada pH 5,7 yaitu  $4,44 \text{ cm} \pm 0,32$ . Semakin rendah pH media, penambahan tinggi planlet semakin berkurang. Sampai dengan minggu ke-16, planlet dengan pH media 4 dan 5,7 tetap bertahan hidup; namun planlet dengan pH media 3, pada minggu ke-4 daun berubah menjadi kuning, layu dan pada minggu ke-5 seluruh planlet mati.

Tabel 1. Pengaruh pH terhadap rata-rata penambahan tinggi planlet *V. pubescens*.

| Perlakuan | Rata-rata penambahan tinggi (cm) | Standar deviasi | Standar error | Maks. (cm) | Min. (cm) | Keterangan                                                                               |
|-----------|----------------------------------|-----------------|---------------|------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| pH 5,7    | 4,44                             | 0,32            | 0,06          | 5,40       | 4,10      | Sampai minggu ke-16 tanaman tetap segar, daun berwarna hijau                             |
| pH 4      | 2,88                             | 0,53            | 0,10          | 3,98       | 2,13      | Sampai minggu ke-16 beberapa daun berwarna kuning, planlet tetap hidup                   |
| pH 3      | 1,10                             | 1,38            | 0,27          | 7,73       | 0,66      | Pada minggu ke-4 daun kuning dan layu, kemudian seluruh planlet mati setelah minggu ke-5 |

Masalah umum yang dihadapi pada pengaruh masam pada tanaman adalah keracunan Al (aluminium) dan kekahatan kation seperti  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}_2^+$  dan  $\text{Mg}_2^+$  (Huang *et al.*, 1992; Lazof *et al.*, 1994; Nichol *et al.*, 1993; Rengel dan Elliot, 1992; Ryan *et al.*, 1991). Media dengan pH di bawah 4,7 dapat menghambat ketersediaan fosfat, penyerapan besi dan pembelahan sel tanaman (Salisbury & Ross, 1995; Hakim *et al.*, 1986).

Hasil analisis varian pengaruh pH terhadap penambahan tinggi planlet *V. pubescens* ditunjukkan pada Tabel 2. Karena hasil nilai P yang lebih kecil dari alpha 0,05 maka menolak  $H_0$  dan antar perlakuan pH terhadap penambahan tinggi planlet berbeda nyata.

Tabel 2. Analisis varian pengaruh pH terhadap rata-rata penambahan tinggi planlet *Vitex pubescens*.  $\alpha$ : 0,05.

| Sumber Variasi | df | JK      | KT     | Nilai P |
|----------------|----|---------|--------|---------|
| Perlakuan      | 72 | 139,608 | 69,804 | 0,0001  |
| Galat          | 2  | 55,402  | 0,769  |         |
| Total          | 74 | 195,010 |        |         |

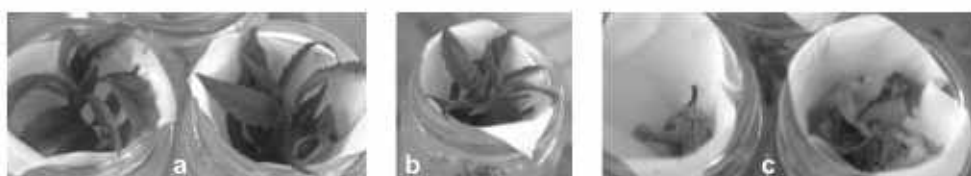
Pada uji Duncan ditunjukkan bahwa terdapat 3 kelompok yang berbeda dari masing-masing rata-rata penambahan tinggi planlet dengan pengaruh pH 5,7; pH 4 dan pH 3 (Tabel 3).

Tabel 3. Uji Duncan pengaruh pH terhadap rata-rata penambahan tinggi planlet *V. pubescens*.  $\alpha$ : 0,05.

| pH  | N  | 1      | 2      | 3      |
|-----|----|--------|--------|--------|
| 5,7 | 25 | 4,4432 |        |        |
| 4   | 25 |        | 2,8820 |        |
| 3   | 25 |        |        | 1,1036 |

Pertumbuhan planlet *V. pubescens* pada media dengan masing-masing perlakuan pH ditunjukkan pada Gambar 1. Pada pengamatan setelah minggu ke-5 menunjukkan bahwa masam di pH 3 telah memberikan pengaruh terhadap ketahanan planlet sampai dengan kematian jaringan.

Kemampuan bertahan *V. pubescens* pada pH 4 *in-vitro* dapat disebabkan beberapa mekanisme yaitu a). Eksklusi, tanaman dapat mengenal ion toksik dan mencegah agar tidak terambil



Gambar 1. Pengaruh pH 5,7 (a), pH 4 (b) dan pH 3 (c) terhadap planlet *V. pubescens*. (Foto : Putri A. I, 2008).



sehingga tidak mengalami toksisitas, b). Penanggulangan (ameliorasi), tanaman barangkali mengabsorpsi ion tersebut, tetapi bertindak sedemikian rupa sehingga pengaruhnya minimal dengan membentuk kelat (*chelation*), pengenceran, lokalisasi atau bahkan ekstraksi, c). Toleransi, tanaman dapat mengembangkan sistem metabolisme (kemungkinan dengan molekul-molekul enzim) yang dapat berfungsi pada konsentrasi yang potensial toksik. Mekanisme tersebut dapat berlangsung secara mandiri atau bersamaan (Kochian, 2005; Fitter dan Hay, 1991).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa melalui seleksi *in-vitro* terbukti dapat dihasilkan varietas baru yang lebih tahan terhadap faktor biotik dan abiotik dengan sifatnya yang diwariskan (Remotti *et al.*, 1995; Van den Bulk, 1991). Pada penelitian ini, *V. pubescens* dapat bertahan tumbuh pada pH 4 *in-vitro*, namun demikian masalah yang sering dihadapi dalam seleksi tanaman *in-vitro* adalah sulitnya regenerasi massa sel toleran Al dan pH rendah. Dengan demikian untuk penelitian selanjutnya penting dilakukan uji perbanyakan dan uji stabilitas ketahanan *V. pubescens* dengan pengaruh ion toksik Al pada media masam *in-vitro* maupun *ex-vitro*. Afinitas Al yang tinggi terhadap senyawa pendonor O<sub>2</sub> seperti nukleotida, RNA, DNA dan protein (Ma *et al.*, 1998), maka identifikasi gen yang terkait dengan mekanisme fisiologis toleran

Al perlu dilakukan untuk tujuan pemuliaan tanaman tahan masam.

## B. Pengaruh pH terhadap panjang akar, cabang akar dan bulu akar planlet *V. pubescens*

Pengamatan panjang akar dilakukan setelah minggu ke-5. Pengaruh pH terhadap rata-rata panjang akar ditunjukkan pada Tabel 4. Panjang akar tertinggi terbentuk pada planlet dengan pengaruh pH 3 yaitu  $19,27 \pm 0,73$ .

Hasil analisis varian pengaruh pH terhadap panjang akar planlet *V. pubescens* ditunjukkan pada Tabel 5. Karena hasil nilai P yang lebih kecil dari alpha 0,05 maka menolak H<sub>0</sub> dan antar perlakuan pH terhadap panjang akar planlet berbeda nyata.

Tabel 5. Analisis varian pengaruh pH terhadap panjang akar planlet *V. pubescens*.  $\alpha$ : 0,05.

| Sumber Variasi | df | JK      | KT      | Nilai P |
|----------------|----|---------|---------|---------|
| Perlakuan      | 72 | 479,283 | 239,644 | 0,0001  |
| Galat          | 2  | 26,696  | 0,371   |         |
| Total          | 74 | 505,984 |         |         |

Pada uji Duncan ditunjukkan bahwa terdapat 3 kelompok yang berbeda dari masing-masing rata-rata panjang akar planlet dengan pengaruh pH 5,7; pH 4 dan pH 3 (Tabel 6).

Tabel 6. Uji Duncan pengaruh pH terhadap panjang akar planlet *V. pubescens*.  $\alpha$ : 0,05.

| pH  | N  | 1       | 2       | 3       |
|-----|----|---------|---------|---------|
| 5,7 | 25 | 13,7244 |         |         |
| 4   | 25 |         | 18,8800 |         |
| 3   | 25 |         |         | 19,2724 |

Tabel 4. Pengaruh pH terhadap panjang akar planlet *V. pubescens*.

| Perlakuan | Rata-rata panjang akar (cm) | Standar deviasi | Standar error | Maks. (cm) | Min. (cm) | Keterangan                |
|-----------|-----------------------------|-----------------|---------------|------------|-----------|---------------------------|
| pH 5,7    | 13,72                       | 0,46            | 0,14          | 14,98      | 12,16     | Akar berwarna hitam       |
| pH 4      | 18,88                       | 0,60            | 0,12          | 20,00      | 18,00     | Akar berwarna coklat tua  |
| pH 3      | 19,27                       | 0,73            | 0,09          | 20,12      | 18,33     | Akar berwarna coklat muda |

Panjang akar planlet *V. pubescens* pada media dengan masing-masing perlakuan pH ditunjukkan pada Gambar 2.

Pengamatan cabang akar dilakukan berdasarkan jumlah cabang akar setelah minggu ke-5. Pengaruh pH terhadap rata-rata jumlah cabang akar ditunjukkan pada Tabel 7. Jumlah cabang

akar terbanyak terbentuk pada planlet dengan pengaruh pH 3 yaitu  $9,57 \pm 0,30$ .

Hasil analisis varian pengaruh pH terhadap jumlah cabang akar planlet *V. pubescens* ditunjukkan pada Tabel 8. Karena hasil nilai P yang lebih kecil dari alpha 0,05 maka menolak  $H_0$  dan antar perlakuan pH terhadap jumlah cabang akar planlet berbeda nyata.



Gambar 2. Pengaruh pH 5,7 (a), pH 4 (b) dan pH 3 (c) terhadap panjang akar planlet *V. pubescens* setelah minggu ke-5. (Foto : Putri A. I, 2008).

Tabel 7. Pengaruh pH terhadap jumlah cabang akar planlet *V. pubescens*.

| Perlakuan | Rata-rata jumlah cabang akar | Standar deviasi | Standar error | Maks. (cm) | Min. (cm) |
|-----------|------------------------------|-----------------|---------------|------------|-----------|
| pH 5,7    | 1,65                         | 0,05            | 0,01          | 1,79       | 1,55      |
| pH 4      | 3,88                         | 0,18            | 0,03          | 4,48       | 3,39      |
| pH 3      | 9,57                         | 0,29            | 0,05          | 9,99       | 8,74      |

Tabel 8. Analisis varian pengaruh pH terhadap jumlah cabang akar planlet *V. pubescens*.  $\alpha$ : 0,05.

| Sumber Variasi | df | JK      | KT      | Nilai P |
|----------------|----|---------|---------|---------|
| Perlakuan      | 72 | 834,892 | 417,446 | 0,0001  |
| Galat          | 2  | 3,008   | 0,042   |         |
| Total          | 74 | 837,900 |         |         |

Tabel 9. Uji Duncan pengaruh pH terhadap panjang akar planlet *V. pubescens*.  $\alpha$ : 0,05.

| pH  | N  | 1      | 2      | 3      |
|-----|----|--------|--------|--------|
| 5,7 | 25 | 1,6504 |        |        |
| 4   | 25 |        | 3,8800 |        |
| 3   | 25 |        |        | 9,5744 |

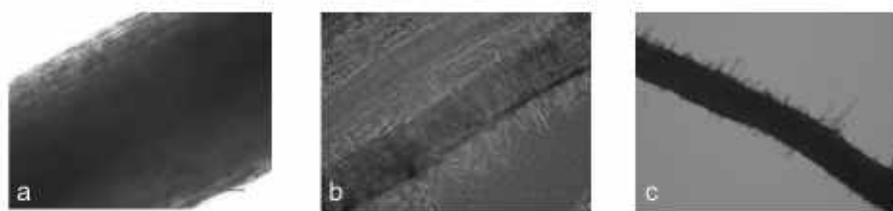
Pada uji Duncan ditunjukkan bahwa terdapat 3 kelompok yang berbeda dari masing-masing rata-rata jumlah cabang akar planlet dengan pengaruh pH 5,7; pH 4 dan pH 3 (Tabel 9).

Jumlah cabang akar planlet *V. pubescens* pada media dengan masing-masing perlakuan pH ditunjukkan pada Gambar 3.

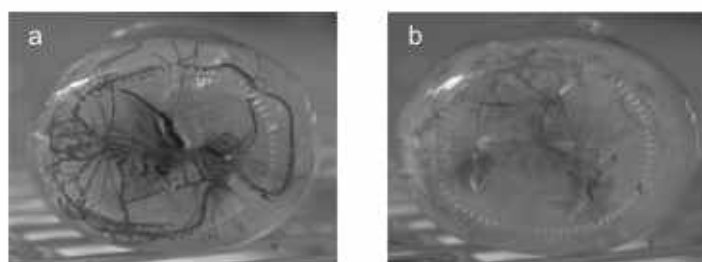
Pengamatan mikroskopis pengaruh pH terhadap bulu akar ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 3. Pengaruh pH 5,7 (a), pH 4 (b) dan pH 3 (c) terhadap jumlah cabang akar planlet *V. pubescens*. (Foto : Putri A. I, 2008).



Gambar 4. Pengaruh pH 5,7 (a), pH 4 (b) dan pH 3 (c) terhadap morfologi bulu akar di cabang akar planlet *V. pubescens* (perbesaran 1.000 x). (Foto : Putri A. I, 2008).



Gambar 5. Pengaruh pH 5,7 (a) dan pH 4 (b) terhadap warna akar planlet *V. pubescens*. (Foto : Putri A. I, 2008).

Setelah minggu ke-5, bulu akar tumbuh lebat pada cabang akar planlet pH media 3 maupun pH media 4, namun tidak terjadi pada akar planlet dengan pH media 5,7.

Setelah pengamatan minggu ke-16 (3 subkultur setelah transfer planlet) pengaruh pH terhadap warna akar pada planlet dengan pH media 5,7 lebih gelap dibandingkan warna akar pada planlet dengan pH media 4 yang lebih terang (Gambar 5). Warna tersebut berhubungan dengan reaksi terbentuknya asam-asam organik humat, fulfat dan humin; berat molekul serta kelarutannya dalam asam dan alkali. Pada lingkungan dengan kemasaman tinggi, warna akar akan lebih terang karena asam fulfik dengan berat molekul yang kecil akan terbentuk lebih tinggi serta bersifat larut di alkali dan masam (Hays dan Graham, 2000).

Berdasarkan pengamatan pengaruh pH terhadap panjang akar, jumlah cabang akar

maupun bulu akar pada perakaran planlet *V. pubescens* pada media yang lebih masam menunjukkan pertumbuhan akar yang lebih tinggi. Hasil penelitian tersebut tidak sesuai dengan hasil penelitian terdahulu yaitu pada media masam sistem perakaran tidak berkembang (pendek dan tebal) akibat penghambatan perpanjangan sel (Prasetiyono dan Tasliah, 2003; Ciamporova, 2002). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa target utama keracunan Al pada lingkungan masam adalah pada morfologi jaringan akar tanaman (Ciamporova, 2002; Khatiwada *et al.*, 1996). Al akan terakumulasi pada akar dan menyebabkan berkurangnya kekuatan akar untuk mentranslokasikan fosfat ke pembuluh vaskular (Russel dan Russel, 1986).

Perkembangan akar yang lebih baik pada media pH 3 dan pH 4 dibandingkan pH 5,7 pada penelitian ini dapat dimungkinkan karena spesies

tanaman secara genetis mempunyai kemampuan toleransi yang sangat beragam terhadap unsur tak esensial seperti Al dalam jumlah yang meracun (Woolhouse, 1983). Akar tanaman yang toleran terhadap keracunan Al memiliki kemampuan untuk menekan pengaruh buruk keracunan Al tersebut yaitu mampu mengurangi absorpsi Al, dapat menetralkan pengaruh toksik Al setelah diserap tanaman dan sanggup menciptakan keadaan kurang asam di daerah perakaran, sehingga translokasi ion Al ke bagian atas tanaman jadi terhambat (Prasetyono dan Tasliah, 2003).

Bila dihubungkan dengan sinyal akar ke tunas *in-vitro*, ketersediaan hara yang lebih buruk pada pH 3 akibat keracunan Al dan kekahatan kation seperti  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}_2^+$  dan  $\text{Mg}_2^+$  (Huang *et al.*, 1992; Lazof *et al.*, 1994; Nichol *et al.*, 1993; Rengel dan Elliot, 1992; Ryan *et al.*, 1991) maka ketersediaan fosfat, penyerapan besi dan pembelahan sel tanaman di tunas pucuk akan terhambat (Salisbury dan Ross, 1995; Hakim *et al.*, 1986); sehingga regenerasi perakaran akan lebih aktif membentuk jaringan cabang maupun bulu akar untuk memperluas serapan akar.

### C. Tinggi tanaman

Pengamatan *ex-vitro* dari hasil transfer planlet tahan masam pH 4 dan pH 5,7 pada media tanah Podzolik Merah Kuning (pH  $\text{H}_2\text{O}$  4,48) yang dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman setelah aklimatisasi 12 minggu di rumah kaca ditunjukkan pada Tabel 10.

Hasil analisis varian pengaruh pH terhadap tinggi tanaman *V. pubescens* ditunjukkan pada Tabel 11. Karena hasil nilai P yang lebih kecil dari alpha 0,05 maka menolak  $H_0$  dan antar perlakuan pH terhadap tinggi tanaman berbeda nyata.

Sebanyak 94,3% planlet dari media dengan pH 4 dan 100% planlet dari media pH 5,7 dapat ditransfer pada media tanah PMK (pH 4,48) untuk aklimatisasi. Setelah minggu ke-12 *ex-vitro*, seluruh planlet tersebut menunjukkan petumbuhan fenotip yang normal (Gambar 6).

Tabel 11. Analisis varian pengaruh pH terhadap tinggi tanaman *V. pubescens*.  $\alpha$ : 0,05.

| Sumber Variasi | df | JK      | KT      | Nilai P |
|----------------|----|---------|---------|---------|
| Perlakuan      | 48 | 122,868 | 122,868 | 0,0001  |
| Galat          | 1  | 13,601  | 0,283   |         |
| Total          | 49 | 136,469 |         |         |

Tabel 10. Pengaruh pH terhadap tinggi tanaman *V. pubescens*.

| Perlakuan | Rata-rata tinggi tanaman (cm) | Standar deviasi | Standar error | Maks. (cm) | Min. (cm) |
|-----------|-------------------------------|-----------------|---------------|------------|-----------|
| pH 5,7    | 29,86                         | 0,63            | 0,12          | 30,94      | 28,44     |
| pH 4      | 26,72                         | 0,39            | 0,07          | 27,34      | 25,69     |



Gambar 6. Aklimatisasi planlet *V. pubescens* dari media pH 5,7 (a) dan pH 4 (b) pada tanah PMK pH 4,48. (Foto : Putri A. I, 2009).



Tinggi tanaman pada aklimatisasi planlet pH 4 lebih rendah dibandingkan dari planlet pH 5,7; hal ini menunjukkan bahwa ketahanan masam *V. pubescens in-vitro* sampai dengan 12 minggu memerlukan penyesuaian *ex-vitro* yang berbeda. Uji stabilitas ketahanan *in-vitro* maupun *ex-vitro* dengan *V. pubescens* dari pH 4 sebagai sumber eksplan perlu dilakukan untuk mengetahui regenerasi *V. pubescens* toleran masam.

#### IV. KESIMPULAN

*Vitex pubescens* telah direkomendasikan sebagai salah satu pohon untuk reklamasi tanah marginal, dan sebagian besar tanah marginal di Indonesia merupakan tanah masam. *Vitex pubescens* mampu tumbuh normal sampai dengan pH 4 *in-vitro*. Semakin masam media, pertumbuhan akar, cabang akar maupun bulu akar *V. pubescens* menjadi lebih tinggi. Akar *V. pubescens* berwarna lebih terang pada media yang lebih masam. *V. pubescens ex-vitro* mampu tumbuh normal pada tanah Podzolik Merah Kuning (PMK) dengan pH 4,8 walaupun tinggi tanaman dari planlet pH 4 lebih rendah dibandingkan pH 5. Toleransi *V. pubescens* adalah pada pH 4 *in-vitro* dan pada pH 4,8 di tanah PMK sampai dengan minggu ke-12 *ex-vitro* karena mampu menekan pengaruh buruk dari lingkungan masam tersebut.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian ini, khususnya kepada Nursyamsi, Toni Herawan dan Suprihati yang telah melakukan pekerjaan kultur jaringan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Waluyo yang telah melakukan pekerjaan aklimatisasi di rumah kaca

Kaliurang, Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahloowalia, B. S. 1986. Limitation to The Use of Somaclonal Variation in Crop Improvement. In: Semal, J. (Ed.). Somaclonal Variation and Crop Improvement. Martinus Nijhoff Publ. Dordrecht. P.15-27.
- Barchia, M. F. dan S. Sabiham. 2001. Release of Phenolic Acid and Carbon from Rice Fields on Central Kalimantan Peatlands In Rieley, J. O. And S. E. Page (2001) (eds.). Peatlands for People: Natural Resources Functions and Sustainable Management. BPPT. Jakarta.
- Barchia, M. F. 2002. *Emisi Karbon dan Produktifitas Tanah pada Lahan Gambut yang Diperkaya Bahan Mineral Berkadar Besi Tinggi pada Sistem Olah Tanah yang Berbeda*. Disertasi S3. Fakultas Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Ciamporova, M. 2002. Morphological and Structural Responses of Plant Roots on Aluminium at Organ, Tissue and Cellular Levels. *Biol. Plant.* **45**:161-171.
- de Jong, W. 1999. Income generation through rehabilitation of Imperata grasslands: production of *Vitex pubescens* as a source of charcoal, pp. 175-184. In: Roshetko, J.M. and Evans, D.E. (Eds.) Proceedings of the Workshop on Domestication of Agroforestry Trees in Yogyakarta, Indonesia, 4-7 November, 1997. University of Gadjah Mada and ICRAF.
- Euro Consult. 1984. *Nation-wide Study of Coastal and Near-coastal Swamps Land in*

- Sumatera, Kalimantan and Irian Jaya. Executive Report. Arnhem/BIEC. Bandung.
- Evans, D. A. dan W. R. Sharp. 1986. Somaclonal and clonal *In* Evans et al., (Eds) Handbook of Plant Cell Culture. Vol.4. Mc.Millan Publ. Co. New York p. 87-132.
- Fitter, A. H. dan R. K. M. Hay. 1991. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Terjemahan Sri Andani dan Purbayanti. UGM-Press. Yogyakarta.
- Fryer, J. 2002. Community Development Through Rehabilitation of Imperata Grassland Using Trees: A Model Approach Growing *Vitex pubescens* For Charcoal Production In Kalimantan, Indonesia. ACIAR Research Program.
- Hakim, N. M. Nyakpa, A. M. Lubis, S. G. Nugroho, A. Dika, G. B. Fong dan H. H. Bailey. 1986. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. IPB-Press. Bogor.
- Hays, M. H. B. dan C. L. Graham. 2000. Procedures for The Isolation and Fractionation of Humic Substances *In* E. A. Ghabbour and G. Davies (eds.), Humic Substances: Versatile Components of Plants, Soils and Water. Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK.
- Huang, J. W., J. E. Shaff, D. L. Grunes dan L. Kochian. 1992. Aluminum effects on calcium fluxes at the root apex of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat cultivars. *Plant Physiol.* **98**, 230-237.
- Khaliwada, S. P., D. Senandhira, A. L. Carpena, R. S. Zeigler dan P. G. Fernandez. 1996. Variability and Genetics Tolerance for Aluminium Toxicity in Rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* **93**:738-744.
- Kochian, L. 2005. *The Physiology, Genetics, And Molecular Biology Of Plant Aluminum Tolerance And Toxicity*. Cornell University.
- Lazof, D. B., J. G. Goldsmith, T. W. Rufty dan R. W. Linton. 1994. Rapid Uptake of Aluminium into Cells of Intact Soybean Root Tips. A Microanalytical Study Using Secondary Ion Mass Spectrometry. *Plant Physiology* **106**:1107-1114.
- Lemmens R.H.M.J., Soerianegara, I. dan Wong, W.C. (Eds.). 1995. Timber trees: Minor Commercial Timbers Plant Resources of South-East Asia No. 5(2). PROSEA. Backhuys Publishers, Leiden. 655 p.
- Ma, J. F., S. Hiradate dan H. Matsumoto. 1998. High Aluminum Resistance in Buckwheat. *Plant Physiol.* **117**: 753-759.
- Martawijaya, A., K. Kadir, I. Kartasujana. 1987. *Atlas Kayu Indonesia. Balai Penelitian Hasil Hutan*. Bogor. Indonesia.
- Nichol, B. E., L. A. Oliveira, A. D. M. Glass dan M. Y. Siddiqi. 1993. Arbuscular Mycorrhiza Fungi Enhance Aluminium Resistance of *Andropogon virginicus* L.. *Plant Physiology Vol. 101. Issue 4*: 1263-1266.
- Otsamo, R. 2000. Secondary Forest Regeneration Under Fast-Growing Forest Plantations On Degraded Imperata Cylindrica Grasslands. *New Forests* **19**: 69-93. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Patrick, Z. A. 1971. Phytotoxic Substance Associated with the Decomposition in Soil and Plant Residues. *Soil Sci.* **111**:13-18.

- Prasetyono, J dan Tasliah. 2003. Strategi Pendekatan Bioteknologi Untuk pemuliaan Tanaman Toleran Keracunan Alumunium. *Jurnal Pertanian*. Vol. 10, No. 1:64-67.
- Pusat Penelitian Tanah. 1981. *Hasil Pengukuran Planimeter dari Peta Tanah Bagan Indonesia*. Bogor.
- Radjaguguk, B. 1991. Utilization and Management of Peatlands in Indonesia for Agriculture and Forestry In Tropical Peat, Proceeding of the International Symposium on Tropical Peatland. MARDI. Malaysia.
- Remotti, P. C., H. J. M. Loffer dan L. Van Vloten-Doting. 1995. Sorghum Plant Regeneration from Alumunium Selection Media. *Plant Cell Rep.* 2:129-132.
- Rengel, Z. dan D. C. Elliot. 1992. *Interaction between Alumunium Toxicity and Calcium Uptake*. School of Biological Science, Flinders University of South Australia.
- Russel, W. dan E. J. Russel. 1986. *Soil Conditions and Plant Growth*. Longmans, London.
- Ryan, P. R., L. V. Kochian, J. E. Shaff. 1991. Microelectrode-based investigations into the relationship between Al toxicity and root-cell membrane transport processes. *Current Topics in Plant Biochem Physiol*, 10: 117-133.
- Salisbury, F. B. dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 1. Perkembangan Tumbuhan dan Fisiologi Lingkungan*. Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryono. ITB-Press. Bandung.
- Van den Bulk, R.U. 1991. Application Of Cell And Tissue Culture And In-vitro Selection For Disease Resistance Breeding, A Review. *Euphytica* 56:269-285.
- Wershaw, R. L., J. A. Leenjeer, K. R. Kennedy dan T. I. Noyes. 1996. Use of <sup>13</sup>C-NMR and FTIR for Elucidation of Degradation Pathways during Natural Litter Decomposition and Composting: I. Early Stage Leaf Degradation. *Soil Sci.* 161: 667-679.
- Widoretno, W. 2003. *Seleksi In-vitro Untuk Toleransi Terhadap Cekaman Kekeringan Pada Kedelai (Glycine max (L.) Merr.) dan Karakterisasi Varian Somaklonal Yang Toleran*. Thesis. Pasca Sarjana, IPB. 136hal.
- Woolhouse, H. M. 1983. Toxicity and Tolerance in the Responses of Plants to Metals dalam F. B. Salisbury and C. W. Ross. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 1. ITB-Press. Bandung.