KAJIAN KETAHANAN PLANLET ANGGREK BULAN (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) HASIL SELEKSI DENGAN ASAM SALISILAT TERHADAP *Fusarium oxysporum* SECARA *IN VITRO*

(Skripsi)

Oleh

RIA AULIA NOVIANTIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016

ABSTRAK

KAJIAN KETAHANAN PLANLET ANGGREK BULAN (*Phalaenopsis amabilis* (L.) BL.) HASIL SELEKSI DENGAN ASAM SALISILAT TERHADAP *Fusarium oxysporum* SECARA *IN VITRO*

Oleh

RIA AULIA NOVIANTIA

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan tanaman hias yang banyak diminati oleh berbagai kalangan karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan keindahan bentuk serta warna bunganya. Pemicu penurunan produksi anggrek bulan karena adanya jamur *Fusarium oxysporum* atau yang lebih dikenal dengan penyakit layu fusarium. Penggunaan kultivar *P. amabilis* yang resisten terhadap penyakit layu fusarium merupakan alternatif pengendalian penyakit yang penting. Planlet *P. amabilis* yang resisten terhadap layu fusarium diseleksi secara *in vitro* dalam medium *Vacin and Went* (VW) dengan penambahan asam salisilat (AS) pada konsentrasi yang berbeda. Tujuan penelitian ini adalah 1) Mengetahui kisaran konsentrasi asam salisilat toleran untuk seleksi planlet *P. amabilis* secara *in vitro*; 2) Mengetahui ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* hasil seleksi dengan asam salisilat secara *in vitro*; 3) Menganalisis aktivitas enzim peroksidase pada planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap *Fo* dibandingkan kontrol. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 - Februari 2016 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi asam salisilat yang terdiri atas 4 taraf yaitu 0, 65, 75 dan 85 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan. Analisis ragam dan uji Beda Nyata Terkecil dilakukan pada taraf nyata 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kisaran konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi *P. amabilis* secara *in vitro* adalah 65-85 ppm. Konsentrasi asam salisilat 85 ppm lebih efektif untuk menekan perkembangan jamur *Fo* dibandingkan dengan konsentrasi 65 dan 75 ppm. Peningkatan secara nyata aktivitas enzim peroksidase terjadi pada planlet anggrek bulan yang diimbas dengan AS dibandingkan kontrol.

Kata kunci: *Phalaenopsis amabilis*, Asam Salisilat, Layu Fusarium, *In vitro*, Ketahanan.

KAJIAN KETAHANAN PLANLET ANGGREK BULAN (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) HASIL SELEKSI DENGAN ASAM SALISILAT TERHADAP *Fusarium oxysporum* SECARA *IN VITRO*

Oleh

RIA AULIA NOVIANTIA

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016

Judul Skripsi : **KAJIAN KETAHANAN PLANLET ANGGREK BULAN (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) HASIL SELEKSI DENGAN ASAM SALISILAT TERHADAP *Fusarium oxysporum* SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : Ria Aulia Noviantia

No. Pokok Mahasiswa : 1217021065

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.	**Dra. Martha Lulus Lande, M.P.**
NIP 19651031 199203 2 003	NIP 19560813 198511 2 001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.** .....

Sekretaris : **Dra. Martha Lulus Lande, M.P.** .....

Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.** .....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D.
NIP 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **20 Mei 2016**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bumi Mas, Seputih Agung, Lampung Tengah pada tanggal 4 November 1994, sebagai anak kedua dari dua bersaudara, dari Bapak Suwondo dan Ibu Maryani.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak LPMK Bumi Kencana pada tahun 1999. Pada tahun 2000, penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri 2 Bumi Kencana. Kemudian, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Terbanggi Besar pada tahun 2006. Setelah itu, pada tahun 2009 penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Terbanggi Besar.

Pada tahun 2012, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) tertulis dan penulis memperoleh beasiswa Bidik Misi 2012 selama 8 semester. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kultur Jaringan. Selain itu penulis juga aktif di dunia organisasi kampus. Aktivitas organisasi penulis dimulai sejak menjadi Amar Rois FMIPA Unila, Garuda BEM FMIPA Unila, dan

Anggota Muda Biologi (Amuba) tahun 2012–2013. Selanjutnya penulis pernah di Rohani Islam (Rois) FMIPA Unila sebagai sekretaris biro Dana dan Usaha, dan di Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila sebagai anggota Saintek tahun 2013-2014. Penulis juga menjadi sekretaris biro KRT di Rois FMIPA Unila dan sebagai staf sekretaris BEM FMIPA Unila serta anggota biro Danus di Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila pada tahun 2013-2014.

Penulis melakanakan Kuliah Kerja Nyata pada bulan Agustus-Oktober 2015 di Mulya Jaya, Kecamatan Gunung Agung, Kabupaten Tulang Bawang Barat. Pada bulan Juli-September 2015, penulis melaksanakan Kerja Praktik di Kebun Percobaan BPTP Natar Lampung Selatan dengan judul **"PENGARUH PERENDAMAN KADAR AIR KELAPA MUDA TERHADAP PERKECAMBAHAN DAN PERTUMBUHAN BIJI KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merill.) VARIETAS GROBOKAN "**. Penulis melaksanakan penelitian pada bulan Desember 2015 – Februari 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik ALLAH SWT, Dzat yang maha agung yang memberikan kenikmatan sehingga karya ini dapat terselesaikan. Kupersembahkan karya ini sebagai cinta kasihku, tanda bakti dan rasa terima kasihku kepada :

Bapak dan Ibu yang selalu kusayangi, yang telah memberikan cinta dan kasih sayangnya serta doa yang tiada hentinya.

Para guru dan dosen yang telah medidik dan memberiku ilmu dengan dedikasi dan keikhlasannya.

Adik-adikku, keluarga besarku dan sahabat-sahabatku yang selalu menjadi penyemangat, yang banyak memberikan pengalaman berharga, yang selalu menguatkan dan mengajarkan arti perjuangan serta persaudaraan.

Almamaterku tercinta.

MOTO

Do the best, be the best !

"Man Jadda Wa Jadda"

Barang siapa yang bersungguh – sungguh akan mendapatkannya.

"*Khairunnas anfa'uhum linnas*"

"Sebaik-baik manusia diantaramu adalah yang paling banyak manfaatnya bagi orang lain."

(HR. Bukhari dan Muslim)

SANWACANA

Segala puji hanya milik Allah S.W.T atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **"Kajian Ketahanan Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat Terhadap *Fusarium oxysporum* Secara *In Vitro*"**. Shalawat teriring salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah SAW beserta keluarga dan sahabat serta umatnya di akhir zaman, *Aamiin.*

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si. selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, memberikan saran, dan motivasi dalam membimbing penulis dalam penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
2. Ibu Dra. Martha Lulus Lande, M.P. selaku Pembimbing Kedua atas dedikasi, arahan, saran dan semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
3. Bapak Dr. Bambang Irawan M.Sc. selaku Pembahas atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

4. Ibu Dra. Sri Murwani, M.Sc. selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, kritik, dan sarannya kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
5. Kepala Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Unila, beserta seluruh staf teknisi, yang telah memberikan izin, fasilitas, dan bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
6. Ketua Jurusan Biologi FMIPA, Dekan FMIPA, dan Rektor Universitas Lampung.
7. Bapak Ibu Dosen yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, terimakasih atas ilmu yang sudah diberikan selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
8. Rekan kerja penelitian Asri, Lu'lu', Imamah, Jevica, Abdi, dan mba Gardis. Kakak-kakak penelitian mba Christi, mba Eka, kak Sobran, kak Adi, mba Linda, dan mba Rita Terimakasih untuk kerjasama, kebersamaan, dukungan, semangat, dan saran selama penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
9. Kedua orang tua tercinta Bapak Suwondo, Ibu Maryani, kakakku Melki Setiadi yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, perhatian, dukungan, dan do'a kepada penulis yang tiada hentinya.
10. Sahabat terbaik Asri Rahayu Pratiwi, Kasmita Noviyana, Lia Anggraini, Try Larasati, dan Etika Julita Sari terimakasih atas kebersamaan dan persaudaraan atas dasar ukhuwah yang terjalin hingga saat ini.
11. Rekan-rekan seperjuangan keluarga Biologi 2012, Rois FMIPA Unila, BEM FMIPA Unila yang telah banyak mengembangkan potensi dan selalu menjadi

penyemangat serta selalu menyegarkan langkah dalam perjuangan ini.

12. Kakak tingkat 2008, 2009, 2010, 2011, adik-adik tingkat 2013, 2014,2015 dan seluruh keluarga HIMBIO terimakasih atas kebersamaan dan pelajaran kepada penulis.
13. Keluarga KKN Tiyuh Mulya Jaya, Gunung Agung, Tulang Bawang Barat Retno, Putri, Ria, Sukamto, Guswindi, Idham untuk kebersamaan, semangat, dan dukungan bagi penulis.
14. Teman-teman Asrama Tiara terimakasih atas motivasi dan kebersamaan untuk penulis.
15. Teman-teman XII A1 SMA Negeri 1 Terbanggi Besar terimaksih untuk kebersamaan, semangat, doa, dan dukungan bagi penulis.
16. Almamater tercinta.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan penulisan di masa datang. Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan berguna bagi banyak pihak.

Bandar Lampung, Mei 2016

Penulis,

Ria Aulia Noviantia

`

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK ..... **i**

HALAMAN PERSETUJUAN ..... **ii**

HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**

RIWAYAT HIDUP ..... **iv**

PERSEMBAHAN ..... **vi**

MOTO ..... **vii**

SANWACANA ..... **viii**

DAFTAR ISI ..... **xi**

DAFTAR TABEL ..... **xiii**

DAFTAR GAMBAR ..... **xiv**

I. PENDAHULUAN 1

A. Latar Belakang 1
B. Tujuan Penelitian 5
C. Manfaat Penelitian 5
D. Kerangka Pemikiran 5
E. Hipotesis 7

II. TINJAUAN PUSTAKA 8

A. Biologi Anggrek Bulan 8
B. Penyakit Layu *Fusarium* 11
C. Asam Salisilat 13
D. Ketahanan Terimbas 14
E. Kultur Jaringan 17

III. METODE PENELITIAN 19

A. Waktu dan Tempat Penelitian 19
B. Alat dan Bahan Penelitian 19
1. Alat-alat Penelitian 19
2. Bahan-bahan Penelitian 20
C. Rancangan Percobaan 20
D. Bagan Alir Penelitian 21
E. Pelaksanaan Penelitian 23
1. Persiapan Medium Tanam 23
2. Persiapan Medium Seleksi 23
3. Penanaman Planlet dalam Medium Seleksi Asam Salisilat 24
4. Pengamatan 24
a. Persentase Jumlah Planlet Hidup 24
b. Visualisasi Planlet 25
5. Pengujian Planlet Anggrek Bulan Terhadap *Fusarium oxysporum* 25
a. Inokulasi *Fo* Pada Planlet Anggrek Bulan 25
6. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase 26
F. Analisis Data 27

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN **28**

A. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet 29
B. Pengujian Ketahanan Planlet Anggrek Bulan Terhadap *Fusarium oxysporum* Secara In Vitro 33
C. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase 37

V. SIMPULAN DAN SARAN **43**

A. Simpulan 43
B. Saran 43

DAFTAR PUSTAKA 44

LAMPIRAN 52

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel

1. Tata Letak Satuan Percobaan 21
2. Indeks Kelayuan 26
3. Tingkat Ketahanan Tanaman 26
4. Persentase Jumlah Planlet Hidup Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat 29
5. Persentase dan Visualisasi Planlet Hasil Seleksi dengan Berbagai Konsentrasi Asam Salisilat 31
6. Persentase Daun Layu atau Kuning pada Setiap Perlakuan Asam Salisilat 35
7. Intensitas Penyakit Hasil Uji Ketahanan dan Tingkat Ketahanan Anggrek Bulan Pada Setiap Perlakuan Asam Salisilat 36
8. Aktivitas Enzim Peroksidase Planlet Anggrek Bulan yang Tidak Diimbas (Kontrol) dan Diimbas Asam Salisilat (65, 75, dan 85 ppm) 38
9. Komposisi Medium *Vacin and Went* (VW) 53
10. Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet Per-minggu 56
11. Analisis Ragam *Single Factor* Aktivitas Peroksidase Daun Planlet Anggrek Bulan 58

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar

1. Bunga Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*)..... 9
2. Struktur Kimia Asam Salisilat 13
3. Bagan Alir Penelitian 22
4. Pertumbuhan Planlet Anggrek Bulan Umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Asam Salisilat 32
5. Isolasi Monospora *Fusarium oxysporum* dalam Medium PDA..... 33
6. Hasil Inokulasi F. *oxysporum* pada planlet anggrek bulan umur 20 hari setelah perlakuan 37
7. Kurva Regresi Hubungan Konsentrasi Asam Salisilat dengan Aktivitas Enzim Peroksidase Daun Planlet Anggrek Bulan 39
8. Histogram Perbandingan Aktivitas Enzim Peroksidase Planlet Anggrek Bulan yang Tidak Diimbas (Kontrol) dan Diimbas Asam Salisilat (65, 75 dan 85 ppm)..... 58
9. Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*) 59
10. Penimbangan Bahan-Bahan Medium Seleksi VW 59
11. Pembuatan Medium Seleksi VW 59
12. Sterilisasi Medium dan Alat –Alat Penelitian..... 60
13. Pembuatan Konsentrasi Asam Salisilat..... 60
14. Penambahan Asam Salisilat dalam Medium Seleksi 60
15. Penanaman Planlet Anggrek Bulan pada Medium VW dengan Berbagai Konsentrasi Asam Salisilat yang Berbeda..... 61

16a. Perhitungan kerapatan spora jamur *Fusarium* 61

16b. Alat yang digunakan untuk menghitung kerapatan spora 61

17. Inokulasi jamur *Fo* pada planlet anggrek bulan 62

18. Penimbangan Daun Planlet Anggrek Bulan untuk Uji Aktivitas Enzim Peroksidase 62

19. Pembuatan ekstrak daun planlet anggrek bulan 62

20. Ekstrak daun planlet anggrek bulan untuk analisis enzim peroksidase 63

21. Sentrifuge larutan untuk analisis aktivitas enzim peroksidase..... 63

22. Spektrofotometer untuk analisis aktivitas enzim peroksidase 63

23. Pengambilan data aktivitas enzim peroksidase planlet anggrek bulan 64

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) adalah salah satu tanaman anggrek yang banyak diminati oleh berbagai kalangan karena keindahan bentuk dan warna bunganya, tetapi produksi anggrek bulan di Indonesia masih tertinggal jauh dibandingkan dengan negara-negara lain seperti Thailand, Taiwan, Singapura dan Australia (Purwati, 2012). Anggrek bulan juga merupakan salah satu bunga nasional Indonesia. Indonesia memiliki tiga bunga nasional yang ditetapkan melalui Keputusan Presiden Nomor 4/1993, yaitu bunga melati (*Jasminum sambac* L.) sebagai puspa bangsa, bunga padma raksasa (*Rafflesia arnoldii* R. Br.) sebagai puspa langka, dan bunga anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) sebagai puspa pesona (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

Anggrek bulan (*P. amabilis*) merupakan spesies pertama dalam genus *Phalaenopsis* yang ditemukan oleh Dr. C. L. Blume. Sebagai anggrek yang sangat populer di seluruh dunia pada beberapa tahun terakhir, *P. amabilis* merupakan anggrek yang memiliki manfaat dan nilai ekonomi yang tinggi karena dapat digunakan sebagai induk persilangan, koleksi, bunga potong, dan penghias

ruangan maupun taman (Lin dan Hsu, 2004).

Banyaknya permintaan tehadap *P. amabilis* tidak diimbangi dengan produksi bibit yang memadai. Keterbatasan ini disiasati dengan dilakukan perkembangbiakan secara masal yaitu salah satunya dengan cara perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Melalui kultur *in vitro*, selain dapat dilakukan perbanyakan anggrek yang sulit maupun yang mudah dikembangkan secara konvensional, juga dapat memperoleh anakan dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang relatif singkat (Rosdiana, 2010).

Tanaman anggrek dalam pertumbuhannya mendapatkan gangguan yang dihadapi seperti timbulnya penyakit dari jamur patogen, bakteri, ataupun virus yang menyerang bagian-bagian pada tubuh tanaman anggrek (Djatnika, 2012). Beberapa penyakit pada tanaman anggrek yang disebabkan oleh jamur, bakteri, dan virus adalah busuk hitam, busuk akar, layu fusarium, busuk lunak, bercak daun, busuk daun, *Cymbidium mosaic*, dan bercak bercincin. Penyakit layu *Fusarium* merupakan salah satu kendala dalam budidaya tanaman anggrek bulan yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* (*Fo*), dan dapat menyerang akar yang terluka (Pandjaitan, 2005).

Salah satu cara alternatif pengendalian penyakit yang efektif dan aman terhadap lingkungan adalah menggunakan varietas yang tahan (Nurcahyani, 2013). Penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap *Fo* dengan daya hasil tinggi

merupakan cara alternatif pengendalian penyakit dan tidak menimbulkan dampak negatif seperti penggunaan pestisida (Ambar dkk., 2003). Pengembangan kultivar tahan *Fo* tersebut dapat dilakukan dengan metode seleksi *in vitro* yaitu mengkulturkan eksplan berupa organ atau jaringan pada medium yang mengandung asam salisilat dengan konsentrasi selektif (Suryanti dkk., 2009).

Asam salisilat merupakan komponen jalur sinyal transduksi yang menyebabkan ketahanan tanaman terhadap beberapa patogen (Ryals *et al*., 1996). Ketahanan tersebut dikenal dengan ketahanan sistemik terinduksi atau ketahanan terimbas (Huang, 2001). Ketahanan terimbas merupakan aktivitas tanaman sehubungan dengan mekanisme pertahanan terhadap agensia yang berbahaya (Sumardiyono, 2000). Selain asam salisilat, agens penginduksi lainnya tidak terlepas dari protein-protein terkait dengan *Pathogenesis Related- protein* (PR- protein) seperti peroksidase, kitinase, 1,3- glukanase, dan 1,4- glukosidase (Arai dan Takeuchi, 1993).

Faradilla dan Purwantoro (2012) meneliti ketahanan tanaman pisang dengan menggunakan asam fusarat dan asam salisilat dengan konsentrasi 0 ppm, 1,22 ppm, 2,45 ppm, 4,91 ppm, 9,82 ppm , 1,15 ppm, 2,33 ppm, 4,66 ppm dan 9,32 ppm. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa asam salisilat dengan konsentrasi 2,45 ppm dan asam fusarat dengan konsentrasi 1,15 ppm mampu meningkatkan ketahanan dan merupakan konsentrasi terbaik sebagai senyawa

pengimbas ketahanan bibit pisang terhadap penyakit layu *Fusarium* dalam kultur jaringan dengan menurunkan kriteria ketahanan dari sangat rentan menjadi rentan.

Hasil penelitian Suryanti dkk. (2009) menunjukkan bahwa bibit pisang (*Musa* sp.) hasil pengimbasan terhadap asam salisilat memiliki ketahanan yang lebih tinggi dari pada kontrol dengan seleksi *in vitro*. Nurcahyani (2013), meneliti ketahanan planlet vanili terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* (*Fov*) secara *in vitro* dengan asam fusarat. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi asam fusarat 110 ppm merupakan konsentrasi terbaik untuk mengimbas *Fov* planlet vanili secara *in vitro*. Hasil penelitian Susilowati (2015), menunjukkan bahwa planlet *P. amabilis* yang diimbas asam salisilat 15 ppm, 30 ppm, 45 ppm dan 60 ppm secara *in vitro* belum memberikan hasil yang memuaskan sehingga diperlukan penelitian lanjutan dengan meningkatkan konsentrasi asam salisilat dan pengaruhnya terhadap ketahanan planlet *P. amabilis* yang diinokulasi jamur *Fo*.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap infeksi *Fo* dengan menggunakan agens penginduksi asam salisilat sebagai respon pertahanannya secara *in vitro*. Planlet *P. amabilis* yang tahan asam salisilat nantinya akan diregenerasikan menjadi tanaman yang tahan terhadap infeksi *Fo*, dengan demikian nantinya diharapkan akan dapat meningkatkan kembali kualitas dan produksi tanaman anggrek di Indonesia.

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui kisaran konsentrasi asam salisilat toleran untuk seleksi planlet *P. amabilis* secara *in vitro*.
2. Mengetahui ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* hasil seleksi dengan asam salisilat secara *in vitro*.
3. Menganalisis aktivitas enzim peroksidase pada planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap *Fo* dibandingkan kontrol.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan asam salisilat dalam mendapatkan *P. amabilis* yang resisten terhadap penyakit layu *Fusarium* secara *in vitro*. Membantu masyarakat terutama petani anggrek dalam budidaya tanaman anggrek. Secara ilmiah diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan dan penyakit tanaman.

D. Kerangka Pemikiran

P. amabilis adalah salah satu tanaman anggrek yang banyak diminati oleh berbagai kalangan karena keindahan bentuk dan warna bunganya, tetapi disamping

keindahannya anggrek tersebut memiliki masalah dalam pertumbuhannya yaitu penyakit layu *Fusarium*. Penyakit layu *Fusarium* diakibatkan oleh jamur *Fusarium oxysporum*. Salah satu cara alternatif pengendalian penyakit yang efektif dan aman terhadap lingkungan adalah menggunakan varietas yang resisten (Nurcahyani, 2013). Penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap *Fo* dengan daya hasil tinggi merupakan cara alternatif pengendalian penyakit dan tidak menimbulkan dampak negatif seperti penggunaan pestisida (Ambar dkk., 2003). Pengembangan kultivar tahan *Fo* tersebut dapat dilakukan dengan metode seleksi *in vitro* yaitu mengkulturkan eksplan berupa organ atau jaringan pada medium yang mengandung asam salisilat dengan konsentrasi selektif (Suryanti dkk., 2009).

Asam salisilat merupakan komponen jalur sinyal transduksi yang menyebabkan ketahanan tanaman terhadap beberapa patogen (Ryals *et al*., 1996). Pada tumbuhan, terbentuknya asam salisilat merupakan respon terhadap serangan patogen sebagai bentuk pertahanan. Tumbuhan yang telah mengalami pembentukan asam salisilat, maka akan membentuk ketahanan alami, meliputi produksi fitoaleksin dan penambahan sel lignin, peningkatan aktivitas enzim peroksidase dan kandungan klorofil (Soesanto, 2008).

Berdasarkan kerangka pikir diatas, maka dilakukan penelitian tentang kajian ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* hasil seleksi dengan asam salisilat secara *in vitro*.

E. Hipotesis

Hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Terdapat kisaran konsentrasi asam salisilat yang toleran untuk seleksi planlet *P. amabilis* secara *in vitro*.
2. Adanya ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* hasil seleksi dengan asam salisilat secara *in vitro*.
3. Terdapat peningkatan aktivitas enzim peroksidase pada planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap *Fo* dibandingkan kontrol.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Biologi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*)

Menurut Tjitrosoepomo (2012), anggrek bulan diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Classis : Monocotyledoneae

Ordo : Orchidales

Familia : Orchidaceae

Genus : *Phalaenopsis*

Species : *Phalaenopsis amabilis* (L.) (Bl.)

Anggrek bulan memiliki warna bunga putih bersih dengan sedikit variasi kuning dan bintik kemerahan di bibir bunga. Bibir kedua cuping samping tegak melebar dan bagian tepi depannya berwarna kuning dengan garis kemerahan (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010). Bunga *Phalaenopsis amabilis* disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1. Bunga Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*)
Sumber: Iswanto (2005)

Sejarah ditemukannya tanaman anggrek bulan terjadi pada abad ke-17. Rumphius disebut sebagai orang yang pertama kali menemukan spesies anggrek bulan di Ambon pada tahun 1750, yang kemudian diberi nama *Epidendrum albummajus*. Pada tahun 1973, Linnaeus memberikan nama *Epidendrum amabila* pada spesies anggrek bulan di Nusakambangan, yang kemudian diberi nama *Phalaenopsis amabilis*. Sejak saat itu sampai sekarang, anggrek bulan dikategorikan dalam genus *Phalaenopsis* (Rukmana, 2008).

Anggrek bulan adalah salah satu spesies dari genus *Phalaenopsis* yang dianggap cukup penting karena peranannya sebagai induk dapat menghasilkan berbagai keturunan atau hibrida. Keistimewaan lainnya adalah mampu berbunga sepanjang tahun dengan masa rata-rata berbunga selama satu bulan (Iswanto, 2008).

Anggrek bulan termasuk anggrek epifit monopodial yang tumbuh menjuntai. Batangnya sangat pendek dan terbungkus oleh seludang daun. Daunnya berjumlah kurang dari lima helai, berwarna hijau, tebal, berdaging, berbentuk lonjong bulat telur sungsang atau jorong, melebar di bagian ujungnya, berujung tumpul, atau sedikit meruncing, dengan panjang 20-30 cm dan lebar 5-8 cm. Bunga anggrek bulan tersusun dalam tandan dan kadang-kadang bercabang dengan panjang karangan bunga mencapai 50 cm yang tumbuh menjuntai. Setiap tangkai mendukung 10-12 kuntum bunga dengan daun penumpu 5 mm berbentuk segitiga, bunganya cukup harum dan waktu mekarnya lama. Perhiasan bunga tersusun membulat dengan diameter 6-10 cm atau lebih dan mahkotanya bertumpang tindih dengan kelopak tersusun membundar (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

Menurut Rukmana (2008), akar tanaman anggrek bulan terdiri dari dua macam yaitu akar lekat dan akar udara. Akar lekat berfungsi untuk melekat dan menahan keseluruhan tanaman agar tetap berada pada posisinya, sedangkan akar udara berperan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman karena berkemampuan menyerap unsur hara.

Anggrek bulan dapat tumbuh di dataran rendah sampai pegunungan dan umumnya hidup pada ketinggian 50-600 m dpl, juga dapat berkembang dengan baik pada ketinggian 700-1.100 m dpl. Anggrek ini tumbuh epifit atau menempel di pohon yang cukup rindang dan menyukai tempat yang teduh serta lembab,

terutama di hutan basah dengan curah hujan 1.500-2.000 mm/tahun. Walau tumbuh di daerah tropis, anggrek ini membutuhkan sedikit cahaya matahari (12.000-20.000 lux) sebagai penunjang hidupnya karena tidak tahan terhadap sengatan matahari langsung. Kelembaban udara yang diperlukan rata-rata 70-80% dengan suhu udara hangat di bawah 29 ^{o}C (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

Phalaenopsis amabilis merupakan tanaman hias anggota familia Orchidaceae yang sangat digemari konsumen di seluruh dunia dan bernilai ekonomi tinggi, baik sebagai bunga pot maupun bunga potong. Nilai ekonomi bunga anggrek ditentukan oleh keindahan, bentuk, warna, ukuran dan keseringannya berbunga, hal ini yang membuat anggrek menduduki peringkat pertama dari 10 besar pasar bunga potong internasional (Martin dan Madassery, 2006).

B. Penyakit Layu *Fusarium*

Penyakit layu *Fusarium* disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* (*Fo*), cendawan ini dapat bertahan hidup di dalam tanah, berkas pengangkut, biji, dan sisa tanaman yang mati. Penularan cendawan ke tanaman lain sangat mudah yaitu dapat melalui perantara alat pertanian, binatang, air hujan, angin, dan kontak akar. Serangan cendawan pada tanaman ini menyebabkan jaringan xilem tampak berwarna cokelat. Cendawan pada tanaman akan membentuk *polipeptida likomarasmin* yang menghambat permeabilitas membran plasma pada jaringan

tanaman sehingga menggangu poses penyerapan air dan zat hara pada tanaman (Pitojo, 2005).

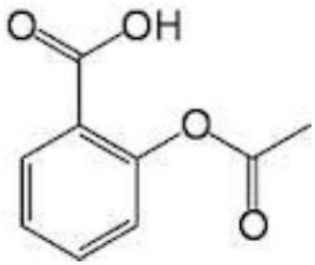
Tanaman yang terserang *Fo* akan mengalami gejala penyakit awal seperti tulang-tulang daun yang pucat, terutama pada daun-daun bagian atas dan diikuti dengan menggulungnya daun yang lebih tua kemudian tangkai daun merunduk sehingga tanaman menjadi layu secara keseluruhan. Serangan penyakit layu *Fusarium* pada tanaman yang masih muda akan menyebabkan tanaman mati secara mendadak, karena terjadi kerusakan pada pangkal batang (Semangun, 2001).

Cendawan *Fo* dapat bertahan hidup pada tanah dengan kisaran pH 4,5-6,0, tumbuh dengan baik pada biakan murni dengan pH 3,6-8,4, sedangkan untuk perkembangan spora pH optimum sekitar 5,0. Suhu optimum untuk pertumbuhan cendawan *Fo* adalah 20-30 ^{0}C maksimum pada 37 ^{0}C atau suhu minimum sekitar 5 ^{0}C, sedangkan optimum untuk perkembangan spora adalah 20-25 ^{0}C (Djaenuddin, 2011).

Cendawan *Fo* menyerang berbagai jenis tanaman, antara lain tomat, kentang, dan tanaman hias seperti lili, tulip, krisan, gladiol, dan anyelir. Cendawan *Fo* menyerang tanaman melalui ujung akar lateral atau ujung akar utama, kemudian bergerak secara interseluler atau intraseluler dalam jaringan parenkim (Lestari dkk., 2006).

C. Asam Salisilat

Asam salisilat termasuk dalam kelompok senyawa fenolik yang banyak berperan dalam respon tanaman terhadap penyakit dan juga mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Rivas dan Plasencia, 2011). Asam salisilat memiliki rumus molekul $C_6H_4COOHOH$ berbentuk kristal kecil berwarna merah muda terang hingga kecokelatan yang memiliki berat molekul sebesar 138,123 g/mol dengan titik leleh sebesar 156 ^{0}C dan densitas pada 25 ^{0}C sebesar 1,443 g/ml (Purnomo dkk., 2007). Asam salisilat atau asam benzoat orto-hidroksi dapat mempengaruhi berbagai proses fisiologis dan proses biokimia pada tanaman dan memiliki peran penting dalam proses pertumbuhan dan produktivitas tanaman (Javaheri *et al*., 2012). Sruktur asam salisilat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Strutur kimia asam salisilat (Fessenden dan Fessenden, 1986)

Asam salisilat merupakan komponen jalur sinyal transduksi yang menyebabkan ketahanan tanaman terhadap beberapa patogen (Ryals *et al*., 1996). Asam salisilat terbentuk pada tanaman sebagai reaksi terhadap infeksi patogen sehingga senyawa ini memegang peranan penting dalam ketahanan sistemik terinduksi

(KST). Selain itu, asam salisilat mempunyai sifat antimikrobia atau dapat dimasukkan dalam kelas protein anti mikrobia (Kessman *et al*., 1994).

Asam salisilat mampu menghambat pergerakan virus dari satu sel ke sel lainnya dan pergerakan virus secara sistemik keseluruh bagian tanaman (Murphy *et al*., 2001), sehingga pergerakan virus pada tanaman tembakau dapat terhambat (Naylor *et al*., 1998). Perlakuan asam salisilat dapat menghambat genom replikasi *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) pada daun tembakau rentan yang diinokulasi, sehingga terjadi penundaan gejala sistemik pada semua bagian tanaman (Hoerussalam dkk., 2013). Berdasarkan hasil penelitian Murphy *et al*. (2001) menunjukkan bahwa asam salisilat merupakan sinyal transduksi yang salah satu cabangnya mengaktifkan PR-protein, termasuk peroksidase.

D. Ketahanan Terimbas

Mekanisme ketahanan terimbas atau *Induced Resistance* adalah preinokulasi tanaman dengan berbagai agensia fisik, kimia, dan hayati yang dapat menyebabkan perubahan reaksi penyakit yang diakibatkan oleh inokulasi berikutnya dengan patogen sasaran (Misaghi, 1982).

Ketahanan terimbas adalah pengaktifan ketahanan alami tanaman seperti produksi fitoaleksin dan penambahan sel lignin, peningkatan aktivitas enzim peroksidase dan kandungan klorofil untuk pertahanan tanaman terhadap infeksi

patogen. Reaksi biokimia yang terjadi di dalam sel atau jaringan mampu menghasilkan senyawa toksin terhadap patogen atau menciptakan kondisi yang menghambat pertumbuhan patogen di dalam tanaman (Agrios, 2005).

Ketahanan terimbas terhadap patogen ditunjukkan dengan ketahanan suatu tanaman terhadap infeksi patogen dengan cara dapat membatasi aktivitas patogen, sehingga patogen tidak dapat berkembang dan tidak dapat menyebabkan kerusakan yang berarti (Agrios, 2005). Ketahanan terimbas secara kimia ditunjukkan dengan terbentuknya senyawa kimia yang mampu mencegah pertumbuhan dan perkembangan patogen, dapat berupa *Pathogenesis Related-protein* (PR-protein) metabolit sekunder berupa alkaloida, fenol, flavonida, glikosida, fitoaleksin dan sebagainya (Chairul, 2000 *dalam* Chairul, 2003). Tanaman tahan pada umumnya mengandung senyawa kimia tersebut dengan konsentrasi lebih tinggi dari pada tanaman tidak tahan (Mansfield, 2000; Agrios, 2005).

Tumbuhan yang terserang patogen akan merespons dengan membentuk suatu ketahanan yang disebut ketahanan terimbas. Menurut Campbell dan Jane (2008) tahap-tahap proses ketahanan terimbas adalah sebagai berikut.

1. Pengenalan gen untuk gen

   Pengenalan gen untuk gen merupakan upaya pengenalan molekul-molekul tumbuhan. Pengenalan molekul dari patogen oleh protein gen resistan memicu Jalur tranduksi sinyal yang menyebabkan aktivasi respons-respons pertahanan,

yang mencakup respons hipersensitif.

2. Respons hipersensitif

   Respons hipersensitif merupakan respons pertahanan yang menyebabkan kematian sel dan jaringan didekat infeksi patogen untuk membatasi penyebaran patogen. Respons hipersensitif juga menginduksi produksi PR-protein, salah satunya adalah enzim peroksidase yang berperan penting dalam proses lignifikasi dan sebagian besar merupakan enzim yang menghidrolisis komponen dinding sel patogen.

3. Resistensi sistemik yang diperoleh

   Sebelum sel-sel yang terisolasi (sel yang terinfeksi) mati, sel-sel tersebut mengirim sinyal berupa asam metil salisilat keseluruh tubuh tumbuhan, kemudian asam metil salisilat diubah menjadi asam salisilat dibagian yang jauh dari bagian yang terinfeksi, pada proses ini resistensi sistemik yang diperoleh teraktivasi. Asam salisilat dalam hal ini berperan menginfeksi jalur tranduksi sinyal untuk menginduksi produksi PR protein dan resistensi terhadap serangan patogen.

Tumbuhan yang terserang patogen melakukan respons hipersensitif. Respons hipersensitif merupakan respons pertahanan tumbuhan terhadap patogen yang menyebabkan kematian sel-sel yang sudah terinfeksi dan sel-sel disekitar sel yang terinfeksi untuk membatasi penyebaran patogen. Respons hipersensitif tumbuhan, selain melakukan upaya tersebut juga mensintesis asam metil salisilat disekitar sel yang terinfeksi dan diangkut keseluruh bagian tumbuhan

melalui floem, kemudian dibagian yang jauh dari sel yang terinfeksi, asam metil salisilat diubah menjadi asam salisilat yang bertugas untuk menginduksi produksi protein-protein PR salah satunya enzim peroksidase. Enzim peroksidase merupakan enzim yang berperan penting dalam biosintesis lignin, agar tumbuhan resisten terhadap serangan patogen (Campbell dan Jane, 2008). Enzim peroksidase merupakan salah satu kelompok PR-protein dari golongan PR-9 (Loon, 1994).

E. Kultur jaringan

Kultur jaringan merupakan pengembangan dari teori sel yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann yaitu sel tumbuhan memiliki sifat autonom (mampu mengatur rumah tangganya sendiri; metabolisme, tumbuh dan berkembang secara independen) dan totipotensi (kemampuan beregenerasi menjadi tanaman lengkap). Perkembangan kultur jaringan sebagai teknik baru dalam bidang biologi mempunyai kaitan erat dengan perkembangan bioteknologi. Penerapan kultur jaringan dalam bidang industri (bioteknologi) antara lain produksi tanaman bebas virus, tanaman tahan kekeringan, dan produksi zat- zat alkaloid untuk industri farmasi seperti alkaloid, glikosida jantung, anti tumor kodeina (Nurcahyo, 2011).

Pelaksanaan kultur jaringan berdasarkan teori sel seperti yang telah dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yaitu bahwa sel mempunyai kemampuan autonom,

bahkan mempunyai kemampuan totipotensi. Totipotensi yaitu kemampuan setiap sel, dari mana saja sel tersebut diambil, apalagi diletakkan dalam lingkungan yang sesuai akan dapat tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Suryowinoto, 1996).

Bentuk fisik medium kultur jaringan berupa medium padat, semi padat, dan cair. Kondisi fisik medium dapat berpengaruh pada pertumbuhan kultur dan laju pembentukan tunas. Medium tumbuh untuk perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan mengandung komposisi garam anorganik, zat pengatur tumbuh, dan bentuk fisik medium. Medium berfungsi untuk penyediaan air, hara mineral, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan proses pembuangan sisa metabolisme tanaman pada proses regenerasi kultur jaringan (Wattimena dkk., 1992)

Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap perkembangan kultur jaringan antara lain pH, kelembapan, cahaya, dan temperatur. Faktor lingkungan tersebut berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel Tanaman yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan secara *in vitro* (Nugroho, 2010).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai dengan bulan Februari 2016 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat – alat Penelitian

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alumunium foil, *Autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) ESCO, pinset, *scalpel*, mata pisau *scalpel*, kertas filter, Erlenmeyer berukuran 50 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, corong, botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur bervolume 100 ml dan 500 ml, kertas label, mikroskop, mikropipet, pipet tip, spektrofotometri (*Shimudzu UV 800*), tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik *Ohaus*, tisu, *waterbatt*, dan kamera Canon A2500.

2. Bahan – bahan penelitian

Bahan yang digunakan adalah planlet *Phalaenopsis amabilis* steril dalam botol kultur berumur 4 bulan dan inokulum *Fusarium oxysporum* yang diperoleh dari koleksi pribadi Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si, asam salisilat (AS) yang diproduksi oleh Darmstadt Germany, alkohol 70 %, akuades, *Benzine Amino Purine* (BAP), *Indole-3-Acetic Acid* (IAA), sukrosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl), Formalin Aseto Alkohol (FAA), safranin, anilin blue, serta bahan kimia medium VW(*Vacin & Went*) padat yang komposisinya disajikan dalam Lampiran 1.

C. Rancangan Percobaan

Rancangan Penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor konsentrasi asam salisilat yang terdiri atas 4 taraf yaitu: 0 ppm, 65 ppm, 75 ppm, dan 85 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan *P. amabilis* dalam setiap botol kultur. Tata letak satuan percobaan seleksi planlet *P. amabilis* dengan AS secara *in vitro* disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Tata letak satuan percobaan

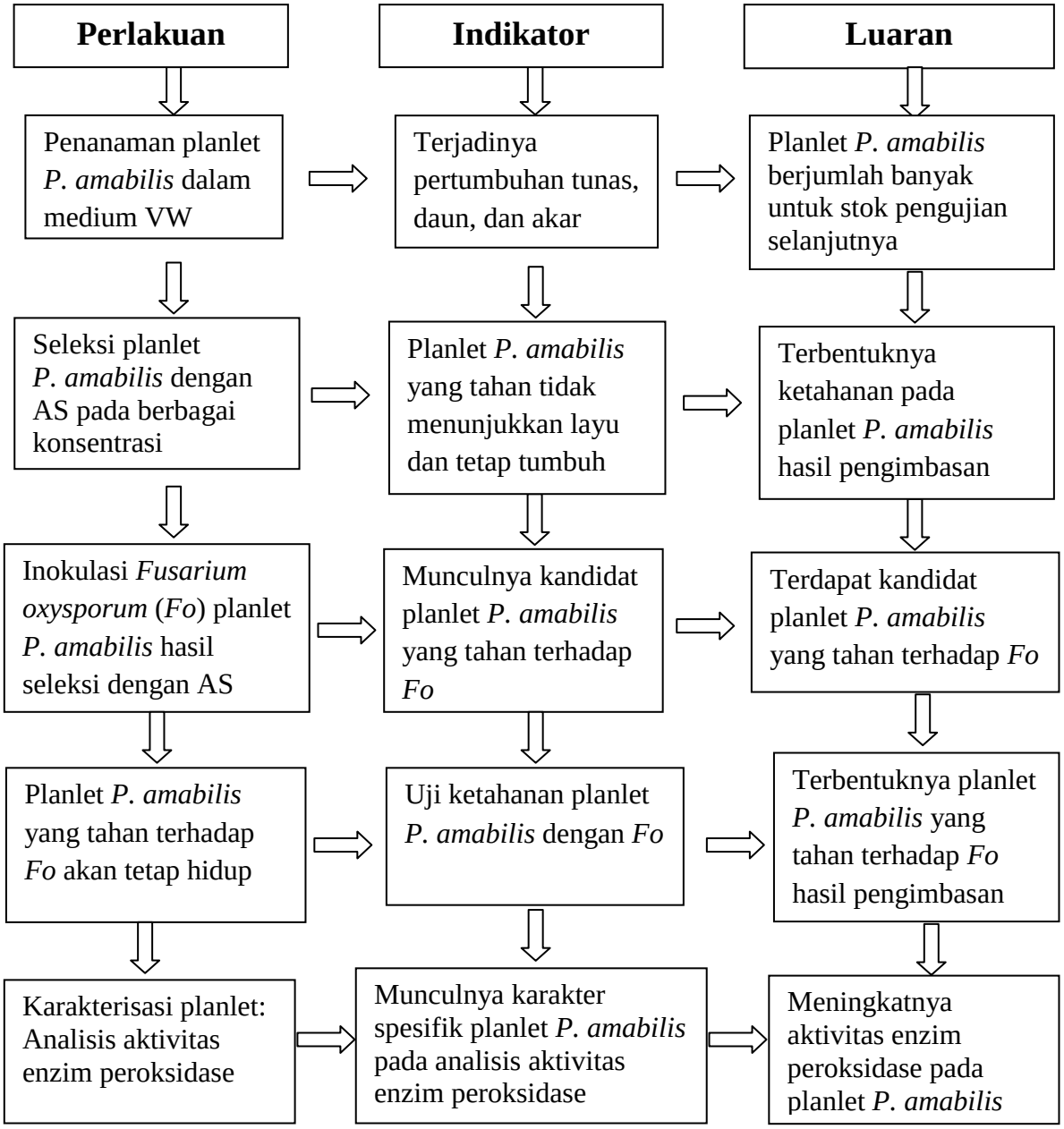
K_3U_1	**K_1U_1**	**K_4U_1**	**K_2U_1**
K_4U_2	**K_2U_2**	**K_3U_2**	**K_1U_2**
K_1U_3	**K_3U_3**	**K_2U_3**	**K_4U_3**
K_2U_4	**K_4U_4**	**K_1U_4**	**K_3U_4**
K_1U_5	**K_2U_5**	**K_3U_5**	**K_4U_5**

Keterangan :
K_1 : Konsentrasi 0 ppm (kontrol)
K_2 : Konsentrasi 65 ppm
K_3 : Konsentrasi 75 ppm
K_4 : Konsentrasi 85 ppm
U_1-U_5 : Ulangan 1 – ulangan 5

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yang dapat disajikan sebagai berikut: 1) Penanaman planlet *P. amabilis* berumur 4 bulan kedalam medium VW yang diharapkan terjadi pertumbuhan tunas, daun dan akar untuk stok pengujian selanjutnya; 2) Seleksi planlet *P. amabilis* dengan AS pada berbagai konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui kisaran konsentrasi asam salisilat toleran secara *in vitro* dengan terbentuknya ketahanan planlet *P. amabilis* yang telah diimbas AS; 3) Inokulasi jamur *Fo* kedalam planlet *P. amabilis* hasil seleksi dengan asam salisilat sehingga terdapat kandidat planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap *Fo*; 4) Uji ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* dengan mengetahui persentase intensitas penyakit sehingga mendapatkan planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap *Fo* hasil pengimbasan dengan AS 5) Analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet *P. amabilis* meliputi visualisasi planlet, persentase jumlah planlet yang

hidup, dan analisis aktivitas enzim peroksidase hasil seleksi dengan asam salisilat dengan luaran meningkatnya aktivitas enzim peroksidase pada planlet *P. amabilis* yang tahan *Fo*. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Gambar 3.



Gambar 3. Bagan alir penelitian

E. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut.

1. Persiapan Medium Tanam

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vacint & Went* (VW) padat. Pembuatan medium tanam VW sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok (Lampiran 1), kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Akuades ditambahkan sampai tanda (1 liter) dan pH diatur sampai 5,5. Untuk mendapatkan pH 5,5 dilakukan penambahan KOH 1 N atau HCl 1 N. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar sebanyak 7 g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan untuk melarutkan agar-agar (sambil diaduk) sampai mendidih. Penambahan ZPT dilakukan setelah larutan medium diangkat, kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121 ^{0}C selama 15 menit.

2. Persiapan Medium Seleksi

Medium *Vacint & Went* ditambah asam salisilat dengan konsentrasi 65 ppm, 75 ppm, dan 85 ppm serta kontrol. Sebelum digunakan, asam salisilat yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter 0,45 µm sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22 µm satu kali. Penyaringan dilakukan

dalam ruang steril didalam LAF *Cabinet*. Selanjutnya AS ditambahkan ke dalam medium VW. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 ^{o}C) untuk memastikan bahwa AS telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

3. Penanaman Planlet dalam Medium Seleksi Asam Salisilat

Eksplan yang digunakan berupa planlet steril. Planlet-planlet dari botol kultur dikeluarkan dengan *scalpel* steril dan satu-persatu diletakkan di atas cawan petri berdiameter 10 cm, kemudian planlet dipilah satu-satu, setelah itu ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium perlakuan yang telah ditentukan seperti pada butir 2) di atas. Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan *P. amabilis* dalam setiap botol kultur.

4. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 4 minggu setelah penanaman untuk mengetahui konsentrasi AS yang toleran untuk seleksi planlet *P.amabilis* secara *in vitro* dengan parameter sabagai berikut.

a. Persentase Jumlah Planlet Hidup

Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah planlet *P. amabilis* yang hidup yaitu:

$$\frac{\text{Jumlah planlet hidup}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\%$$ (Nurcahyani dkk., 2014)

b. Visualisasi planlet

Visualisasi planlet diamati dengan warna tunas yang terbentuk dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna cokelat, cokelat. Data visualisasi planlet disajikan dalam bentuk persentase, yang dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\frac{\text{Jumlah planlet berwarna hijau/ hijau cokelat/ cokelat}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\%$$

(Nurcahyani dkk., 2014)

5. Pengujian Planlet Anggrek Bulan Terhadap *Fusarium oxysporum*

Setelah dilakukan pengamatan selama 4 minggu selanjutnya dilakukan inokulasi planlet *P. amabilis*.

a. Inokulasi *Fo* Pada Planlet Anggrek Bulan

Inokulasi monospora dilakukan menurut teknik Hadisutrisno (1995) sebagai berikut. Inokulasi *Fo* dilakukan secara langsung pada planlet anggrek bulan dalam botol kultur. Mikrokonidium jamur *Fo* dengan kerapatan spora 1,7 x 10^4 per mL diteteskan pada planlet 1-2 tetes. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar (25 ˚C) selama 24 jam. Pengamatan dilakukan selama 3 minggu dengan mengamati dan menghitung jumlah daun yang menunjukan gejala layu dengan indeks kelayuan menurut He *et al*. (2002) seperti di sajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Indeks kelayuan menurut He *et al*. (2002)

Skor	Keterangan
0	Tidak ada gejala kuning (layu atau tanaman sehat)
1	1-2 daun kuning (layu)
2	3 daun kuning (layu)
3	4 daun kuning (layu)
4	Lebih dari 4 daun kuning (layu) atau tanaman mati

Intensitas Penyakit (IP) dihitung dengan rumus :

$$IP = \frac{\Sigma(n \times v)}{N \times Z} \times 100\%$$

Keterangan :

IP : Intensitas Penyakit
n : Jumlah tanaman pada skor v
v : Nilai skor tertentu
N : Jumlah tanaman yang diuji
Z : Nilai skor tertinggi

Tingkat ketahanan tanaman ditentukan berdasarkan skoring dengan mengacu pada ketentuan Wibowo (2002) seperti ditunjukkan dalam Tabel 3 sebagai berikut.

Tabel 3. Tingkat Ketahanan tanaman menurut Wibowo (2002)

IP (%)	Kriteria Ketahanan
≤ 25	Tahan
25 < IP ≤ 50	Moderat
>50 atau mati	Rentan

Keterangan : IP = Intensitas Penyakit

6. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase

Setelah mengetahui ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* dilakukan analisisis aktivitas enzim peroksidase.

Aktivitas enzim peroksidase dianalisis dengan metode dari Saravanan *et al*. (2004). Dibuat campuran 1,5 mL 0,05 M pirogalol, 0,5 mL ekstrak enzim dari daun planlet *P. amabilis*, dan 0,5 mL 1% H_2O_2. Campuran diendapkan dalam suhu kamar dan dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 0,5 mL. Spektrofotometer (*Shimudzu UV 800*) diatur dengan panjang gelombang 420 nm dan dibaca dari nol. Aktivitas enzim dihitung dalam U/mg/min. Satu unit adalah aktivitas berubahnya OD 420 nm pada spektrofotometer per menit.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet *P. amabilis* selama seleksi dengan AS yang tahan terhadap *Fo* berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam. Analisis ragam dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Simpulan yang diperoleh dari penelitian ini meliputi:

1. Kisaran konsentrasi asam salisilat toleran untuk seleksi planlet anggrek bulan secara *in vitro* adalah 65-85 ppm.
2. Secara *in vitro* penekanan perkembangan jamur *Fo* menggunakan seleksi asam salisilat pada konsentrasi 85 ppm lebih efektif dibandingkan konsentrasi 65 dan 75 ppm. Konsentrasi asam salisilat 85 ppm mampu mengimbas ketahanan yang paling baik, sehingga mampu menekan intensitas penyakit hingga 0%.
3. Peningkatan secara nyata aktivitas enzim peroksidase terjadi pada planlet anggrek bulan yang diimbas dengan asam salisilat dibandingkan kontrol.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang karakterisasi planlet *P. amabilis* tahan *Fo* yang lain seperti: kandungan fenol, ketebalan lignin, analisis molekular baik profil protein maupun pola pita DNA nya.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

Agrios, GN. 1997. *Plant Pathology, 4th Ed*. Academic Press. San Diego, California. 635 pp.

Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology, 5th ed*. Elsevier Academic Press. California.

Ambar, A.A., Tjokrosoedarmo, A.H., Pusposendjojo, N., dan Wibowo, A. 2003. Patogenesis Isolat Fusarium Oxysporum F.Sp. Lycopersici dari 4 lokasi pada Tomat. *Agrosains*. XVI(2).

Amilah dan Y. Astuti. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada Media Vacin and Went (VW) terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.). *Buletin Penelitian.* No. 09.

Arai, M. and M. Takeuchi. 1993. Influence of Fusarium Wilt toxin(s) on Carnation cell. *Plant Cells, Tissue and Organ Culture* (34). Pp: 287-293.

Bouizgarne, B., Bouteau H.E.M., Frankart C., Reboutier D., Madiona K., Pennarun A.M., Monestiez, M., Trouverie J., Amiar Z., Briand J., Brault M., Rona J.P.. Ouhdouch Y., and Hadrami El. 2006. Early Physiological Responses of Arabidopsis Thaliana Cells to Fusaric Acid:Toxic and Signalling Effects. *New Phytologist* 169:209-218.

Campbell, N. A and Jane B. R. 2008. *BIOLOGI* Jilid 2 Edisi Kedelapan. Erlangga. Jakarta.

Chairul. 2003. *Identifikasi Secara Cepat Bahan Bioaktif Pada Tumbuhan di Lapangan*. Berita Biologi 6 (4): 621-628.

Djaenuddin, N. 2011. Bioekologi Dan pengelolaan Penyakit Layu Fusarium Oxysporium. *Seminar dan Pertemuan Tahunan XXI PEI*. 67-71.

Djatnika, I. 2012. Seleksi Bakteri Antagonis Untuk Mengendalikan Layu *Fusarium* pada Tanaman *Phalaenopsis*. *J. Hort* 22 (3): 276-284.

Do, H.M., Hong J.K., Jung H.W., Kim S.H., Ham J.H., and Hwang B.K. 2003. Expression of peroxidase-like genes, H2O2 production, and peroxidase activity during the hypersensitive response to *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* in *Capsicum annuum. Mol. Plant Microbe Interact.* 16:196-205.

Faradilla dan Purwantoro,A. 2012. *Induksi Ketahanan Pisang Terhadap Fusarium Oxysporum f.sp Cubense (Foc) Dengan Asam Salisilat Dan Asam Fusarat Dalam Kultur Jaringan*. Universitas Gadjah Mada. 62 p.

Fessenden, R. J. and Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik* Edisi ketiga Jilid kedua. Erlangga. Jakarta. Alih Bahasa Pudjaatmaka, A. H. Terjemahan dari : *Organic Chemistry, Third Edition.*

Ghosh, M. 2006. Antifungal properties of haem peroxidase from *Acorus calamus*. *Ann*. Bot. 98:1145-1153.

Hadi, H. 2003. Analisis Genetik Sifat Ketahanan Tanaman Karet Terhadap Penyakit Gugur Daun Corynespora. *Disertasi*. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.

Hadisutrisno, B. 1995. Pengendalian Hayati Penyakit Busuk Batang Vanili. *Buletin Azolla*. 2: 15-21.

He CY, Hsiang T, and Wolyn DJ. 2002. Induction of Systemic Disease Resistance and Pathogen Defence Responses in *Asparagus officinalis* Inoculated with Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology* 51:225-230.

Hoerussalam, Purwantoro, A, dan Khaeruni, A. 2013. Induksi Ketahanan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) Terhadap Penyakit Bulai Melalui Seed Trearment Serta Pewarisannya Pada Generasi S1. *Ilmu Pertanian.*16:42-59.

Huang, J.S. 2001. *Plant Patogenesis and Resistence, Biochemistry and Physiology of Plant-Microbe Interactions.* Kluwer Academic Publisher. Dordrecht.

Huang, L.C., Y.L. Lee, B.L. Huang, C.I. Kuo, and J.F. Shaw. 2002. High polyphenol oxidase activity and low titratable acidity in browning bamboo tissue culture. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 38(4):358-365.

Isharnani, C.E. 2015. Karakterisasi Planlet Anggrek Tanah (*Spathoglottis Plicata* Blume) Hasil Seleksi Dengan Asam Fusarat Secara *In Vitro*. Universitas Lampung. Skripsi. Tidak dipublikasikan.

Iswanto, H. 2005. *Merawat dan Membungakan Anggrek Phalaenopsis*. Agromedia Pustaka. Jakarta.

Iswanto, H. 2008. *Petunjuk Perawatan Anggrek.* Agromedia Pustaka. Jakarta.

Javaheri M, Mashayekhi K, Dadkhah A, and Travallaee F Z. 2012. Effects of salicylic acid on yield and quality characters of tomato fruit (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. IJACS.1:4-16.

Kessman, H., Staub, T., Hofmann, T. M., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., and Ryals, J. 1994. Induction of Systemic Acquired Disese Resistance in Plants by Chemical. Annu. Rev. *Phytopathol*. 32. pp 439- 459.

Kuzniak, E. 2001. Effects of Fusaric Acid on Reactive Oxygen Species (ROS) and antioxidants in Tomato Cell Cultures. *Journal of Phytopathology*. 149: 575-582

Lestari, E.G., D. Sukmadjaja, dan Mariska, I. 2006. Perbaikan Ketahanan Tanaman Panili Terhadap Penyakit Layu Melalui Kultur *In Vitro.Jurnal Litbang Pertanian.* 25(4):149-153.

Lin, M.J. and Hsu, B.D. 2004. Photosynthetic plasticity of *Phalaenopsis* in response to different light environments. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1259—1268.

Loon, L.C.V., W.S. Pierpoint, Th. Broller, and Conejero. 1994. Recommendations for Naming Plant Pathogenesis-related Proteins. *Plant Molecular Biology Report*. 12:245-264.

Mansfield, J.W. 2000. Antimikrobial Compounds and Resistance. *In*: A.J. Slusarenko, R.S.S. Fraser, and L.C. van Loon (eds), *Mechanisms of Resistance to Plant Disease*. Kluwer Academic Publiser. London.

Martin, K.P and Madassery, J.2006. *Rapid in vitro propagation of Dendrobium hybrids through direct shoot formation from foliar explants, and protocorm like bodies*. *Sci Hort* 108: 95-99.

Misaghi, I.J. 1982. *Physiology and Biochemistry of Plant-Pathogen Interaction*. Plenum Press, New York.

Murphy, A.M., A. Gilliand, C.E. Wong, J. West, D.P. Singh and J.P. Carr. 2001. Signal transduction in resistance to plant viruses. *Euro.J. Plant Pathol*. 107 :121-128.

Naylor, M., Murphy, A. M., Berry, J. O., and Carr, J. P. 1998. Salicylic Acid Can Induce Resistence to Plant Virus Movement. *Molecular Plant Microbe Interac*. 11. pp 860- 866.

Nugroho, A. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Kultur Jaringan.* Penebar Swadaya. Jakarta.

Nurcahyani, E., I. Sumardi, B. Hadisutrisno, dan E. Suharyanto. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*) Melalui Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro. Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika.* Terakreditasi SK No. 110/DIKTI/Kep/2009. ISSN: 1411-7525. Vol. 12 /No. 1: 12-22.

Nurcahyani, E. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi Asam Fusarat Terhadap *Fusarium oxyporum* f.sp. *Vanilla*. Universitas Gajah Mada. Disertasi. Tidak dipublikasikan.

Nurcahyani, E., B. Hadisutrisno, I. Sumardi, dan E. Suharyanto. 2014. Identifikasi galur planlet vanili *(Vanilla planifolia* Andrews*)* Resisten terhadap infeksi *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* hasil seleksi *in vitro* dengan asam fusarat. *Prosiding Seminar Nasional: "Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan".* Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar-Fakultas Pertanian UGM. ISBN 978- 602-71784-0-3./2014 Hal. 272- 279.

Nurcahyo, H. 2011. *Diktat Bioteknologi*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

Ozyigit, I.I., Kahraman M.V, and Ercan O. 2007. Relation between explant age, total phenols and regeneration response in tissue cultured cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *African J. Biotechnol*. Vol. 6 No. 1: 003-008.

Pandjaitan, E. 2005. Respons Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium sp*.) Terhadap Pemberian BAP dan NAA Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. Vol.3. No. 3. Pp: 45-51.

Phabiola, T.A. dan K. Khalimi. 2012. Pengaruh Aplikasi Formula Pantoea agglomerans Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Klorofil Daun Tanaman Strowberi. *Jurnal Agrotrop*. 2(2):125-131.

Pitojo, S. 2005. *Benih Tomat*. Kanisius. Yogyakarta.

Purnomo, T.W.S., Kristian R., dan Amitra P.S. 2007. *Asam Salisilat dari Phenol*. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa Press. Banten.

Purwati, P. 2012. Pengaruh Macam Media Dalam Keberhasilan Aklimatisasi Anggrek *Phalaenopsis Amabilis* (Anggrek Bulan). Program Studi Hortikultura Jurusan Budidaya Tanaman Pangan Politeknik Negeri Lampung.

Puspitaningtyas, D.M. dan Mursidawati.2010. *Koleksi Anggrek Kebun Raya Bogor*. UPT Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPI. Bogor.1(2).

Putri, O.S.A, Sastrahidayat, I.R., dan Djauhari, S. 2014. Pengaruh Metode Inokulasi Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Terhadap Kejadian Penyakit Layu *Fusarium* Pada Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Jurnal HPT* 2 (3): 2338 – 4336.

Quiroga, M., C. Guerrero, M.A. Botella, A. Barcelo´, I. Amaya, M.I. Medina, F.J. Alonso, S.M., De F., Tigier H., and Valpuesta V. 2000. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. *Plant Physiol*. 122:1119-1127.

Rivas, M. and Plasencia J. 2011. Salicylic Acid Beyond Defence: its Role in Plant Growth and Development. *Journal of Experimental Botany* 62 (10): 3321–3338.

Rosdiana. 2010. Pertumbuhan Anggrek Bulan (*Phalaenopsis Amboinensis*) Endemik Sulawesi, Pada Beberapa Jenis Dan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Secara *In Vitro. Jurnal Agrisistem*.6(2).

Rukmana, R. 2008. *Budidaya Anggrek Bulan*. Penerbit Kanisisus. Yogyakarta.

Ryals, J. A, Neuenschwander U. H, Willits M. G, Molina A, Steiner H. Y, and Hunt M. D. 1996. Systemic Acquired Resistance. *Plant Cell*. 8:1809-1819.

Shah, J. 2003. The salicylic acid loop in plant defense. Curr. Opin. *Plant Biol.* 6:365-371.

Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Saravanan, T., R. Bhaskaran, and M. Muthusamy. 2004. *Pseudomonas fluorescens* Induced Enzymological Changes in Banana Roots (cv. Rasthali) against *Fusarium* Wilt Disease. *Plant Pathology Journal.* 3: 72-80.

Semangun, H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta. 754 p.

Sujatmiko, B., E. Sulistyaningsih, dan R.H. Murti. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis melo* L.) Terhadap Layu Fusarium Secara *In Vitro* Dengan Asam Salisilat. *Ilmu Pertanian*. Vol.15 No.2. Pp: 1-18.

Sukmadjaja, D., I. Mariska, E.G. Lestari, M. Kosmiatin, dan M. Tombe Hobir. 2002. Seleksi silang tunas abaka dengan asam fusarat atau filtrat *Fusarium oxysporum* dan regenerasinya membentuk plantlet. Prosiding seminar hasil penelitian rintisan dan bioteknologi tanaman: 276-288.

Sumardiyono, C. 2000. Ketahanan Terimbas, Kendala, dan Prospeknya dalam Pengendalian Penyakit Tumbuhan. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Suryanti, Chinta, Y.D., dan Sumardiyono,D. 2009. Pengimbasan Ketahanan Pisang Terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Asam Salisilat *In Vitro*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 15 (2)pp: 90-95.

Suryowinoto,M. 1996. *Pemulihan Tanaman Secara In Vitro.* Kanisius. Yogyakata.

Susilowati, E. 2015. Seleksi Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis Amabilis* (L.) Bl.) dengan Asam Salisilat Secara *In Vitro* Terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil. Universitas Lampung. Skripsi. Tidak dipublikasikan.

Tabiyeh, D.T., F. Bernard, and H. Shacker. 2006. Investigation of glutathione, salicylic acid and GA3 effects on browning in *Pistacia vera* shoot tips culture. ISHS Acta Hort. 726.

Tjitrosoepomo, G. 2012. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Vlot, A.C., D.F. Klessig & S.W. Park. 2008. Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). *Curr. Opin. Plant Biol* 1 (1): 436-442.

Wattimena, G.A, Gunawan,L.W, Mattjik,N.A, Syamsudin,E.,Wiwin,N.M., dan Ernawati,A. 1992. *Bioteknologi Tanaman.* Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat antar Universitas Bioteknologi-IPB. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor.

Wedge,D.E and Elmer W.H. 2008. Fusarium Wilt of Orchids. *ICOGO Bull*. 2 (3): 161-168.

Wibowo, A. 2002. Pengendalian penyakit layu fusarium pada pisang dengan menggunakan isolat non patogenik *Fusarium sp*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*.6:65-70.

Yanti, Y. 2011. Aktivitas Peroksidase Mutan Pisang Kepok dengan *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) secara *In Vitro.* Jurnal Nature Indonesia. 14 (1). Pp 32-36.

Yuhermita. 2002. Fenotip Peroksidase Pada Cabai Keriting (*Capsicum annum*) dan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*). Universitas Ahmad Dahlan. Skripsi. Tidak dipublikasikan.