

**KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK BULAN
(*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) HASIL INOKULASI *Rhizoctonia* sp. DAN
INDUKSI ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

FERZA HATNI



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2017**

**KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK BULAN
(*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) HASIL INOKULASI *Rhizoctonia* sp. DAN
INDUKSI ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

Oleh

FERZA HATNI

ABSTRAK

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) merupakan tanaman hias yang banyak diminati oleh masyarakat karena memiliki bentuk dan warna bunga yang sangat indah, selain itu memiliki nilai ekonomi yang tinggi, kendala dalam pembudidayaan *P.amabilis* salah satunya adalah penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh jamur *F.oxysporum*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakter yang spesifik pada planlet anggrek *P.amabilis* setelah diinokulasi *Rhizoctonia* sp. dan diinduksi asam salisilat serta untuk mengetahui interaksi antara asam salisilat dan *Rhizoctonia* sp. terhadap kandungan klorofil a, b dan total, aktivitas enzim peroksidase dan indeks stomata. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2016 sampai dengan Januari 2017 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) menggunakan dua faktor, yaitu inokulasi *Rhizoctonia* sp. dengan 2 taraf: V₀ (tidak diinokulasi *Rhizoctonia* sp.) dan V₁ (diinokulasi *Rhizoctonia* sp.) serta konsentrasi asam salisilat dengan 4 taraf: 0 ppm, 85 ppm, 95 ppm, dan 105 ppm dengan 4 kali ulangan. Parameter yang diamati adalah kandungan klorofil a, b dan total, aktivitas enzim peroksidase serta indeks stomata. Homogenitas ragam menggunakan uji Levene dilanjutkan dengan analisis ragam pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan BNT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa planlet *P.amabilis* yang diinokulasi *Rhizoctonia* sp. dan diinduksi asam salisilat pada berbagai konsentrasi memiliki karakter yang berbeda dibandingkan kontrol. Kandungan klorofil a, b dan total serta enzim peroksidase mengalami peningkatan dengan semakin meningkatnya konsentrasi asam salisilat dan konsentrasi yang toleran adalah 105 ppm, serta terdapat interaksi antara asam salisilat dengan *Rhizoctonia* sp. terhadap indeks stomata.

Kata kunci: *Phalaenopsis amabilis*, asam salisilat, *Rhizoctonia* sp., *in vitro*.

KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK BULAN
(*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) HASIL INOKULASI *Rhizoctonia* sp. DAN INDUKSI
ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO*

Oleh

Ferza Hatni

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2017

Judul Skripsi : **KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK BULAN (*Phalaenopsis amabilis* (L.) BL.) HASIL INOKULASI *Rhizoctonia* sp. DAN INDUKSI ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Ferza Hatni**

No. Pokok Mahasiswa : 1317021027

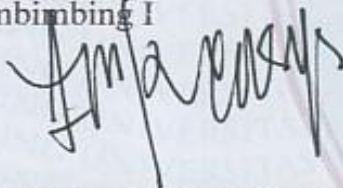
Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

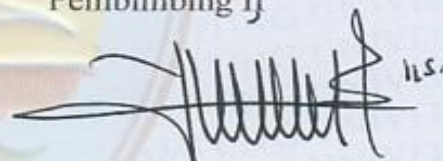
1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



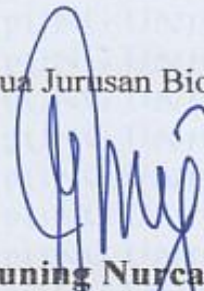
Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP 19651031 199203 2 003

Pembimbing II



Dra. Yulianty, M.Si.
NIP 19650713 199103 2 002

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

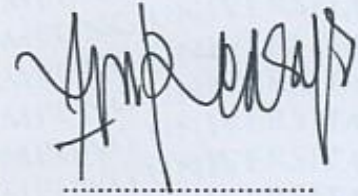


Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

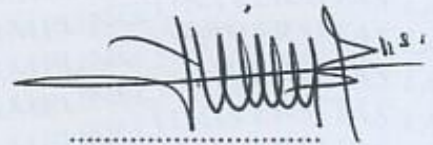
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

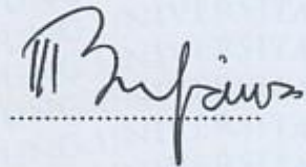
Ketua : **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**



Sekretaris : **Dra. Yulianty, M.Si.**



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



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.

NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **28 April 2017**

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 27 Februari 1995 sebagai anak kedua dari empat bersaudara, dari Alm Bapak Zon Ideal dan Ibu Marnida,

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di TK Dewi Sartika dan menyelesaikannya pada tahun 2001, selanjutnya penulis menempuh pendidikan dasar di SD N 1 Sukarame, Bandar

Lampung dan menyelesaikannya tahun 2007, pendidikan tingkat menengah pertama hingga tahun 2010 di SMP N 1 Bandar Lampung. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA N 9 Bandar Lampung dan menyelesaikannya tahun 2013. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di kampus penulis pernah menjadi asisten praktikum pada mata kuliah biosistemika tumbuhan. Selain itu penulis juga aktif di dunia organisasi kampus.

Aktivitas organisasi penulis dimulai sejak menjadi Anggota Muda Biologi (Amuba) tahun 2013–2014. Selanjutnya penulis aktif dalam Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila sebagai bendahara Bidang Kaderisasi tahun 2014-2015 dan anggota bidang Kaderisasi tahun 2015-2016. Penulis juga aktif di organisasi eksternal kampus seperti Earth Hour Lampung dan Taman Baca Lampung.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Harapan Jaya Kabupaten Pesawaran dari bulan Januari - Maret 2016. Pada bulan Juli - Agustus 2016 penulis melaksanakan Kerja Praktik di Soerjanto Orchids Batu, Jawa Timur dengan judul **“Perbanyak Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Menggunakan Medium *Vacin and Went* dengan Penambahan Arang Aktif secara *In Vitro* di Soerjanto Orchids Batu, Jawa Timur”**. Penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Botani Ruang *In Vitro* Jurusan Biologi pada bulan November 2016 sampai Januari 2017.

Segala puji hanya milik Allah SWT yang telah memberikanku kekuatan, kesabaran, kesehatan, rizeki serta karunia dan kemudahan. Shalawat serta salam terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Kupersembahkan karya ini kepada orang-orang terkasih dan kusayangi :

Kepada Ayahanda dan Ibunda sebagai tanda hormat dan rasa terimakasih yang tiada terhingga atas segala dukungan, motivasi, kesabaran dalam mendidikku, cinta kasih dan semangat untuk menjadi pribadi yang kuat serta doa yang tiada hentinya.

Para guru dan dosen yang telah mendidik dan mengajariku hingga hari ini dengan dedikasi dan keikhlasannya.

Kakak perempuan dan kedua adik perempuanku yang terus memberi dukungan serta memotivasiku untuk terus berkarya.

Sahabat-sahabat terbaik dan teman-teman seperjuanganku yang banyak memberikan pengalaman berharga, selalu ada untuk saling menguatkan dan mengingatkan.

Dan untuk seseorang yang namanya selalu kusebut dalam do'a, memberi warna dalam hidupku, menemani setiap perjuanganku dan yang menjadi alasan untuk aku terus melangkah. Semoga dirimu yang telah Allah siapkan untuk menjadi pendamping hidupku.

Almamaterku tercinta



MOTO

*Cukuplah Allah menjadi Penolong kami dan Allah adalah
sebaik-baik Pelindung (QS. Ali 'Imran: 173)*

*“Manusia yang paling dicintai Allah adalah manusia yang
paling bermanfaat untuk sesama “. (HR. Thabrani)*

MAN JADDA WAJADA

(Siapa yang bersungguh – sungguh akan mendapatkannya)

MAN SHABARA ZHAFIRA

(Siapa yang bersabar akan beruntung)

“Do The Best and Pray. God will Take Care of The Rest”

SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, karunia serta nikmat-Nya yang tak terhitung sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “**Karakterisasi Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Hasil Inokulasi *Rhizoctonia* sp. dan Induksi Asam Salisilat Secara *In Vitro***”. Shalawat teriring salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah SAW beserta keluarga dan sahabat serta umatnya di akhir zaman, Aamiin.

Penulisan Skripsi ini tidak terlepas dari perhatian, bimbingan, masukan, arahan serta nasehat dalam menyelesaikan studi. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang tinggi kepada Ibu **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si**, selaku pembimbing I dan kepada Ibu **Dra. Yulianty, M.Si**, selaku pembimbing II yang telah membimbing penulis dalam penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pula kepada :

1. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku Pembahas atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta semangat kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga terselesainya skripsi ini.

2. Bapak Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc. selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, kritik, dan sarannya kepada penulis dalam menempuh pendidikan di Jurusan Biologi.
3. Kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta seluruh staf teknisi, yang telah memberikan izin, fasilitas, dan bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
4. Ketua Jurusan Biologi, Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Rektor Universitas Lampung atas semua fasilitas yang diberikan.
5. Bapak Ibu Dosen yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang sudah diberikan selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
6. Kedua orangtuaku Bapak Zon Ideal (Alm) terimakasih selama masa hidupmu telah membimbing, mengajari dan memberikan dukungan, dengan selalu mengingatkanmu menjadi acuan semangat penulis untuk bisa menyelesaikan karya ini. Ibu Marnida, S.Pd yang telah memberikan seluruh tenaga, pikiran, semangat dukungan serta doa yang tiada hentinya, dan nasehat-nasehat sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
7. Kakak perempuanku tercinta Zorda Alfiani adik-adik perempuanku tersayang Arniz Linzani dan Noveli Azura, Kakak iparku M. Ardiansyah dan keponakan pertama Khanza Alfathunissa Arza serta seluruh keluarga besar terimakasih atas semangat, dukungan serta doanya untuk penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Teman-teman seperjuangan penelitian Bioteknologi Tumbuhan – Kultur Jaringan Adhe, Siska, Ariska, Ira, Sita, Ellia dan Mila, terimakasih untuk semua kerjasama, kebersamaan, semangat, saran dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
9. Kakak – kakak penelitian Bioteknologi Tumbuhan – Kultur Jaringan mba Ria, mba Lulu, mba Asri, mba Jevica, mba Imamah dan kak Abdi terimakasih untuk semua ilmu, semangat, saran dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
10. Sahabat terbaik semasa kuliah Wanita Sholeha ku Siska, Ariska, Adhe, Bella Noor, Bella Rizcikal, Firda, Nadia, Ira dan Niswatun terimakasih atas kebersamaannya selama ini dari awal masuk perkuliahan hingga akhir selalu ada untuk penulis.
11. Sahabat SMA (Dessert) Nina, Fatya dan Renardi terimakasih atas kebersamaan yang masih terjalin sampai saat ini, semoga silaturahmi kita dapat terjaga sampai kapanpun.
12. Sahabat seperjuangan angkatan Biologi 2013 yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas kebersamaan, dukungan serta doanya selama ini.
13. Kakak tingkat Biologi 2010, 2011, 2012, adik-adik tingkat 2014, 2015, 2016, dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.

14. Keluarga besar KKN desa Harapan Jaya, Kabupaten Pesawaran dan kelompok KKN Maria, Annisa, Mba Meta, Halimah, Kak Rian dan kak Edo terimakasih untuk pengalaman, pembelajaran serta kebersamaanya selama 60 hari.

15. Almamater Tercinta.

Akhir kata, Penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan berguna bagi semua pihak, berguna bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, Mei 2017

Penulis,

Ferza Hatni

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
PERSEMBAHAN	v
MOTO	vi
SANWACANA	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	5
D. Kerangka Pikir	5
E. Hipotesis	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tanaman Anggrek Bulan	8
B. Penyakit Layu Fusarium	11
C. Mikoriza <i>Rhizoctonia</i> sp.	13
D. Asam Salisilat	15
E. Kultur <i>in vitro</i>	16
F. Ketahanan Terimbas	18
G. Stomata	20

III. METODE PENELITIAN	22
A. Waktu dan Tempat Penelitian	22
B. Alat dan Bahan	22
1. Alat	22
2. Bahan.....	23
C. Rancangan Percobaan.....	23
D. Bagan Alir Penelitian	25
E. Pelaksanaan Penelitian	27
1. Persiapan Medium Tanam	27
2. Inokulasi mikoriza <i>Rhizoctonia</i> sp.	28
3. Induksi planlet <i>P.amabilis</i> dengan asam salisilat.....	28
4. Penanaman planlet pada medium penelitian	29
F. Pengamatan.....	29
1. Persentase jumlah planlet yang hidup	29
2. Visualisasi Planlet	29
3. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase.....	30
4. Analisis kandungan klorofil	30
5. Analisis Indeks Stomata	31
G. Analisis Data	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
A. Persentase Jumlah Planlet yang Hidup dan Visualisasi Planlet....	34
B. Kandungan Klorofil.....	38
a. Klorofil a	39
b. Klorofil b	42
c. Klorofil total	44
C. Aktivitas Enzim Peroksidase.....	46
D. Indeks Stomata	49
V. SIMPULAN DAN SARAN	54
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata letak satuan percobaan.....	24
2. Kode perlakuan satuan percobaan.....	24
3. Persentase jumlah planlet yang hidup hasil inokulasi <i>Rhizoctonia</i> sp. dan induksi Asam salisilat	34
4. Visualisasi anggrek bulan hasil inokulasi <i>Rhizoctonia</i> sp. dan induksi asam salisilat.....	35
5. Rata-rata kandungan klorofil a daun planlet anggrek bulan (<i>Phalaenopsis amabilis</i>).....	39
6. Rata-rata kandungan klorofil b daun planlet anggrek bulan (<i>Phalaenopsis amabilis</i>).....	41
7. Rata-rata kandungan klorofil total daun planlet anggrek bulan (<i>Phalaenopsis amabilis</i>).....	43
8. Rata-rata aktivitas enzim peroksidase planlet anggrek bulan (<i>Phalaenopsis amabilis</i>).....	46
9. Rata-rata indeks stomata daun planlet anggrek bulan (<i>Phalaenopsis amabilis</i>).....	51
10. Komposisi medium <i>Vacin and Went</i> (VW).....	64
11. Jumlah Planlet yang Hidup dan Visualisasi Planlet Per-Minggu.....	65
12. Analisis Ragam <i>two-factor</i> klorofil a.....	68
13. Analisis Ragam <i>two-factor</i> klorofil b.....	69
14. Analisis Ragam <i>two-factor</i> klorofil total.....	70
15. Analisis Ragam <i>two-factor</i> aktivitas enzim peroksidase.....	71
16. Analisis Ragam <i>two-factor</i> indeks stomata.....	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bunga Anggrek Bulan (<i>Phalaenopsis amabilis</i>)	9
2. Struktur Kimia Asam Salisilat	16
3. Bagan Alir Penelitian	26
4. Planlet anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> setelah 2 minggu	37
5. Permukaan bawah daun anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> yang menunjukkan stomata.....	49
6. Kurva interaksi terhadap indeks stomata.....	52
7. Penimbangan komposisi medium.....	73
8. Pembuatan medium VW.....	73
9. Penambahan isolat <i>Rhizoctonia</i> sp. pada medium tanam.....	74
10. Penanaman planlet pada medium VW.....	74
11. Planlet yang sudah di tanam pada medium.....	75
12. Pembuatan ekstraksi untuk analisis klorofil dan aktivitas enzim peroksidase.....	75
13. Proses sentrifuge larutan ekstrak klorofil dan analisis aktivitas enzim peroksidase.....	76
14. Larutan ekstraksi daun planlet anggrek bulan untuk analisis kandungan klorofil a,b dan total.....	76
15. Larutan ekstraksi daun planlet anggrek bulan untuk analisis aktivitas enzim peroksidase.....	77

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keragaman varietas dan jenis tanaman hortikultura antara lain tanaman anggrek (Ramadiana *et al.*, 2008). Anggrek merupakan tanaman hias yang banyak disenangi oleh masyarakat luas, selain memiliki warna bunga yang menarik, anggrek juga memiliki nilai jual yang tinggi sehingga dapat menarik banyak peminat. Produksi anggrek terutama anggrek bulan di Indonesia masih jauh tertinggal dibandingkan dengan negara-negara lain seperti Thailand, Taiwan, Singapura dan Australia (Purwati, 2012).

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) memiliki bentuk bunga yang sangat indah, oleh karena itu anggrek bulan ditetapkan sebagai bunga nasional Indonesia berdasarkan Keputusan Presiden Nomor 4/1993. Indonesia memiliki tiga bunga nasional, yaitu bunga melati (*Jasminum sambac* L.) sebagai puspa bangsa, bunga padma raksasa (*Rafflesia arnoldi* R. Br.) sebagai puspa langka, dan anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) sebagai puspa pesona (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) ditemukan oleh Dr. C. Blume sebagai jenis pertama dalam marga *Phalaenopsis*, selain sebagai tanaman hias yang memiliki daya tarik dan nilai jual yang tinggi anggrek bulan juga memiliki manfaat yang lain yaitu dapat digunakan sebagai induk persilangan dan bunga potong (Lin dan Hsu, 2004).

Karena tingginya permintaan akan anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) dan kurangnya ketersediaan bibit, maka dilakukan perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Banyak keuntungan yang bisa didapat dari kultur *in vitro* antara lain dapat melakukan perbanyakan anggrek baik yang sulit maupun yang mudah dikembangkan secara konvensional, dan yang paling penting dapat memperoleh anakan dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat sehingga dapat mengimbangi permintaan konsumen terhadap anggrek bulan (Rosdiana, 2010).

Penyakit pada tanaman juga terjadi pada tanaman anggrek yang dikembangkan lewat kultur *in vitro* sekalipun, penyakit yang biasanya disebabkan oleh jamur patogen, bakteri ataupun virus yang menyerang bagian-bagian pada tubuh tanaman yang nantinya akan menghambat pertumbuhan tanaman tersebut (Djatnika, 2012). Salah satu penyakit yang sering terjadi pada tanaman anggrek adalah penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum*, biasanya penyakit ini akan menyerang bagian akar yang terluka (Pandjaitan, 2005).

Cara efektif dalam mengendalikan penyakit tanaman dan aman terhadap lingkungan yaitu dapat dilakukan dengan meningkatkan ketahanan tanaman, sehingga tidak menimbulkan dampak negatif seperti penggunaan pestisida (Ambar dkk., 2003).

Ketahanan terimbas adalah ketahanan suatu tanaman terhadap beberapa patogen yang salah satu komponennya adalah asam salisilat, asam salisilat merupakan komponen jalur sinyal transduksi (Huang, 2001), selain asam salisilat agen 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).

Hasil penelitian Noviantia (2016) pada tanaman anggrek *P. amabilis* menunjukkan seleksi menggunakan asam salisilat secara *in vitro* pada konsentrasi 85 ppm lebih efektif dalam penekanan perkembangan jamur *F. oxysporum* dibandingkan konsentrasi 65 dan 75 ppm. Konsentrasi asam salisilat 85 ppm mampu mengimbas ketahanan yang paling baik, sehingga mampu menekan intensitas penyakit hingga 0%.

Hasil penelitian Soelistijono (2015) yang meneliti mengenai ketahanan anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap *Fusarium* sp. dengan menggunakan *Rhizoctonia* mikoriza dataran rendah dan sedang menunjukkan bahwa terdapat peningkatan ketahanan anggrek *P. amabilis* sesudah diprainokulasi

Rhizoctonia mikoriza dataran rendah dan sedang yang ditandai dengan menurunnya persentase serangan *Fusarium* sp.

Penggunaan jamur mikoriza seperti *Rhizoctonia* juga dapat dilakukan sebagai salah satu cara pengendalian hayati terhadap patogen tular udara, *Rhizoctonia* tersebut berguna untuk ketahanan terimbas tanaman anggrek terhadap penyakit busuk daun atau layu fusarium (Agrios, 2005). *Rhizoctonia* mikoriza merupakan salah satu kelompok *Rhizoctonia* spp. yang mampu berasosiasi dengan anggrek (Hayakawa, *et al.*, 1999). Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) mampu bersimbiosis dengan jaringan akar anggrek dan membentuk lilitan hifa yang menempel pada jaringan korteks akar, asosiasi anggrek *P. amabilis* dengan Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) akan berpengaruh pada pertumbuhan anggrek *P. amabilis* yang meningkat (Smith & Read, 2008).

Sejauh ini, penelitian mengenai pengaruh inokulasi *Rhizoctonia* sp. dan induksi asam salisilat terhadap planlet anggrek *P. amabilis* belum pernah dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui karakterisasi planlet anggrek *P. amabilis* setelah diimbas dengan asam salisilat dan *Rhizoctonia* sp. secara *in vitro*. Hasil penelitian ini nantinya diharapkan mampu memberikan informasi mengenai karakter yang spesifik terhadap planlet anggrek *P. amabilis* setelah diinokulasi *Rhizoctonia* sp. dan diinduksi asam salisilat.

B. Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui karakter yang spesifik pada planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* setelah diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dan diinduksi asam salisilat.
2. Mengetahui interaksi antara asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) terhadap kandungan klorofil a, b dan total, aktivitas enzim peroksidase dan indeks stomata.

C. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakter yang spesifik pada planlet *Phalaenopsis amabilis* setelah diinduksi asam salisilat dan diinokulasi *Rhizoctonia* sp. secara *in vitro*. Membantu masyarakat terutama petani anggrek dalam mengembangkan budidaya tanaman anggrek. Secara ilmiah diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan dan penyakit tanaman.

D. Kerangka Pemikiran

Anggrek *P. amabilis* adalah salah satu jenis tanaman anggrek yang banyak diminati oleh berbagai kalangan dikarenakan bentuk dan warnanya yang sangat indah, tetapi disamping keindahannya anggrek bulan memiliki masalah dalam pertumbuhan yaitu penyakit layu Fusarium yang disebabkan

oleh jamur *Fusarium oxysporum*. Jamur *F. oxysporum* ini menyerang akar yang terluka dan bersifat sangat mematikan bagi tanaman anggrek. Salah satu cara alternatif pengendalian penyakit yang efektif dan aman terhadap lingkungan adalah dengan meningkatkan ketahanan tanaman.

Upaya meningkatkan ketahanan tanaman yang tahan terhadap *F. oxysporum* dengan daya hasil tinggi merupakan cara alternatif pengendalian penyakit dan tidak menimbulkan dampak negatif seperti penggunaan pestisida.

Pengembangan ketahanan tanaman terhadap *F. oxysporum* tersebut dapat dilakukan dengan metode seleksi *in vitro* yaitu mengkulturkan eksplan berupa organ atau jaringan pada medium yang mengandung asam salisilat dengan konsentrasi selektif.

Asam salisilat merupakan komponen jalur sinyal transduksi yang dapat menyebabkan ketahanan tanaman pada beberapa patogen. Pada tumbuhan terbentuknya asam salisilat merupakan suatu bentuk pertahanan terhadap serangan patogen, ketahanan alami yang terbentuk ini berupa produksi fitoaleksin dan penambahan sel lignin, peningkatan aktivitas enzim peroksidase dan kandungan klorofil.

Penggunaan jamur mikoriza seperti *Rhizoctonia* sp. juga dapat dilakukan sebagai salah satu cara pengendalian hayati terhadap patogen tular udara, *Rhizoctonia* sp. tersebut berguna untuk ketahanan terimbas tanaman anggrek terhadap penyakit busuk daun atau layu fusarium. Mikoriza *Rhizoctonia* sp.

merupakan salah satu kelompok *Rhizoctonia* sp. yang mampu berasosiasi dengan anggrek. *Rhizoctonia* mampu bersimbiosis dengan jaringan akar anggrek dan membentuk lilitan hifa yang menempel pada jaringan korteks akar.

Berdasarkan kerangka pikir di atas, maka dilakukan penelitian tentang karakterisasi planlet anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) hasil inokulasi *Rhizoctonia* sp. dan induksi asam salisilat secara *in vitro*.

E. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini sebagai berikut:

1. Terdapat karakter yang spesifik pada planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* setelah diinokulasi dengan *Rhizoctonia* sp. dan diinduksi dengan asam salisilat.
2. Terdapat interaksi antara asam salisilat dan mikoriza *Rhizoctonia* sp. terhadap kandungan klorofil a, b dan total, aktivitas enzim peroksidase dan indeks stomata.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.)

1. Klasifikasi

Klasifikasi bunga anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) dalam sistem klasifikasi Cronquist (1981) dan APG II adalah sebagai berikut :

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Asparagales
Suku	: Orchidaceae
Marga	: <i>Phalaenopsis</i>
Jenis	: <i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Bl.

2. Morfologi Anggrek Bulan

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*)
(Foto Hatni, diambil di Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur, 2016)

Anggrek bulan memiliki dua macam akar yaitu akar lekat dan akar udara. Kedua akar tersebut memiliki fungsi yang berbeda. Akar lekat berfungsi untuk melekat dan menahan keseluruhan tanaman agar tetap berada di posisinya, sedangkan akar udara berfungsi untuk menyerap unsur hara yang diperlukan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Rukmana, 2008).

Batang dari anggrek bulan 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 dan 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).

3. Sejarah mengenai Anggrek Bulan

Sejarah ditemukannya tanaman anggrek bulan terjadi pada abad ke-17. Rumphius disebut sebagai orang yang pertama kali menemukan jenis anggrek bulan di Ambon pada tahun 1750, yang kemudian diberi nama *Epidendrum albummajus*. Pada tahun 1773, Linnaeus memberikan nama *Epidendrum amabilis* pada jenis anggrek bulan di Nusakambangan, yang kemudian diberi nama *Phalaenopsis amabilis*. Sejak saat itu sampai sekarang, anggrek bulan dikategorikan dalam marga *Phalaenopsis* (Rukmana, 2008).

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan peringkat pertama dari 10 besar pasar bunga potong Internasional, dikarenakan anggrek bulan merupakan tanaman hias anggota suku Orchidaceae yang banyak disukai oleh konsumen di seluruh dunia dan bernilai ekonomi tinggi baik sebagai tanaman pot atau sebagai bunga potong. Nilai ekonomi bunga anggrek ditentukan dari warna, bentuk, keindahan, ukuran dan keseringannya berbunga serta anggrek bulan menduduki peringkat

pertama dari 10 besar pasar bunga potong internasional tersebut (Martin dan Madassery, 2006).

Anggrek bulan adalah salah satu jenis dari marga *Phalaenopsis* yang berperan sebagai induk karena dapat menghasilkan berbagai keturunan atau hibrida. Keistimewaan lainnya yaitu dapat berbunga sepanjang tahun dengan masa rata-rata berbunga selama satu bulan (Iswanto, 2010).

4. Syarat Tumbuh Anggrek Bulan

Anggrek bulan hidup atau dapat tumbuh di daerah yang teduh dan lembab, dari dataran rendah sampai pegunungan yang umumnya pada ketinggian 50-600 mdpl dan dapat berkembang dengan baik pada ketinggian 700-1.100 mdpl. Anggrek bulan termasuk anggrek epifit monopodial yang tumbuh menjuntai. Walaupun 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. Kelembapan udara yang diperlukan rata-rata 70-80% dengan suhu udara hangat di bawah 29 °C (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

B. Penyakit Layu *Fusarium*

Penyakit layu *Fusarium* disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum*, cendawan ini menyerang tanaman yang dapat menyebabkan jaringan xilem tampak berwarna coklat. Cendawan pada tanaman akan membentuk

polipeptida likomarasmin yang menghambat permeabilitas membran plasma pada jaringan tanaman sehingga mengganggu proses penyerapan air dan zat hara pada tanaman. Cendawan ini dapat bertahan di dalam tanah, berkas pengangkut, biji dan sisa tanaman yang mati serta penularan cendawan dari satu tanaman ke tanaman lain dengan mudah yaitu dapat melalui kontak akar, alat pertanian, angin, air hujan dan binatang (Pitojo, 2005).

F. oxysporum adalah cendawan tanah yang dapat bertahan lama dalam tanah sebagai kladospora dan banyak ditemukan dalam akar-akar yang sakit. Cendawan dapat bertahan juga pada akar bermacam-macam rumput dan pada tanaman marga *Heliconia*. Jamur *F. oxysporum* menyerang melalui akar terutama akar yang luka. Baik luka mekanis maupun luka yang disebabkan nematoda *Radophulus similis*, tetapi tidak bisa masuk melalui batang atau akar rimpang, meskipun bagian ini dilukai (Semangun, 1996).

Cendawan *F. oxysporum* 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 *F. oxysporum* adalah 20-30 °C maksimum pada 37 °C atau suhu minimum sekita 5 °C, sedangkan optimum untuk perkembangan spora adalah 20-25 °C (Djaenuddin, 2011).

Penyakit tanaman yang disebabkan oleh cendawan *F. oxysporum* sangat merugikan dan berbahaya bagi tanaman, pada tanaman yang masih muda serangan penyakit layu *Fusarium* akan menyebabkan tanaman mati secara mendadak karena terjadinya kerusakan pada pangkal batang. Tanaman yang terserang *F. oxysporum* juga akan menunjukkan gejala-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 keseluruhan (Semangun, 2001).

Penyakit layu *Fusarium* ini dapat menyerang berbagai jenis tanaman, antara lain tomat, kentang dan tanaman hias seperti krisan, gladiol, lili, tulip dan anyelir. Bagian tanaman yang diserang oleh cendawan *F. oxysporum* adalah ujung akar lateral atau ujung akar utama dan akan bergerak secara intraseluler atau interseluler dalam jaringan parenkim (Lestari dan Mariska, 2006).

C. Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) merupakan salah satu kelompok *Rhizoctonia* spp. yang mampu berasosiasi dengan anggrek (Hayakawa *et al.*, 1999).

Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) mampu bersimbiosis dengan jaringan akar anggrek dan membentuk lilitan hifa yang menempel pada jaringan korteks akar. Asosiasi tersebut terjadi pada saat embrio membentuk akar dan tunas dikenal dengan protocorm. Protocorm akan berkembang menjadi tanaman yang sempurna yang dikenal sebagai plantlet dan jaringan hifa Mikoriza

(*Rhizoctonia* sp.) akan berada di bagian korteks akar anggrek membentuk peloton (Smith & Read, 2008). Mekanisme mikoriza menginfeksi sistem perakaran tanaman inang, memproduksi jalinan hifa secara intensif sehingga tanaman yang mengandung mikoriza akan mampu meningkatkan kapasitas dalam penyerapan unsur hara (Iskandar, 2001).

Tanaman anggrek merupakan salah satu tanaman yang memerlukan infeksi jamur mikoriza untuk melengkapi siklus hidupnya (Andersen & Rasmussen, 1996). Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) berasosiasi dengan jaringan akar anggrek dengan cara membentuk gulungan hifa atau “*peloton*” (Peterson & Farquhar, 1994). Adanya mikoriza pada tanaman memiliki banyak manfaat yang sangat besar bagi tanaman tersebut seperti dalam membantu meningkatkan penyerapan unsur-unsur hara dan nutrisi yang penting bagi tanaman (Satter *et al.*, 2006).

Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) yang mampu berasosiasi dengan akar anggrek adalah *Rhizoctonia* binukleat. *Rhizoctonia* jenis ini sering digunakan sebagai agen pengendali hayati karena bersifat hipovirulen (Suryanti *et al.*, 2009). Cara kerja *Rhizoctonia* binukleat hanya menginfeksi bagian sel epidermis yang mana dinding selnya kaya akan endapan elektron, lignin, suberin maupun senyawa-senyawa fenolat yang sering berperan dalam proses pertahanan terhadap patogen (Kasiamdari, 2000).

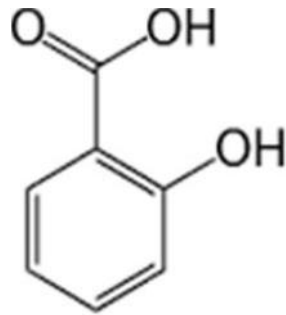
Salah satu cara pengendalian hayati terhadap patogen tular udara adalah dengan menggunakan jamur mikoriza seperti *Rhizoctonia* sp. untuk mengimbas ketahanan tanaman anggrek terhadap penyakit busuk daun berupa pengendalian terhadap patogen dengan memanfaatkan agen biologi yang bersifat non virulen yang diprainokulasikan pada tanaman, sehingga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ketahanan terhadap patogen utama (Agrios, 2005).

D. 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_4COOH berbentuk kristal kecil berwarna merah muda terang hingga kecokelatan yang memiliki berat molekul sebesar 138,123 g/mol dengan titik leleh sebesar $156^{\circ}C$ dan densitas pada $25^{\circ}C$ 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).

Asam salisilat memiliki struktur bangun kimia seperti yang disajikan pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Struktur Asam Salisilat (Fessenden dan Fessenden, 1986)

Asam salisilat mampu menghambat pergerakan virus dari satu sel ke sel lainnya dan pergerakan virus secara sistemik ke seluruh 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.

E. Kultur *In vitro*

Kultur *in vitro* adalah suatu metode menumbuhkan tanaman berupa eksplan atau planlet dalam keadaan steril dan lingkungan yang dikondisikan. Istilah kultur jaringan atau kultur *in vitro* digunakan untuk menjelaskan semua prosedur kultur tanaman yang dilakukan secara aseptik menyangkut

pertumbuhan protoplas tanaman, sel, jaringan, organ, embrio, dan pertumbuhan planlet (Struik, 1991).

Adanya metode kultur jaringan didasarkan pada alasan bahwa suatu tanaman dapat dipisahkan ke dalam bagian-bagian komponennya (organ, jaringan, atau sel) yang dapat dimanipulasi secara *in vitro* kemudian ditumbuhkan kembali menjadi tanaman yang lengkap (Caponetti *et al.*, 2005).

Schleiden dan Schwann mengemukakan bahwa prinsip dasar kultur jaringan 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 (Nurchahyo, 2011).

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 memperbanyak 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).

Tanaman yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan secara *in vitro* pertumbuhannya dipengaruhi oleh 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 (Nugroho, 2010).

F. Ketahanan Terimbas

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 merupakan pengendalian terhadap patogen dengan memanfaatkan agen biologi yang bersifat non virulen yang di prainokulasi pada tanaman, sehingga dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ketahanan terhadap patogen utama (Agrios, 2005). Mekanisme ketahanan terimbas atau *Induced Resistance* adalah prainokulasi 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 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 transduksi 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 di dekat 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 ke seluruh tubuh tumbuhan, kemudian asam metil salisilat diubah menjadi asam salisilat di bagian yang jauh dari bagian yang terinfeksi, pada proses ini resistensi sistemik yang diperoleh teraktivasi. Asam salisilat dalam hal ini berperan menginfeksi jalur transduksi sinyal untuk menginduksi produksi PR protein dan resistensi terhadap serangan patogen.

G. Stomata

Stomata merupakan celah dalam epidermis yang dibatasi oleh sel penutup. Sel penutup mengatur pelebaran dan penyempitan celah. Terdapat sel tetangga pada stomata yaitu sel yang mengelilingi stomata. Sel ini berperan dalam perubahan osmotik yang menyebabkan gerakan sel penutup dalam mengatur lebar celah (Hidayat, 1995).

Stomata berperan dalam proses transpirasi dan fotosintesis. Stomata berfungsi sebagai tempat terjadinya pertukaran gas dan air antara atmosfer dengan sistem ruang antar sel yang berada pada jaringan mesofil di bawah epidermis (Pharmawati *dkk.*, 2008). Stomata mempunyai peran penting sebagai alat dalam adaptasi somaklon yang tahan kekeringan, kerapatan stomata dapat mempengaruhi fotosintesis dan transpirasi pada tanaman (Lestari, 2006).

Stomata pada umumnya terdapat pada permukaan bawah daun, tetapi pada beberapa jenis tumbuhan stomata berada di permukaan atas dan bawah daun. Tipe stomata dibedakan menjadi empat yaitu anomositik, anisositik, parasitik, dan diasitik (Lakitan, 1993). Letak atau kedudukan stomata terhadap sel tetangga, arah membukanya stomata, bentuk stomata, jumlah sel epidermis dan stomata, jarak antar stomata dan panjang sel epidermis pada setiap jenis tumbuhan dapat berbeda-beda (Rompas *et al.*, 2011).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2016 sampai dengan bulan Januari 2017 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 aluminium 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 yang diperoleh dari Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur, mikoriza *Rhizoctonia sp.* dari Temanggung, Jawa Tengah, 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 Faktorial (RALF) dengan dua faktor, yaitu inokulasi *Rhizoctonia* mikoriza dengan 2 taraf : V_0 (tidak diinokulasi *Rhizoctonia* mikoriza) dan V_1 (diinokulasikan *Rhizoctonia* mikoriza) dan konsentrasi asam salisilat yang terdiri atas 4 taraf: 0 ppm, 85 ppm, 95 ppm, dan 105 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan *P. amabilis* dalam setiap botol kultur. Tata letak satuan percobaan seleksi planlet *P. amabilis* secara *in vitro* disajikan dalam Tabel 1 dan kode perlakuan satuan percobaan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Tata letak satuan percobaan

V ₁ A ₃ U ₄	V ₁ A ₀ U ₄	V ₁ A ₃ U ₃	V ₀ A ₁ U ₂	V ₀ A ₀ U ₄	V ₁ A ₂ U ₂	V ₀ A ₂ U ₄	V ₀ A ₁ U ₄
V ₁ A ₁ U ₂	V ₀ A ₁ U ₁	V ₁ A ₀ U ₂	V ₀ A ₃ U ₁	V ₀ A ₃ U ₄	V ₁ A ₁ U ₁	V ₀ A ₀ U ₂	V ₀ A ₃ U ₃
V ₁ A ₃ U ₂	V ₁ A ₃ U ₁	V ₀ A ₀ U ₁	V ₁ A ₂ U ₄	V ₀ A ₁ U ₃	V ₀ A ₀ U ₃	V ₁ A ₂ U ₃	V ₁ A ₁ U ₄
V ₁ A ₁ U ₃	V ₀ A ₂ U ₂	V ₀ A ₃ U ₂	V ₀ A ₂ U ₁	V ₁ A ₀ U ₃	V ₁ A ₂ U ₁	V ₁ A ₀ U ₁	V ₀ A ₂ U ₃

Keterangan :

V ₀	= Tidak diinokulasi dengan <i>Rhizoctonia</i> mikoriza	U ₁	= Ulangan ke 1
V ₁	= Inokulasi dengan <i>Rhizoctonia</i> mikoriza	U ₂	= Ulangan ke 2
A ₀	= Asam salisilat konsentrasi 0 ppm	U ₃	= Ulangan ke 3
A ₁	= Asam salisilat konsentrasi 85 ppm	U ₄	= Ulangan ke 4
A ₂	= Asam salisilat konsentrasi 95 ppm		
A ₃	= Asam salisilat konsentrasi 105 ppm		

Tabel 2. Kode perlakuan satuan percobaan

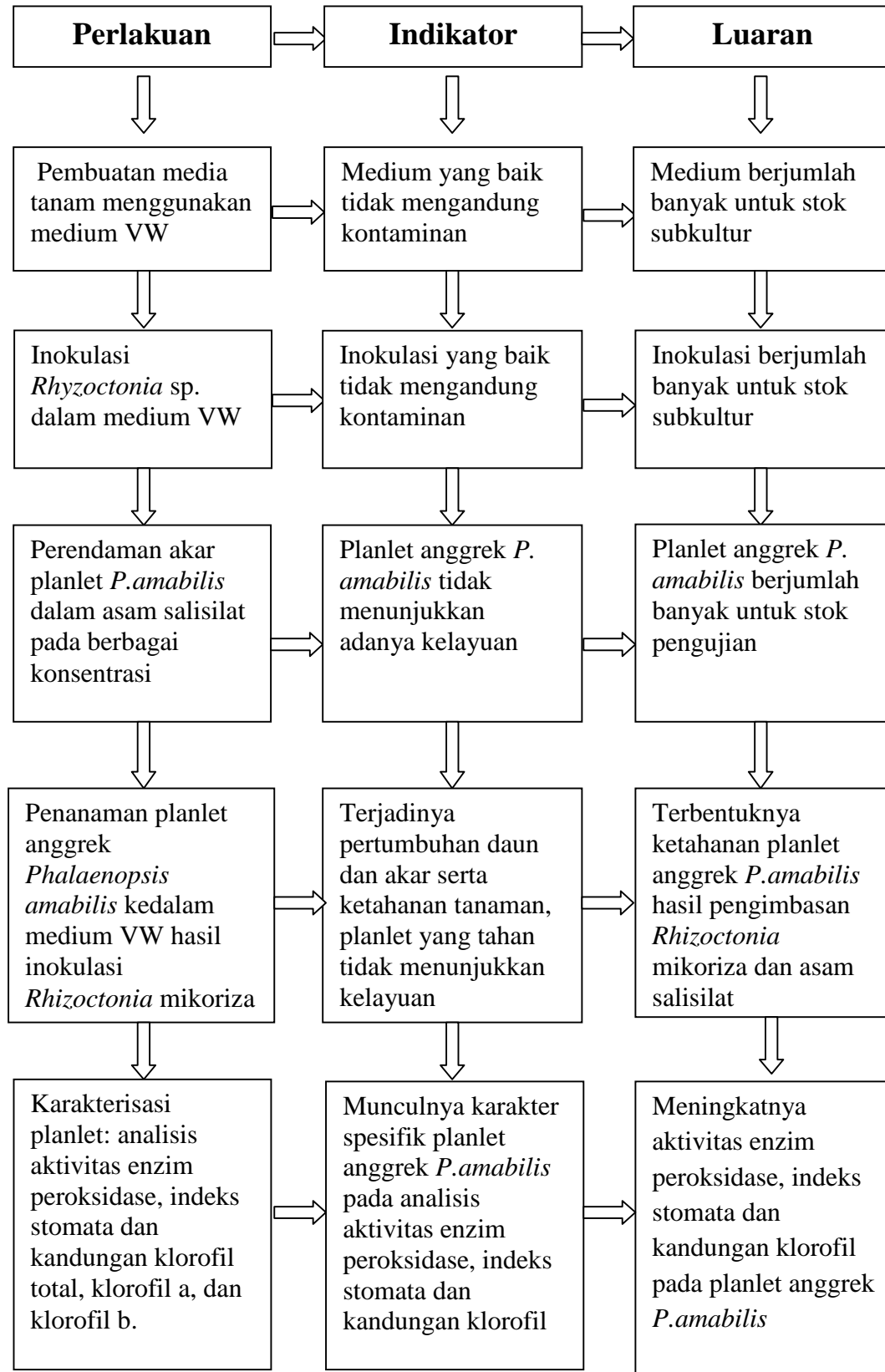
Kode Perlakuan	Perlakuan Inokulasi	Taraf Konsentrasi Asam Salisilat
V ₀ A ₀	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	0 ppm
V ₀ A ₁	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	85 ppm
V ₀ A ₂	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	95 ppm
V ₀ A ₃	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	105 ppm
V ₁ A ₀	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	0 ppm
V ₁ A ₁	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	85 ppm
V ₁ A ₂	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	95 ppm
V ₁ A ₃	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	105 ppm

Keterangan :

V ₀	= Tidak diinokulasi dengan <i>Rhizoctonia</i> mikoriza
V ₁	= Inokulasi dengan <i>Rhizoctonia</i> mikoriza
A ₀	= Asam salisilat konsentrasi 0 ppm
A ₁	= Asam salisilat konsentrasi 85 ppm
A ₂	= Asam salisilat konsentrasi 95 ppm
A ₃	= Asam salisilat konsentrasi 105 ppm

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu: 1) Pemberian isolat *Rhizoctonia* sp. dalam medium *Vacin & Went* (VW); 2) Penentuan kisaran konsentrasi asam salisilat untuk perendaman akar planlet *P. amabilis* sebelum penanaman dalam medium VW; 3) Penanaman planlet anggrek *P.amabilis* ke dalam medium VW yang sudah diinokulasi dengan *Rhizoctonia* sp. secara *in vitro*; 4) Penentuan pengaruh inokulasi *Rhizoctonia* sp. dan asam salisilat terhadap planlet anggrek *P. amabilis*; 5) Analisis karakter yang spesifik pada planlet anggrek *P. amabilis* meliputi persentase jumlah planlet yang hidup, visualisasi planlet, analisis aktivitas enzim peroksidase, indeks stomata dan kandungan klorofil a, klorofil b dan klorofil total. 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

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 menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121 °C selama 15 menit. Medium diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

2. Inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

Inokulasi *Rhizoctonia* sp. dilakukan secara langsung pada medium tanam *P. amabilis* secara *in vitro* dengan menambah larutan isolat *Rhizoctonia* sp. sebanyak 0,1 ml dengan konsentrasi $2,3 \times 10^6$ sel/ml yang dimasukkan pada medium VW dan diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam (Komunikasi pribadi).

3. Induksi planlet angrek *Phalaenopsis amabilis* dengan asam salisilat

Asam salisilat dilarutkan terlebih dahulu 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*. Kemudian asam salisilat diencerkan dengan 4 konsentrasi yaitu 0 ppm, 85 ppm, 95 ppm dan 105 ppm. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini berupa planlet steril. Planlet-planlet tersebut dikeluarkan dari botol kultur menggunakan pinset steril dan satu-persatu diletakkan di atas cawan petri berdiameter 10 cm, kemudian planlet dipilah satu-persatu dan selanjutnya dilakukan perendaman akar planlet *Phalaenopsis amabilis* selama 2 menit.

4. Penanaman Planlet Pada Medium Penelitian

Planlet angrek *P. amabilis* yang telah diinduksi dengan asam salisilat kemudian ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium VW yang sudah diinokulasi dengan *Rhizoctonia* sp. Masing - masing perlakuan dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan dalam setiap botol kultur.

F. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 2 minggu setelah penanaman untuk mengetahui pengaruh inokulasi *Rhizoctonia* mikoriza dan induksi asam salisilat terhadap planlet angrek *Phalaenopsis amabilis* secara *in vitro* dengan parameter sebagai berikut.

1. Persentase Jumlah Planlet Hidup

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

$$\frac{\text{Jumlah planlet hidup}}{\text{Jumlah seluruh planlet}} \times 100\%$$

(Nurchayani dkk., 2014)

2. 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.

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

(Nurchayani dkk., 2014)

3. Analisis 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% H₂O₂. 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.

4. Analisa kandungan klorofil

Bahan untuk analisis kandungan klorofil menggunakan daun planlet angrek *P. amabilis* yang sudah diberikan perlakuan inokulasi *Rhizoctonia* sp. dan asam salisilat, menggunakan metode Miazek (2002) dengan spektrofotometer. Daun planlet angrek *P. amabilis* sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, digerus dengan mortar, ditambahkan 10 ml ethanol 95%. Larutan disaring dengan kertas saring

dan dimasukkan ke dalam flakon lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar ethanol 95% di ambil sebanyak 1 ml, dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang () 648 nm dan 664 nm, dengan tiga kali ulangan setiap sampel.

Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Klorofil a} = 13,36 \cdot A_{664} - 5,19 \cdot A_{648} (V/W \times 1000)$$

$$\text{Klorofil b} = 27,43 \cdot A_{648} - 8,12 \cdot A_{664} (V/W \times 1000)$$

$$\text{Klorofil total} = 5,24 \cdot A_{664} + 22,24 \cdot A_{648} (V/W \times 1000) \text{ (Miazek, 2002).}$$

5. Analisis indeks stomata

Pembuatan preparat stomata dengan metode Ruzin (1999) sebagai berikut. Dibuat potongan-potongan segi empat dari daun planlet angrek *P. amabilis* dengan sisi ± 5 mm dan dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan kloralhidrat dalam air (5:1). Tabung dipanasi dalam waterbath selama $\pm 10-15$ menit hingga potongan daun tersebut transparan. Potongan daun diletakkan dalam larutan kloralhidrat pada gelas benda. Permukaan yang ada stomatanya diletakkan disebelah atas, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat diamati pada 3 bagian daerah yang berlainan. Tiap sel epidermis (E) ditandai dengan (x), tiap stomata (S) ditandai dengan (O).

Indeks stomata besarnya dihitung dengan rumus :

$$IS = \left\{ \frac{S}{E+S} \right\} \times 100\%$$

Hasil akhir adalah rata-rata dari 4 buah pengamatan.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet *P. amabilis* selama seleksi dengan inokulasi *Rhizoctonia* sp. dan induksi asam salisilat terhadap planlet angrek *P. amabilis* berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter diuji homogenitas berdasarkan uji Levene dan kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%.

V. KESIMPULAN

A. Simpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini meliputi :

1. Planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. yang diinokulasi *Rhizoctonia* sp. dan diinduksi asam salisilat pada berbagai konsentrasi memiliki karakter yang berbeda dibandingkan kontrol.
 - a. Kandungan klorofil a, b dan total pada daun anggrek *P.amabilis* mengalami peningkatan dengan semakin meningkatnya konsentrasi asam salisilat. Konsentrasi asam salisilat yang toleran adalah 105 ppm.
 - b. Aktivitas enzim peroksidase pada planlet *P. amabilis* mengalami peningkatan dengan semakin meningkatnya konsentrasi asam salisilat. Konsentrasi asam salisilat yang toleran adalah 105 ppm.
 - c. Indeks stomata pada daun planlet *P.amabilis* yang diberi perlakuan induksi asam salisilat dengan konsentrasi 105 ppm tanpa diinokulasi *Rhizoctonia* sp. menunjukkan nilai indeks stomata tertinggi.
2. Terdapat interaksi antara asam salisilat dengan *Rhizoctonia* sp. terhadap indeks stomata daun planlet *P. amabilis*.

B. Saran

Perlu dilakukannya penelitian lanjutan untuk mengetahui konsentrasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) yang lebih efektif terhadap pertumbuhan tanaman Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*) dan karakter spesifik yang lainnya seperti kandungan fenol, kandungan karbohidrat dan karakter molekular: analisis DNA dan profil protein.

DAFTAR PUSTAKA

- 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).
- Agrios, G.N. 1997. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Busnia, M penerjemah. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Terjemahan dari *Plant Pathology 3rd ed*.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 4th ed. Academic Press. New York. 922 p.
- Andersen, T.F. & H.N. Rasmussen. 1996. The Mycorrhizal spesies of *Rhizoctonia*. In: Sneh, B., S.Jabaji-Hare, S. neate, & G. Dijst. *Rhizoctonia Spesies: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and disease control*. KAP. London. 379-390 pp
- 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.
- Campbell, N. A & Jane B. R. 2008. *Biologi Jilid 2 Edisi Kedelapan*. Erlangga. Jakarta.
- Caponetti JD., Gray DJ., and Trigiano RN. 2005. *History of Plant Tissue and cell Culture*. Plant Development and Biotechnology. CRC Press Boca Raton London. pp : 9-15.
- Chairul. 2003. *Identifikasi Secara Cepat Bahan Bioaktif Pada Tumbuhan di Lapangan*. Berita Biologi 6 (4): 621-628.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Czerpak, R., P. Dobrzyn, A. Krotke, and E. Kicinska. 2002. The effect of auxins and salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents in *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. (Lemnaceae) growing on media of various trophicities. *Pol. J. Environ. Stud.*11, 231-235.

- Djaenuddin, N. 2011. Bioteknologi dan Pengelolaan Penyakit Layu *Fusarium Oxysporum*. 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., Kim S.H., Ham J.H., and Hwang B.K. 2003. Expression of Peroxidase-likes genes, H₂O₂ productin, and peroxidase activity during the hypersensitive response to *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* in *Capsicum annum*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 16: 196-205.
- Fahn A. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Edisi ke-3. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 943 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*.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce dan R.L. Mitchell, 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Jakarta: UI Press..
- Hayakawa, S., Y. Uetake and A. Ogoshi. (1999). Identification of symbiotic rhizoctonias from naturally occuring protocorms and roots of *Dactylorhiza aristata* (orchidaceae). *Journal of Faculty Agriculture Hokkaido University* 6 : 129 – 141.
- Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hoerussalam, Purwanto, A, dan Khaeruni, A, 2013. Induksi Ketahanan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) Terhadap Penyakit Bulai Melalui Seed Treatment serta Pewarisannya Pada Generasi S1. *Ilmu Pertanian.* 16: 42-59.
- Iskandar, D. 2001. Pupuk Hayati BNR Untuk Pertumbuhan dan Adaptasi Tanaman di Lahan Marginal. Universitas Lampung, Lampung.
- Iswanto H. 2010. *Petunjuk Praktis Merawat Anggrek*. Jakarta (ID) : Agromedia Pustaka.
- Javaheri M, Mashayekhi K, Dadkhah A, and Travallace F.Z. 2012. Effects of salisylic acid on yield and quality characters of tomato fruit (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences.* IJACS: 1:4-16.
- Kasiamdari, R. S. 2000. *Binukleat Rhizoctonia* isolate from mycorrhizal pot culturs:Its morphological characteristics and pathogenicity. *Biologi.* 2(10): 615-628.

- Lakani, I. 2012. Identifikasi dan karakterisasi beberapa virus yang menginfeksi tanaman anggrek di Jawa serta induksi ketahanan sistemik tanaman anggrek dengan asam salisilat.[skripsi]. Fakultas Pertanian. IPB. Bogor
- Lakitan B.1993.*Dasar-dasar fisiologi tumbuhan*. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lerch K. 1981. Tyrosinase kinetics: A semi-quantitative model of the mechanism of oxidation of monohydric and dihydric phenolic substrates. *In Sigel, H. (Ed.). Metal Ions in Biology System*. 13 Marcel Dekker Inc., New York, Basel. p. 143-186.
- Lestari E.G. 2006. Hubungan antara Kerapatan Stomata dengan Ketahanan Kekeringan pada Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti, dan IR 64. *Biodiversitas Volume 7, Nomor 1 Halaman: 44-48*
- Lestari, E.G dan Mariska, I. 2006. Identifikasi Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti dan IR 64 Tahan Kekeringan Menggunakan *Polyethylene Glycol*. *Bul. Agron* 3(4): 71-78.
- Lin, M.J. and Hsu, B.D. 2004. Photosynthetic plasticity of *Phalaenopsis amabilis* in response to different light environments. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1259-1268.
- Mansfield, J.W. 2000. Antimicrobial 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 Madaserry, 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.
- Miazek, Mgr Inz. 2002. Krystian. *Chlorophyll Extraction From Harvested Plant Material*. Supervisor: Prof. Dr. Ha. Inz Stanislaw Ledakowicz.
- Misaghi, I.J. 1982. *Physiology and Biochemistry of Plant-Pathogen Interaction*. Plenum Press, New York.
- Murphy, A.M., Gilliland, 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, AM, Berry, JO & Carr, JP 1998, 'Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement', *Molecular Plant Microbe Interac.*, vol. 11, pp. 860 - 6.

- Noviantia, R. A. 2016. Kajian Ketahanan Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat terhadap *Fusarium oxysporum* secara In Vitro. Universitas Lampung. Lampung. [Skripsi].
- Nugroho, A. 2010. *Pedoman Pelaksanaan Kultur Jaringan*. Penebar swadaya. Jakarta.
- Nurchayani, 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.
- Nurchayani, E., Agustina, R., Suroso, E. and Andari, G. 2016. Analysis of Peroxidase Activity and Total Phenol from *Spathoglottis plicata* Bl. Planlet Toward to *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Applied Agricultural Science*. Vol. 2 .No. 6. Pp: 79 – 82.
- Nurchayho, H. 2011. *Diktat Bioteknologi*. Universitas Negri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Panjaitan, 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.
- Peterson, R. L. & M. L. Farquhar. 1994. Mycorrhizas Integrated Development between Roots and Funfi. *Mycologia*, 311-326.
- Phabiola, T.A. dan K.Khalimi. 2012. Pengaruh Aplikasi Formula Pantoea agglomerans Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Klorofil Daun Tanaman Strawberry. *Jurnal Agrotop*. 2 (2). pp 125-131.
- Pharmawati M, M.R. Defiani, dan N.L. Arpiwi. 2008. Ca²⁺ Intraseluler Terlibat dalam Mekanisme Pembukaan Stomata akibat Pengaruh Auxin. *Jurnal Biologi Volume XII No.1*
- Pitojo, S. 2005. *Benih Tomat*. Kasinius. Yogyakarta.
- Purnomo, T.W.S., Kristian R., & Amitra P.S. 2007. Asam Salisilat dari Phenol. Universitas Sultan ageng tirtayasa. Banten.
- Purwati, P. 2012. Pengaruh Macam Media Dalam Keberhasilan Aklimatisasi Anggrek *Phaenopsis amabilis* (Anggrek bulan). Program Studi Holtikultura Jurusan Budidaya Tanaman Pangan Politeknik Negri Lampung.

- Puspitaningtyas, D.M. dan Mursidawati. 2010. *Koleksi Anggrek Kebun Raya Bogor*. UPT Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPI. Bogor. 1(2).
- Radwan, D.E.M., and D.M. Soltan., 2012. The Negative Effects of Clethodium in Photosynthesis and Gas Exchange Status of Maize Plant are Ameliorated by Salicylic Acid Pretreatment. *Photosynthetica*. Pp 012-016.
- Ramadiana, S., A.P. Sari, Yusnita dan D. Hapsoro. 2008. *Hibridisasi, Pengaruh Dua Jenis Media Dasar dan Pepton Terhadap Perkecambahan Biji dan Pertumbuhan Protokorm Anggrek Dendrobium Hibrida secara In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II Universitas Lampung. 17-18 Agustus.
- 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.
- Rompas Y ,H.L. Rampe, M.J. Rumondor. 2011. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Orchidaceae. *Jurnal Bioslogos, Vol. 1 No. 1*
- Rosdiana. 2010. Pertumbuhan Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*) Endemik Sulawesi, Pada Beberapa Jenis dan Konsentrasi Zat Pengatu Tumbuh Secara *In Vitro*. *Jurnal Agrisistem*.6(2).
- Rukmana, R. 2008. *Budidaya Anggrek Bulan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Ruzin, SE. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. New York
- Ryals J et al. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell*. 8:1809-1819.
- Salisbury, F. B. dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid I*. Edisi IV. ITB. Bandung.
- Saravanan, T., R. Bhaskaran, and M. Muthusamy. 2004. *Pseudomonas fluorescens* Induced zymological Changes in Banana Roots (cv. Rasthali) against *Fusarium* Wilt Disease. *Plant Pathology Journal*. 3: 72 – 80.
- Satter, M.A., Hanafi, M.M., Mahmud, T.M.M., Azizah, H. 2006. Influence of Arbuscular Mycorrhiza and Phosphate Rock on Uptake of Major Nutrients by *Acacia mangium* Seedlings on Degraded Soil. *Biology and Fertility of Soil*. 42(4):345-349).
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta.

- Semangun, H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta. 754 p.
- Shah, J. 2003. The salicylic acid loop in plant defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6:365-371.
- Smith, S.E. and D. J. Read. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd Edition. Academic Press. New York. 805 p.
- Soelistijono, 2015. Kajian Efektifitas *Rhizoctonia* SP Mikoriza Dataran Rendah dan Sedang pada Tingkat Keparahan Penyakit (Dsi) Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap *Fusarium* sp. *Biosaintifika*. 7(2).
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Struik PC. 1991. Plant Tissue Culture. Biotechnological Innovations in Crop Improvement. Biotechnology by Open Learning. Open Universiteit, Heerlen Nederland and Thames Polytechnic, London United Kingdom. *Butterworth-Heinemann* pp: 66-97.
- Supriyanto, U.S. Irawan dan I.W.S. Dharmawan. 2003. Teknik Pengemasan Inokulum Cendawan BNR. Ma-kalah dalam Seminar Tahunan Aso-siasi BNR Indonesia. Bandung 16 September 2003. 12 hal.
- Suryanti, Chintia, Y.D., dan Sumardiyono, C. 2009. Pengimbasan Ketahanan Pisang terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Asam Salisilat *In Vitro*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(2). pp 90-95.
- Susilowati, E. 2015. Seleksi Planlet Angrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) B.) Dengan Asam salisilat Seczra *In Vitro* Terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase Dan kandungan Klorofil. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Sutrisno, W. 2012. Sintesis senyawa dimer isoeugenol menggunakan enzim peroksidase dari kulit bawang Bombay (*allium cepa* L.) serta uji aktivitas antioksidan. FMIPA UI. Depok [Tesis].
- Suyitno Al, Suryani D dan Ratnawati. 2003. Tanggapan Stomata dan Laju Transpirasi Daun *vaccinium varingiaefolium* (bl.) Miq. Menurut Tingkat Perkembangan Daun dan Jarak terhadap Sumber Emisi Gas Belerang Kawah Sikidang Dataran Tinggi Dieng. *Publikasi Seminar Hasil Penelitian MIPA, FMIPA UNY*

- 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.
- The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. APG II. *Botanical journal of the Linnean Society*. 141, 399-436.
- Vlot, A.C., D.F. Klessing & S.W. Park. 2008. Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). *Curr. Opin. Plant Biol* 1 (1): 436-442.
- Wahyudi, T., T.R. Panggabean, dan Pujiyanto. 2008. *Kakau Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Penebar Swadaya. Hlm. 1-151
- Wattimena, G. A., L.W. Gunawan, N.A. Mattjik, E. Syamsudin, N.M. Wiendi, dan A. Ernawati. 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Laboratorium Kultur Jaringan, Pusat antar Universitas Bioteknologi- IPB. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor.