

**KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK CATTLEYA
(*Cattleya* sp. Lindl.) HASIL INDUKSI ASAM SALISILAT DAN
INOKULASI MIKORIZA (*Rhizoctonia* sp.) SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

ADHE RAHMA PUTRI



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

ABSTRAK

KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK CATTLEYA (*Cattleya* sp. Lindl.) HASIL INDUKSI ASAM SALISILAT DAN INOKULASI MIKORIZA (*Rhizoctonia* sp.) SECARA *IN VITRO*

Oleh

Adhe Rahma Putri

Anggrek *Cattleya* (*Cattleya* sp. Lindl.) adalah salah satu jenis anggrek yang banyak digemari karena memiliki keistimewaan dari bentuk, ukuran, maupun warna bunganya. Hal inilah yang menjadikan anggrek *Cattleya* cukup banyak dibudidayakan di Indonesia. Kendala dalam budidaya anggrek *Cattleya* adalah adanya penyakit layu yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum*. Salah satu pengendalian yang efektif dalam mencegah infeksi jamur *Fusarium oxysporum* adalah dengan meningkatkan ketahanan tanaman. Peningkatan ketahanan tanaman anggrek *Cattleya* dapat dilakukan dengan cara mengimbas agen penginduksi ketahanan tanaman seperti asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) pada planlet anggrek *Cattleya* secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter ekspresi planlet anggrek *Cattleya* setelah diinduksi asam salisilat dan diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dan untuk mengetahui interaksi antara asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) pada setiap karakter ekspresi planlet anggrek *Cattleya*. Penelitian ini dilaksanakan dengan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) yang terdiri dari dua faktor, yaitu induksi asam salisilat dengan 4 taraf konsentrasi : 0 ppm, 90 ppm, 100 ppm, dan 110 ppm dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dengan 2 taraf : tidak diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dan diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.). Data yang diperoleh dihomogenkan dengan menggunakan uji Levene kemudian dianalisis menggunakan Analisis Ragam pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakter ekspresi planlet anggrek *Cattleya* berupa aktivitas enzim peroksidase dan indeks stomata meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi asam salisilat dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.). Terdapat interaksi antara asam salisilat konsentrasi 110 ppm dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) terhadap indeks stomata daun planlet anggrek *Cattleya*.

Kata kunci: Anggrek *Cattleya* (*Cattleya* sp. Lindl.), Penyakit Layu *Fusarium*, Asam Salisilat, Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.).

**KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK CATTLEYA
(*Cattleya* sp. Lindl.) HASIL INDUKSI ASAM SALISILAT DAN
INOKULASI MIKORIZA (*Rhizoctonia* sp.) SECARA *IN VITRO***

Oleh

Adhe Rahma Putri

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar

SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

Judul Skripsi : **KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK
CATTLEYA (*Cattleya* sp. Lindl.) HASIL INDUKSI
ASAM SALISILAT DAN INOKULASI MIKORIZA
(*Rhizoctonia* sp.) SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa : **Adhe Rahma Putri**

No. Pokok Mahasiswa : 1317021003

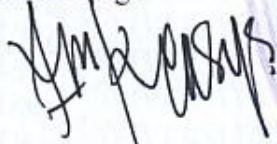
Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

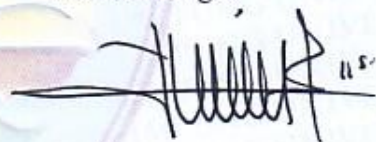
1. Komisi Pembimbing

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

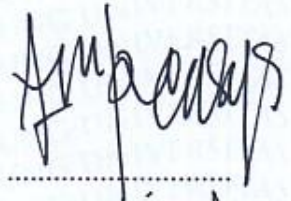


Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305/199103 2 001

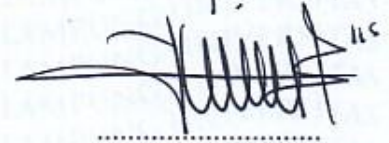
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

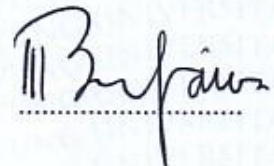
Ketua : **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**



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 : **02 Mei 2017**

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung 22 tahun silam pada tanggal 20 Juni 1995 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari Bapak Drs. Sutaryono dan Ibu Munaimah.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di TK Al-Azhar 2 Bandar Lampung dan menyelesaikannya pada tahun 2001, selanjutnya

Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Al-Azhar 2 Bandar Lampung dan menyelesaikannya tahun 2007, pendidikan tingkat menengah hingga tahun 2010 di SMPN 19 Bandar Lampung. Kemudian Penulis melanjutkan pendidikan di SMAN 15 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 mata kuliah Kultur Jaringan Tumbuhan. Selain itu, Penulis juga aktif di dunia organisasi kampus.

Aktifitas organisasi Penulis dimulai sejak menjadi Anggota Muda Biologi (Amuba) tahun 2013 – 2014. Selanjutnya, Penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Sains dan Teknologi tahun kepengurusan 2014 – 2016.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Lampung Barat Kecamatan Way Tenong Pekon Padang Tambak dari bulan Januari – Maret 2016. Pada bulan Juli – Agustus 2016, Penulis melaksanakan Kerja Praktik di Pusat Pembibitan Anggrek Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur dengan judul **“Perbanyakan Anggrek *Cattleya* (*Cattleya sp.*) melalui Kultur *In Vitro* dengan Media Organik dan Vacin Went di Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur”**. Penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Botani ruang *In Vitro* Jurusan Biologi pada bulan November 2016 sampai Januari 2017.

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik ALLAH SWT, Dzat yang maha agung yang memberikan kenikmatan sehingga karya ini dapat terselesaikan, dengan mengharap Ridho dan Magfiroh dari Allah SWT maka karya ini ku persembahkan kepada :

Bapak dan Ibu yang selalu kusayangi, yang telah memberikan cinta dan kasih sayangnya serta doa yang tiada hentinya, memberikan dukungan moril dan materil, menjadi teladan yang baik bagi pribadi ini, serta menjadi pengajar sepanjang hayatku.

Kakak dan adikku yang selama ini membuat hari-hariku menjadi lebih berwarna dan terus memotivasiku untuk berkarya dan menuntaskan studiku

Para guru dan dosen yang telah medidik dan mengajariku hingga hari ini dengan dedikasi dan keikhlasanya

Sahabat-sahabatku, rekan-rekan seperjuanganku, yang selalu menjadi penyemangat, yang banyak memberikan pengalaman berharga, yang selalu menguatkan dan mengajarkan arti perjuangan serta persaudaraan.

Almamaterku tercinta.



MOTO

Jika Allah menolong kamu, maka tak
adalah orang yang dapat mengalahkan
kamu, jika Allah membiarkan kamu
(tidak memberikan pertolongan),
maka siapakah gerangan yang dapat
menolong kamu (selain) dari Allah
sesudah itu ? Karena itu hendaklah
kepada Allah saja orang-orang
mukmin bertawakkal
(QS. Ali 'Imran: 160)

SANWACANA

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

Sebelumnya, penulisan skripsi ini tidak terlepas dari perhatian, bimbingan, masukan, arahan, dan nasehat dari berbagai pihak yang mendukung penulis dalam menyelesaikan studi. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Ibu **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.** selaku Pembimbing I dan Ibu **Dra. Yulianty, M.Si.** selaku pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, memberikan arahan, saran, serta motivasi dalam 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. Ibu Dra. C. N. Ekowati, M.Si. 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, dan 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 tercinta Bapak Drs. Sutaryono dan Ibu Munaimah yang telah memberikan kasih sayang dan semangat yang luar biasa, doa yang tiada hentinya, dukungan moril dan materil, serta nasehat-nasehat yang sangat berharga bagi penulis. Semoga Allah membalas dengan *jannah*-Nya kelak.
Aamiin ya Rabbal Alamiin.
7. Kakak dan adikku Febri Nugraha dan Muhammad Rizky Hanifan, terimakasih atas semangat, dukungan serta doanya hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Sahabat seperjuangan penelitian Bioteknologi Tumbuhan - Kultur Jaringan, Ferza, Siska, Ariska, Ira, Ellia, Sita, dan Mila, terimakasih untuk semua kerjasama, kebersamaan, semangat, saran dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
9. Kakak-kakak penelitian Bioteknologi Tumbuhan - Kultur Jaringan, Mbak Lu'lu, Mbak Aul, Mbak Imamah, Mbak Asri, Mbak Jevica, Mbak Gardis, dan Kak Abdi, terimakasih untuk semua ilmu, semangat, saran, dan kritik serta doanya selama menjalani penelitian.
10. Sahabat terbaik 'Wanita Sholehah', Bella Noor Arfianty, Bella Rizcikal, Firda Nur Islami, Niswatun Hasanah, Nadia Eka Yulian, Ira Cahyani, Ferza Hatni, Siska Fajarwati, dan Ariska Putri Lestari, terimakasih atas kebersamaan selama ini dari awal masuk perkuliahan hingga akhir selalu ada untuk penulis.
11. Sahabat SMA, Eta, Panca, Nita, Jesica, Ayu, Silvia, Della, dan Sondang, terimakasih atas kebersamaan yang masih terjalin sampai saat ini, semoga silaturahmi kita dapat terjalin 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 2011, 2012, adik-adik tingkat 2014, 2015, 2016, dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis.

14. Keluarga besar KKN Lampung Barat - Kecamatan Way Tenong dan kelompok KKN Pekon Padang Tambak, Intan, Mbak Ahlika, Oka, Kak Dwi, Arif, dan Bang Liwan, terimakasih untuk pengalaman, pembelajaran serta kebersamaan.

15. Almamater Tercinta.

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

Bandar Lampung, Mei 2016

Penulis,

Adhe Rahma Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
PERSEMBAHAN	vi
MOTO	vii
SANWACANA	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	6
C. Manfaat Penelitian	6
D. Kerangka Pemikiran	7
E. Hipotesis	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Tanaman Anggrek <i>Cattleya</i>	9
1. Klasifikasi	9
2. Sejarah	9
3. Morfologi	10
4. Syarat Tumbuh Anggrek	11
B. Penyakit Layu <i>Fusarium</i>	13

C. Mikoriza (<i>Rhizoctonia</i> sp.)	15
D. Asam Salisilat	17
E. Ketahanan Terimbasi.....	18
F. Kultur Jaringan	20
G. Aktivitas Enzim Peroksidase	22
H. Biosintesis Klorofil	23
I. Stomata	25
 III. METODE PENELITIAN	 27
A. Waktu dan Tempat Penelitian	27
B. Alat dan Bahan Penelitian	27
C. Rancangan Percobaan	28
D. Bagan Alir Penelitian	30
E. Pelaksanaan Penelitian	32
1. Persiapan Medium Tanam	32
2. Inokulasi mikoriza (<i>Rhizoctonia</i> sp.).....	32
3. Induksi Planlet Anggrek <i>Cattleya</i> sp. dengan Asam Salisilat	33
4. Penanaman Planlet pada Medium Penelitian	33
5. Pengamatan.....	33
a. Persentase Jumlah Planlet Hidup	34
b. Visualisasi Planlet	34
6. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase	34
7. Analisis Kandungan Klorofil	35
8. Analisis Indeks Stomata	36
F. Analisis Data	36
 IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	 38
A. Persentase Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet	38
B. Kandungan Klorofil	42
1. Klorofil a	42
2. Klorofil b	44
3. Klorofil total	45
C. Aktivitas Enzim Peroksidase	49
D. Indeks Stomata	52
 V. SIMPULAN DAN SARAN	 57
A. Simpulan	57
B. Saran	58
 DAFTAR PUSTAKA	 59
 LAMPIRAN	 68

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tata Letak Satuan Percobaan	29
2. Kode Perlakuan Satuan Percobaan	29
3. Persentase visualisasi planlet anggrek <i>Cattleya</i> hasil inokulasi <i>Rhizoctonia</i> sp. dan induksi asam salisilat pada berbagai konsentrasi	39
4. Persentase visualisasi planlet anggrek <i>Cattleya</i> hasil inokulasi <i>Rhizoctonia</i> sp. dan induksi asam salisilat pada berbagai konsentrasi	39
5. Rata-rata kandungan klorofil a planlet anggrek <i>Cattleya</i> (mg/g jaringan)	43
6. Rata-rata kandungan klorofil b planlet anggrek <i>Cattleya</i> (mg/g jaringan)	44
7. Rata-rata kandungan klorofil total planlet anggrek <i>Cattleya</i> (mg/g jaringan)	46
8. Rata-rata aktivitas enzim peroksidase planlet anggrek <i>Cattleya</i> (unit/mg/menit)	49
9. Rata-rata indeks stomata daun planlet anggrek <i>Cattleya</i>	54
10. Komposisi Medium Vacin and Went	69
11. Jumlah planlet yang hidup dan visualisasi planlet per-minggu	70
12. Analisis ragam <i>two-factor</i> klorofil a	72
13. Analisis ragam <i>two-factor</i> klorofil b	73
14. Analisis ragam <i>two-factor</i> klorofil total	74

15. Analisis ragam <i>two-factor</i> aktivitas enzim peroksidase	75
16. Analisis ragam <i>two-factor</i> indeks stomata	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bunga Anggrek <i>Cattleya</i>	10
2. Penyakit Layu pada Anggrek <i>Cattleya</i>	14
3. Struktur Kimia Asam Salisilat	17
4. Struktur Klorofil.....	24
5. Bagan Alir Penelitian	31
6. Planlet anggrek <i>Cattleya</i> setelah 2 minggu diberi perlakuan	41
7. Permukaan bawah daun planlet anggrek <i>Cattleya</i>	52
8. Kurva interaksi antara inokulasi <i>Rhizoctonia</i> sp. dan asam salisilat terhadap indeks stomata daun planlet anggrek <i>Cattleya</i>	55
9. Pembuatan medium <i>Vacin and Went</i>	78
10. Pembuatan larutan asam salisilat pada berbagai konsentrasi	78
11. Pembuatan larutan isolat mikoriza (<i>Rhizoctonia</i> sp.)	78
12. Inokulasi <i>Rhizoctonia</i> sp. pada medium tanam	79
13. Penanaman planlet anggrek <i>Cattleya</i> secara <i>in vitro</i>	79
14. Planlet anggrek <i>Cattleya</i> pada medium perlakuan	79
15. Pembuatan ekstrak daun planlet anggrek <i>Cattleya</i> untuk uji klorofil	80
16. Ekstrak daun planlet anggrek <i>Cattleya</i> untuk uji klorofil	80

17.	Ekstrak planlet anggrek <i>Cattleya</i> untuk uji enzim peroksidase	80
18.	Pengamatan stomata daun planlet anggrek <i>Cattleya</i>	81
19.	(A) Micrometer perbesaran 10x10 pada mikroskop (B) Stomata daun planlet anggrek <i>Cattleya</i>	81

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Salah satu tanaman yang memiliki keragaman varietas adalah tanaman anggrek. Anggrek adalah tanaman yang memiliki bentuk, warna, dan ukuran bunga yang beragam, sehingga tanaman ini sangat indah untuk dipandang (Ramadiana *et al.*, 2008) dan menciptakan daya tarik tersendiri bagi para pecinta anggrek (Mattjik, 2010).

Anggrek merupakan salah satu komoditas tanaman hortikultura yang mempunyai peranan penting dalam pertanian, khususnya tanaman hias (Widyas, 2009). Sebagai tanaman hias, anggrek memiliki nilai ekonomi yang tinggi, sehingga banyak masyarakat luas yang tertarik untuk memiliki tanaman ini (Ramadiana *et al.*, 2008).

Pada tahun 2015, volume ekspor tanaman anggrek mengalami penurunan dari tahun 2014. Volume ekspor tanaman anggrek pada tahun 2015 yaitu sebesar 35,94 ton. Volume ini menurun dari volume ekspor tanaman anggrek pada tahun 2014 yaitu sebesar 52,65 ton. Penurunan volume ekspor ini dikarenakan jumlah negara tujuan ekspor berkurang (BPS, 2016).

Perkembangan produksi tanaman anggrek di Indonesia masih relatif lambat. Rendahnya produktivitas dan kualitas anggrek Indonesia menyebabkan tanaman ini belum dapat bersaing di pasar internasional (Widiastoety dan Nurmalinga, 2010). Hal inilah yang menyebabkan menurunnya volume ekspor tanaman anggrek dari Indonesia.

Menurut Balithi (2010), peningkatan kualitas tanaman anggrek perlu dilakukan agar tanaman anggrek dapat bersaing dalam era globalisasi. Usaha dalam meningkatkan kualitas tanaman anggrek dilakukan dengan metode non konvensional melalui bioteknologi. Melalui bioteknologi dapat diperoleh tanaman yang resisten terhadap patogen tanpa mengubah kualitas.

Jenis tanaman anggrek yang banyak dikenal di Indonesia adalah anggrek *Cattleya*. Anggrek ini mendapat julukan ratu anggrek karena memiliki bentuk dan warna bunga yang anggun seperti halnya seorang ratu (Rahmatia dan Pitriana, 2007). Anggrek *Cattleya* merupakan salah satu jenis tanaman epifit yaitu tanaman yang hidup menempel pada pohon lain (Iswanto 2010).

Anggrek *Cattleya* memiliki banyak jenis yang merupakan hasil persilangan. Persilangan tersebut dapat dilakukan baik antar jenis maupun antar marga (Rahmatia dan Pitriana, 2007). Ciri khas yang dimiliki anggrek *Cattleya* adalah ukuran bunga yang besar dan warna bunga yang sangat beragam (Iswanto 2010).

Peningkatan kualitas anggrek *Cattleya* perlu dilakukan agar dapat menghasilkan tanaman yang resisten terhadap patogen dan dapat meningkatkan persaingan di pasar nasional maupun internasional. Tanaman anggrek sering mendapatkan serangan penyakit busuk lunak yang sangat merusak dan mengakibatkan penurunan produksinya (Wu *et al.*, 2011). Serangan penyakit tersebut biasanya disebabkan oleh patogen berupa jamur. Salah satu jamur patogen yang sering menyerang tanaman anggrek adalah *Fusarium* sp. (Carling *et al.*, 1999).

Fusarium sp. bersifat sangat merugikan dan dapat menyerang anggrek *Cattleya* (Wedge and Elmer 2008). Serangan jamur patogen tersebut menyebabkan tanaman menjadi layu atau lebih dikenal dengan layu *Fusarium*. Penyakit layu *Fusarium* pada anggrek *Cattleya* sp. disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* Schlecht. Jamur ini menginfeksi tanaman melalui luka pada akar, sehingga menyebabkan akar menjadi busuk dan dapat meluas hingga ke batang dan daun (Rukmana, 2000).

Tanaman anggrek yang terserang layu *Fusarium* akan menunjukkan gejala yaitu daun dan batang menguning, berkeriput, tipis, bengkok, dan leher daun membusuk mencapai pangkal batang. Pada umumnya, jamur patogen *Fusarium* sp. akan menyebabkan tanaman menjadi layu dan mati (Soelistijono, 2015). Pengendalian penyakit layu *Fusarium* biasanya dilakukan hanya dengan menggunakan fungisida kimia, tetapi penggunaan

fungisida ini masih belum efektif dalam mengendalikan penyakit tersebut (Wedge and Elmer 2008) dan dapat berdampak buruk bagi lingkungan (Soelistijono, 2015).

Kandungan bahan kimia di dalam fungisida seperti organofosfat, organoklorin dan karbonat akan berdampak negatif terhadap kesehatan manusia, mencemari lingkungan, dan menyebabkan kematian musuh alami (Herlina, 2009). Untuk itu, pemanfaatan agen pengendali hayati dalam mengurangi penggunaan fungisida seyogyanya dilakukan. Hal ini bertujuan untuk menjaga keseimbangan ekosistem lingkungan (Soesanto, 2002).

Asam salisilat dan mikoriza dapat digunakan untuk mengimbas ketahanan tanaman terhadap penyakit. Asam salisilat merupakan signal penting dalam ketahanan tanaman, digunakan sebagai senyawa pengimbas ketahanan tanaman terhadap penyakit layu *Fusarium* (Sujatmiko *et al.*, 2012).

Sementara itu, mikoriza adalah salah satu bentuk asosiasi antara jamur dengan akar tumbuhan tingkat tinggi. Mikoriza memberi keuntungan bagi tanaman inang karena dengan adanya infeksi mikoriza di dalam akar, tanaman inang akan lebih resisten terhadap penyakit (John, 1992).

Penggunaan asam salisilat dan mikoriza diketahui dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit busuk daun atau yang lebih dikenal dengan ketahanan terimbas (*Induced Resistance*). Ketahanan terimbas menyebabkan kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan menjadi

aktif dan menstimulasi mekanisme ketahanan alami yang dimiliki oleh inang dengan mengaplikasikan bahan penginduksi eksternal. Ketahanan terimbas dapat dijadikan cara untuk mendapatkan karakter ketahanan tanaman terhadap penyakit (Agrios, 2005).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Noviantia (2016) meneliti mengenai ketahanan planlet anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) terhadap *Fusarium oxysporum* menggunakan asam salisilat dengan taraf konsentrasi 0, 65, 75, dan 85 ppm. 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 *F. oxysporum* dibandingkan dengan konsentrasi 65 dan 75 ppm. Peningkatan aktivitas enzim peroksidase secara nyata terjadi pada planlet anggrek bulan yang diimbas dengan asam salisilat dibandingkan kontrol.

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

Sejauh ini, penelitian mengenai pengimbasan asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) secara *in vitro* pada planlet anggrek *Cattleya* belum pernah dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui karakterisasi planlet anggrek *Cattleya* setelah dilakukan pengimbasan asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) secara *in vitro* sehingga diharapkan mampu memberikan informasi mengenai karakter fisiologis tanaman hasil pengimbasan asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) serta mengetahui kandidat planlet anggrek *Cattleya* yang toleran.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui karakter ekspresi yang spesifik pada planlet anggrek *Cattleya* setelah diinduksi asam salisilat dan diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) secara *in vitro* serta mengetahui konsentrasi asam salisilat yang toleran.
2. Mengetahui interaksi antara asam salisilat dan *Rhizoctonia* sp. pada setiap karakter ekspresi planlet anggrek *Cattleya*.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakter ekspresi planlet anggrek *Cattleya* setelah diinduksi asam salisilat dan diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) secara *in vitro*. Selain itu, diharapkan informasi yang diperoleh dari penelitian dapat memberikan kontribusi bagi

pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan tanaman serta ilmu terapan yang terkait.

D. Kerangka Pemikiran

Anggrek *Cattleya* adalah salah satu jenis anggrek yang memiliki keistimewaan dari bentuk, ukuran, maupun warna bunganya. Dibandingkan dengan bunga anggrek lainnya, anggrek ini memiliki ukuran bunga yang besar dan warna bunga yang sangat beragam. Keistimewaan inilah yang menjadikan anggrek *Cattleya* mampu bersaing di pasar nasional maupun internasional, tetapi akibat adanya penyakit layu yang sering menyerang tanaman anggrek *Cattleya*, menyebabkan kualitasnya menjadi menurun .

Penyakit layu pada anggrek *Cattleya* disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum*. Jamur ini menyerang akar tanaman anggrek yang terluka atau rimpang akar yang baru saja dipotong. Tanaman anggrek yang terserang penyakit ini akan menunjukkan gejala yaitu daunnya menguning dan mengeriput seperti kekurangan air.

Pada umumnya, pengendalian layu *Fusarium* dilakukan hanya dengan menggunakan fungisida, tetapi penggunaan fungisida dapat berdampak buruk bagi lingkungan dan kesehatan manusia. Untuk itu, pengendalian yang aman dan tidak membahayakan sangat diperlukan. Salah satu pengendalian yang aman terhadap lingkungan adalah pengendalian hayati. Pengendalian tersebut

dilakukan dengan cara mengimbas asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) pada planlet anggrek *Cattleya* secara *in vitro* untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen.

Asam salisilat merupakan senyawa yang menjadi komponen penting dalam mengaktifkan gen ketahanan terhadap berbagai macam jamur, bakteri dan virus secara sistemik, sedangkan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) merupakan jamur yang dapat bersimbiosis dengan akar tanaman dengan cara membentuk lilitan hifa yang menempel pada jaringan akar yang dapat mengimbas ketahanan tanaman terhadap penyakit layu *Fusarium*. Tanaman yang diimbas dengan asam salisilat dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) diharapkan akan lebih resisten terhadap penyakit.

E. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini sebagai berikut:

1. Terdapat karakter ekspresi yang spesifik pada planlet anggrek *Cattleya* setelah diinduksi asam salisilat dan diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) berupa kandungan klorofil total, klorofil a, dan klorofil b, aktivitas enzim peroksidase, dan indeks stomata, serta terdapat konsentrasi asam salisilat yang toleran.
2. Terdapat interaksi antara asam salisilat dan *Rhizoctonia* sp. pada setiap karakter ekspresi planlet anggrek *Cattleya*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Anggrek *Cattleya*

1. Klasifikasi

Klasifikasi bunga anggrek *Cattleya* dalam sistem klasifikasi Cronquist (1981) dan APG II (2003) adalah sebagai berikut.

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Anak Kelas : Liliidae
Bangsa : Asparagales
Suku : Orchidaceae
Marga : *Cattleya*
Jenis : *Cattleya* sp. Lindl.

2. Sejarah

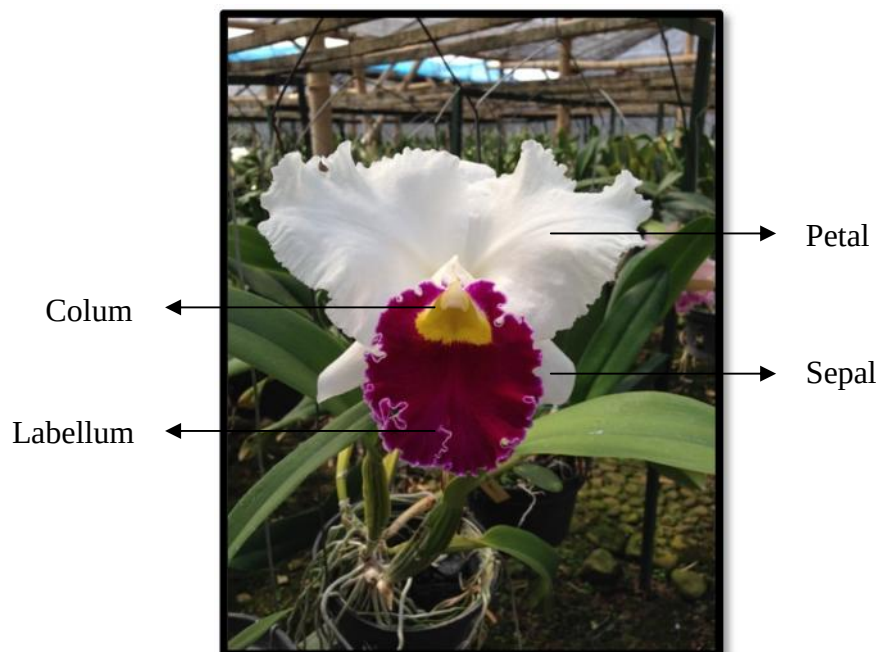
Seorang hortikultoris Inggris bernama William Cattley adalah orang yang berpengaruh dalam penemuan anggrek *Cattleya*. Dalam sejarahnya, Cattley pernah mengimpor tanaman dari Brasil. Pada saat pengiriman tanaman-tanaman tersebut, di antara daun-daun yang digunakan sebagai bahan pengemas, terdapat semacam umbi (*bulb*) yang tidak dikenalnya. Lantas Cattley menanam *bulb* tersebut di dalam pot dan menyimpannya

di tempat yang panas hingga akhirnya berbunga sangat indah dengan warna ungu pada November 1818. Seorang botanis terkenal bernama Dr. John Lindley memberi nama bunga tersebut dengan mengambil nama William Cattley. Alhasil bunga tersebut diberi nama *Cattleya labiata antumnalis* yang berarti bunga Cattley dengan labelum yang bagus dan berbunga pada musim gugur (Gunawan, 1989).

3. Morfologi

Anggrek *Cattleya* mendapat julukan *The Queen of Orchid* karena keindahan bunganya. Anggrek *Cattleya* memiliki ukuran bunga yang lebih besar dibandingkan dengan anggrek lainnya (Sarwono, 2002).

Morfologi bunga anggrek *Cattleya* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Bunga Anggrek *Cattleya*
Sumber : Dokumentasi Putri (2016)
Koleksi Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur

Tanaman anggrek *Cattleya* termasuk ke dalam tipe simpodial. Tanaman tipe ini memiliki ciri-ciri yaitu tidak memiliki batang utama, bunga keluar dari ujung batang, dan akan berbunga kembali pada pertumbuhan anakan atau tunas baru (Darmono, 2003).

Anggrek *Cattleya* termasuk tanaman epifit yaitu tanaman yang menempel pada tanaman lain dengan menggunakan akarnya. Akar anggrek *Cattleya* berbentuk silindris dan berujung runcing, serta memiliki daya lekat. Akar anggrek ini tampak berwarna putih keperak-perakan pada bagian luarnya dan berwarna hijau hanya pada bagian ujungnya jika dalam keadaan kering (Darmono, 2003).

Anggrek *Cattleya* memiliki bentuk daun yang lebar, tulang daun yang lurus, dan berjumlah satu atau dua helai tiap batang (Sandra, 2003).

Batang pada tanaman anggrek *Cattleya* biasanya mengalami penebalan yang disebut batang semu (*pseudobulb*) (Hew and Young, 1997).

Pseudobulb berbentuk ganda agak pipih, keras dan berdaging serta memiliki ukuran yang bervariasi tergantung pada spesiesnya (Darmono, 2003).

4. Syarat Tumbuh Anggrek

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan suatu tanaman antara lain aliran udara, air, cahaya dan makanan (hara). Faktor-faktor tersebut harus berada dalam keadaan yang seimbang. Jika cahaya yang diterima

berlebihan maka sel-sel dalam tanaman akan menjadi keras dan tidak produktif lagi, dan biasanya akan menjadi mati (Wilkins, 1989).

Anggrek *Cattleya* memiliki syarat tertentu untuk dapat tumbuh di dalam suatu lingkungan. Anggrek ini dapat tumbuh pada daerah dengan ketinggian antara 750-2000 mdpl. Pertumbuhan anggrek *Cattleya* dipengaruhi oleh iklim baik kapasitas suhu, cahaya matahari, dan kelembaban udara. Ketiga faktor ini merupakan faktor primer yang menentukan keadaan fisik lingkungan setempat (Sarwono, 2002).

Suhu yang baik untuk pertumbuhan anggrek *Cattleya* yaitu pada suhu siang antara 21-32 °C dan suhu malam 13- 18 °C. Anggrek *Cattleya* membutuhkan intensitas penyinaran berkisar antara 2000-4000 fc. atau 30% cahaya matahari penuh (Soeryowinoto, 1974). Pada umumnya, kelembaban nisbi / relativity humidity (RH) yang dibutuhkan oleh tanaman anggrek berkisar antara 60-80 %. Faktor kelembaban ini biasanya disertai dengan kelancaran sirkulasi udara. (Iswanto, 2002).

B. Penyakit Layu *Fusarium*

Klasifikasi jamur *Fusarium* yang menyebabkan penyakit layu pada tanaman menurut Alexopoulos, Mims, and Blackwell (1996) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Sordariomycetes
Bangsa	: Hypocreales
Suku	: Nectriaceae
Marga	: <i>Fusarium</i>
Jenis	: <i>Fusarium oxysporum</i>

Fusarium oxysporum adalah salah satu spesies dari genus *Fusarium* yang merupakan patogen tular tanah. Berdasarkan tanaman inang yang diinfeksi, *F. oxysporum* dibagi kembali menjadi forma-forma spesialis (f.sp.) tertentu (Semangun, 2001). Dalam siklus hidupnya, jamur ini menghasilkan 3 jenis spora yaitu, makrokonidia, mikrokonidia, dan klamidiospora (Akhsan, 1996).

Klamidiospora terdapat pada jaringan tanaman yang membusuk atau di dalam tanah. Spora ini dapat hidup di dalam tanah dalam jangka waktu yang cukup lama. (Lubis dan Pinem, 2004). Jamur *F. oxysporum* menyebabkan penyakit layu pada tanaman. Penyakit tersebut dapat berkembang dengan didukung oleh kelembaban tanah yang rendah serta suhu tanah yang hangat yaitu 80°F (Cahyono, 2008).

Infeksi tanaman oleh patogen penyebab layu *Fusarium* dapat terjadi melalui biji yang terkontaminasi atau pencangkakan tanaman yang terinfeksi. Selain itu, infeksi tanaman dapat disebabkan oleh inokulum patogen yang masuk melalui akar akibat adanya luka maupun dengan cara penetrasi langsung (Winarsih, 2007).

Proses invasi tanaman oleh patogen melalui serabut akar dapat mengganggu proses pengambilan air dan mineral, sehingga proses metabolisme tanaman tidak berjalan dengan baik (Winarsih, 2007). Penyakit yang ditimbulkan dari infeksi patogen ini dapat menyerang tanaman sebelum berkecambah, pada masa perkembangan, pada saat tanaman masih muda, dan menjelang berbunga atau berbuah (Semangun, 1996). Gejala penyakit layu *Fusarium* disajikan pada Gambar 2.

Gejala
Layu
Fusarium



Gambar 2. Penyakit Layu pada Anggrek *Cattleya*
(Foto Putri, di ambil di Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur, 2016)

Secara visual, tanaman anggrek *Cattleya* yang terserang jamur *F. oxysporum* menunjukkan gejala yaitu menguningnya tanaman seperti kekurangan air, daun-daun mengeriput dan terkadang agak terpilin, umbi semu menjadi kurus, dan perakaran membusuk yang meluas hingga pangkal batang. Gejala yang ditimbulkan lainnya yaitu jika akar rimpang dipotong, epidermis dan hipodermis tampak berwarna ungu, sedangkan floem dan xylem tampak berwarna ungu merah jambu muda hingga akhirnya seluruh bagian akar menjadi ungu kemudian mati (Ditlinhorti, 2013).

C. Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

Mikoriza merupakan bentuk simbiosis mutualisme antara jamur tertentu dengan akar tanaman tingkat tinggi (Smith and Read, 1997). Simbiosis yang menguntungkan antara akar dan jamur ini ditemukan pada lebih dari 90% spesies tanaman terrestrial berpembuluh. Keberadaan mikoriza di dalam tanaman dapat terjadi baik secara alami maupun dengan bantuan manusia (Supriyanto *et al.*, 2003).

Mikoriza pada tanaman mampu meningkatkan penyerapan unsur-unsur hara dan nutrisi yang penting bagi tanaman (Satter *et al.*, 2006) serta menyediakan enzim fosfatase yang dapat melarutkan fosfat tak tersedia dalam mineral-mineral sekunder menjadi bentuk fosfat tersedia bagi tanaman (Saptiningsih, 2007).

Salah satu tanaman yang memerlukan infeksi jamur mikoriza untuk melengkapi siklus hidupnya adalah tanaman anggrek (Andersen and Rasmussen, 1996). Anggrek adalah tanaman yang mampu berasosiasi dengan jamur mikoriza dari jenis *Rhizoctonia* sp. (Hayakawa *et al.*, 1999).

Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) berasosiasi dengan jaringan akar anggrek dengan cara membentuk gulungan hifa atau “*peloton*” (Peterson and Farquhar, 1994). Asosiasi tersebut terjadi pada saat embrio anggrek membentuk akar dan tunas atau yang lebih dikenal dengan protocorm. Protocorm kemudian berkembang menjadi planlet atau tanaman sempurna yang menyebabkan jaringan hifa *Rhizoctonia* akan berada dibagian korteks akar anggrek membentuk peloton (Smith and Read, 2008).

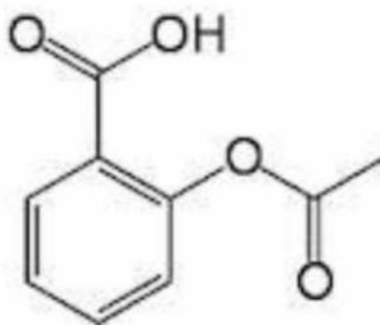
Pada tanaman anggrek, infeksi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) terbatas pada akar dan perakaran yang berada di dalam tanah atau pada akar anggrek-anggrek epifit yang bagian bawahnya terletak pada substrat (Andersen and Rasmussen, 1996).

Menurut Soelistijono (2015), *Rhizoctonia* mikoriza memiliki 2 inti pada setiap septanya, sehingga *Rhizoctonia* ini termasuk ke dalam kelompok *Rhizoctonia* binukleat. *Rhizoctonia* binukleat dapat menghambat perkembangan miselium *Fusarium* sp. di bagian yang terinfeksi (Cardoso and Echandi, 1987). *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).

D. Asam Salisilat

Asam salisilat merupakan sinyal jalur transduksi yang menjadi komponen penting dalam mengaktivasi gen ketahanan terhadap berbagai macam jamur, bakteri dan virus secara sistemik (Gautam and Stein, 2011). Asam salisilat atau asam benzoat orto-hidroksi memiliki rumus molekul $C_7H_6O_3$. Sifat-sifat fisis yang dimiliki asam salisilat diantaranya berwujud padat pada suhu $25^{\circ}C$, memiliki berat molekul 138 g/mol, titik didih (*boiling point*) $255,85^{\circ}C$, titik beku (*freezing point*) $159^{\circ}C$, temperatur kritis 739 K, tekanan kritis 51,80 Bar dan densitas $1,140\text{ g/cm}^3$ (Kirk and Othmer, 1979). Struktur asam salisilat disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia asam salisilat (Fessenden and Fessenden, 1986)

Asam salisilat berperan penting dalam ketahanan sistemik terinduksi (Kessman *et al.*, 1994). Asam salisilat memberikan sinyal pertahanan tanaman terhadap infeksi patogen yang terjadi. Senyawa tersebut akan

terakumulasi pada tempat terinfeksi tanaman inang oleh patogen (Gautam and Stein, 2011). Asam salisilat secara tidak langsung menghambat pergerakan sistemik virus melalui pembuluh tanaman sehingga sifat asam salisilat hanya menunda gejala penyakit (Naylor *et al.*, 1998).

Asam salisilat termasuk ke dalam kelompok senyawa fenolik yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta respon tanaman terhadap penyakit (Rivas and Plasencia, 2011). Pengaruh asam salisilat terhadap beberapa tanaman, seperti kedelai, gandum, dan jagung telah banyak diteliti. Tanaman kedelai yang diinduksi dengan menggunakan asam salisilat menunjukkan peningkatan pertumbuhan akar (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998).

E. Ketahanan Terimbas

Ketahanan terimbas merupakan proses pengaktifan ketahanan alami tanaman, seperti penambahan sel lignin, produksi fitoaleksin, peningkatan enzim peroksidase dan kandungan klorofil (Agrios, 2005), yang diaktifkan oleh agensia biotik atau abiotik (Soesanto, 2008).

Pada umumnya, ketahanan terimbas adalah ketahanan sistemik. Ketahanan ini diartikan sebagai bentuk ketahanan yang daya pertahanannya ditingkatkan tidak hanya pada bagian tanaman yang terinfeksi, tetapi juga pada jaringan terpisah tempat yang tidak terinfeksi (van Loon *et al.*, 1998).

Tanaman mempunyai sistem pertahanan mekanis dan kimia tertentu yang dapat mencegah infeksi patogen (Sastrahidayat, 1990). Patogen yang menginfeksi tanaman akan dihambat pertumbuhannya oleh senyawa toksin yang dihasilkan dari reaksi biokimia yang terjadi di dalam sel atau jaringan (Agrios, 2005).

Tanaman akan melakukan respon pertahanan diri terhadap serangan patogen tertentu. Respon pertahanan tanaman terhadap patogen menurut Campbell *et al.* (2003) melalui beberapa tahapan yaitu, jaringan tumbuhan yang terinfeksi akan mengalami mekanisme resistensi spesifik yang didasarkan pada pengikatan ligan patogen ke dalam reseptor sel spesifik, pengikatan tersebut merupakan tahap identifikasi yang memicu jalur transduksi sinyal dan akan menghasilkan respon hipersensitif.

Pada respon hipersensitif, sel tumbuhan memodifikasi dinding sel dan merusak selnya sendiri sebagai upaya untuk menutup daerah yang terinfeksi menggunakan molekul antimikroba yang dihasilkannya. Respon terlokalisasi ini menyebabkan pembengkakan dan pelukaan daun yang terinfeksi. Sel-sel yang terinfeksi tersebut membebaskan asam salisilat dan menyebarkan ke seluruh bagian tumbuhan lain, kemudian sel tersebut mati. Asam salisilat dalam hal ini berperan dalam menginfeksi jalur transduksi sinyal untuk menginduksi produksi PR protein dan resistensi terhadap serangan patogen (Campbell *et al.*, 2003).

Induksi ketahanan sistemik merupakan salah satu alternatif yang digunakan untuk mendapatkan keragaman genetik tanaman yang tahan terhadap penyakit. Induksi ketahanan sistemik adalah suatu proses stimulasi pertahanan tanaman inang tanpa introduksi gen-gen baru (Agrios, 2005).

Induksi ketahanan sistemik mengaktifkan kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan tanaman dan merangsang mekanisme pertahanan alami dengan pengaplikasian bahan penginduksi eksternal (Agrios, 2005). Bahan penginduksi eksternal (elisitor) tersebut dapat berupa elisitor hayati, bahan kimia toksin dan tak-toksin, sinar ultraviolet, kompos, dan agensia lainnya (Soesanto, 2008).

Induksi ketahanan sistemik sebagai akibat dari aplikasi agens penginduksi tidak terlepas dari peran senyawa-senyawa tertentu dan *PR-protein* (*Pathogenesis Related-protein*) seperti *peroksidase*, *kitinase*, β -1,3 *glukanase*, β -1,4*glukosidase*, dan asam salisilat. Peran senyawa-senyawa tersebut ditunjukkan oleh peningkatan aktivitas dan kadarnya (Wei *et al.*, 1996).

F. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan suatu teknik isolasi bagian tanaman seperti protoplasma, jaringan, atau organ dalam keadaan aseptik. Kultur jaringan bertujuan untuk menumbuhkan bagian tanaman tersebut agar dapat

memperbanyak diri dan menjadi tanaman yang lengkap (Gunawan, 1992). Keberhasilan teknik kultur jaringan dipengaruhi oleh penggunaan media buatan yang mengandung nutrisi yang lengkap, adanya zat pengatur tumbuh (ZPT), kondisi ruang kultur yang steril, suhu dan pencahayaan yang terkontrol (Yusnita, 2003).

Kultur jaringan mempunyai nama lain yaitu kultur *in vitro*. Kultur *in vitro* berasal dari dua kata, yaitu ‘*culture*’ yang berarti budaya dan ‘*vitrous*’ yang berarti transparan. Kultur *in vitro* dapat diartikan sebagai teknik menumbuhkan sel, jaringan atau organ di dalam suatu wadah kultur yang transparan (gelas) menjadi tanaman lengkap pada kondisi lingkungan yang terkontrol (Pierik, 1987).

Teknik kultur jaringan atau kultur *in vitro* merupakan salah satu cara perbanyak tanaman yang efektif karena dapat menghasilkan jumlah tanaman yang banyak dan seragam dalam waktu yang relatif singkat. Teknik kultur jaringan juga dapat digunakan untuk mengkonservasi plasma nutfah atau biji secara *in vitro* (Karjadi dan Buchory, 2008).

Keberhasilan dalam kultur jaringan sangat bergantung pada media tumbuh yang digunakan. Media tumbuh yang digunakan terdiri dari garam-garam mineral, sumber karbohidrat, vitamin, zat pengatur tumbuh serta suplemen lain seperti senyawa-senyawa nitrogen organik dan asam-asam organik yang bermanfaat bagi tanaman (Gamborg and Skyluk, 1981).

G. Aktivitas Enzim Peroksidase

Enzim peroksidase adalah salah satu enzim yang termasuk ke dalam kelas enzim oksidoreduktase. Enzim ini berfungsi untuk mempercepat konversi H_2O_2 yang bersifat racun menjadi molekul H_2O yang netral dengan adanya substrat yang bertindak sebagai donor hidrogen sehingga sel hidup tidak mengalami kerusakan (Sutrisno, 2012).

Peroksidase merupakan protein yang mengandung 'heme' yang dapat mengkatalis reaksi oksidasi dari berbagai senyawa organik ataupun senyawa anorganik dengan adanya H_2O_2 sebagai akseptor elektron. Peroksidase sering digunakan untuk mengkatalis senyawa-senyawa dari golongan fenol dan amina aromatik (Sutrisno, 2012).

Enzim peroksidase merupakan suatu kelompok *PR-protein (Pathogenesis Related protein)* dari golongan *PR-9* yang terakumulasi pada saat tanaman sakit atau sejenisnya. Peningkatan aktivitas enzim peroksidase dipengaruhi oleh adanya serangan virus (van Loon *et al.*, 1994). Ekspresi meningkatnya aktifitas enzim peroksidase diakibatkan tanaman terinfeksi patogen termasuk virus yang akan berkorelasi dengan tingkat ketahanan terhadap virus (Zhou *et al.*, 1992).

Tanaman yang tahan terhadap penyakit cenderung memperlihatkan aktivitas peroksidase yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman rentan (Gupta *et al.*, 1990). Aktivitas enzim peroksidase secara langsung berpengaruh

terhadap pembentukan lignin. Enzim peroksidase adalah senyawa yang mengkatalis reaksi oksidasi hydrogen peroksida dengan monomer-monomer lignin seperti : *p*-kumaril alkohol, koniferil alkohol, dan sinapsis alkohol menjadi polimer berupa lignin. Dengan keberadaan lignin maka dinding sel tumbuhan dapat lebih tebal sehingga sulit ditembus oleh vektor (Hopkins, 1999; McKee dan McKee, 1999). Menurut Hiraga *et al.* (2001), peroksidase memiliki peranan dalam proses lignifikasi, cross-linking struktur protein pada dinding sel, katabolisme auksin, dan pertahanan diri terhadap patogen.

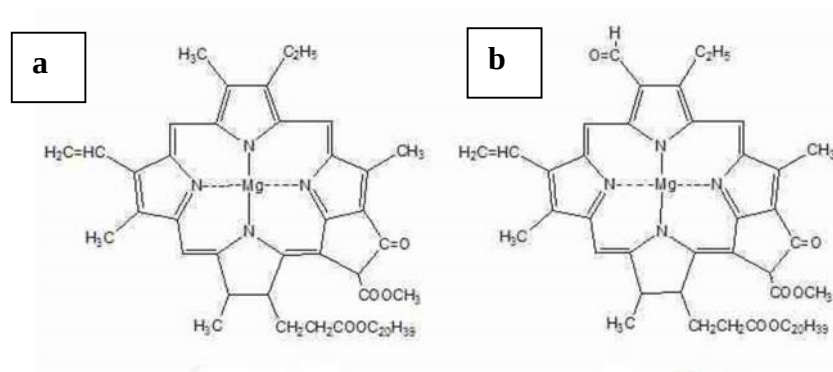
H. Biosintesis Klorofil

Klorofil merupakan molekul kompleks yang berperan penting dalam proses fotosintesis yaitu sebagai pengabsorpsi cahaya, transfer energi, transfer elektron (Taiz and Zeiger, 1998) dan katalisator pada tumbuhan. Klorofil bersama dengan CO₂, air, dan cahaya matahari berperan dalam membentuk karbohidrat pada proses fotosintesis (Jumin, 1989).

Klorofil di dalam kloroplas sering terikat longgar dengan protein (Harbourne, 1987). Sifat fisik yang dimiliki klorofil yaitu akan memantulkan cahaya yang berpendar atau berlainan. Sedangkan sifat kimia pada klorofil yaitu tidak larut dalam air namun larut pada senyawa yang lebih polar seperti etanol (Dwidjoseputro, 1994).

Klorofil pada tumbuhan terdiri dari dua jenis, yaitu klorofil a dengan warna hijau tua dan klorofil b dengan warna hijau muda (Harbourne, 1987). Klorofil

a dan b merupakan klorofil yang paling kuat menyerap cahaya di bagian merah dengan panjang gelombang 600- 700 nm dan paling sedikit menyerap cahaya hijau dengan panjang gelombang 500- 600 nm, sedangkan cahaya berwarna biru diserap oleh karotenoid (Nio Song dan Banyo, 2011). Struktur klorofil a dan b disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Klorofil a) Klorofil a, b) Klorofil b (Nio Song dan Banyo, 2011).

Ketersediaan air dan unsur hara dari dalam tanah berperan penting dalam sintesis klorofil (Syafi, 2008). Klorofil merupakan faktor utama yang mempengaruhi proses fotosintesis. Proses ini penting pada tumbuhan untuk mempertahankan pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Lie *et al.*, 2006). Klorofil memiliki tiga fungsi utama dalam fotosintesis, yaitu memanfaatkan energi matahari, memicu fiksasi CO_2 untuk menghasilkan karbohidrat dan menyediakan energi bagi ekosistem (Bahri, 2010). Karbohidrat yang dihasilkan dalam fotosintesis memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah penyusun dinding sel. Komponen dinding sel yang tebal akan menghambat penetrasi patogen. Oleh karena itu, kandungan klorofil dapat dijadikan parameter dalam mengukur ketahanan tanaman terhadap patogen.

I. Stomata

Stomata merupakan pori yang sangat kecil yang diapit oleh sel epidermal yang telah mengalami spesialisasi yang disebut sel penjaga (*guard cell*) (Campbell *et al.*, 2000). Stomata menjadi tempat pertukaran uap air dan gas antara bagian dalam dari stomata dengan lingkungan (Hamim, 2007). Sel penjaga berperan dalam perubahan osmotik yang menyebabkan gerakan sel penjaga dalam mengatur lebar celah stomata (Hidayat, 1995).

Stomata berfungsi sebagai organ respirasi. Stomata mengambil CO₂ dari udara untuk dijadikan bahan fotosintesis, kemudian akan mengeluarkan O₂ sebagai hasil fotosintesis (Salisbury and Ross, 1995). Stomata pada umumnya terdapat pada permukaan bawah daun, tetapi pada beberapa spesies tumbuhan stomata berada di permukaan atas dan bawah daun (Lakitan, 1993).

Tipe stomata dibedakan menjadi empat yaitu anomositik, anisositik, parasitik, dan diastik (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).

Stomata merupakan lubang alami yang sering digunakan sebagai tempat masuk jamur patogen. Menurut Semangun (1987), jamur *F. oxysporum* dapat menginfeksi tanaman melalui stomata pada daun-daun yang dekat dengan permukaan tanah. Tanaman mempunyai dua bentuk ketahanan mekanis, yaitu

ketahanan mekanis pasif dan ketahanan mekanis aktif. Tanaman dengan ketahanan mekanis pasif mempunyai struktur-struktur morfologi yang menyebabkannya sukar diinfeksi oleh patogen. Misalnya tanaman mempunyai epidermis yang berkutikula sangat tebal, adanya lapisan lilin dan mempunyai stomata sedikit (Semangun, 2006). Oleh karena itu, stomata dapat dijadikan parameter dalam ketahanan tanaman terhadap patogen.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan November 2016 sampai dengan 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 *autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF) merk ESCO, *scalpel*, mata pisau *scalpel*, pinset, botol kultur berukuran 250 ml, Erlenmeyer berukuran 50 ml, gelas ukur berukuran 100 ml dan 500 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet, pipet tip, aluminium foil, corong gelas, tisu, kertas filter, kertas label, timbangan analitik Ohaus, mikroskop, *waterbath*, spektrofotometri (*Shimudzu UV 800*), dan kamera.

2. Bahan-bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah planlet anggrek *Cattleya* sp. Lindl. steril dalam botol kultur yang diperoleh dari Soerjanto Orchids, Batu, Jawa Timur, mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) asal temanggung, asam salisilat 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), agar, serta bahan kimia medium VW (*Vacin and Went*) padat yang komposisinya disajikan dalam Lampiran 1.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilaksanakan dengan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) yang terdiri dari dua faktor, yaitu induksi asam salisilat dengan 4 taraf konsentrasi [A_0 (0 ppm), A_1 (90 ppm), A_2 (100 ppm), dan A_3 (110 ppm)] dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dengan 2 taraf [R_0 (tidak diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)) dan R_1 (diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.))]. Masing-masing perlakuan dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 planlet anggrek *Cattleya* sp. dalam setiap botol kultur. Tata letak satuan percobaan seleksi planlet anggrek *Cattleya* sp. secara *in vitro* disajikan dalam Tabel 1 dan kode perlakuan satuan percobaan disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 1. Tata letak satuan percobaan

R ₀ A ₂ U ₁	R ₀ A ₃ U ₄	R ₁ A ₁ U ₃	R ₀ A ₀ U ₁	R ₀ A ₀ U ₄	R ₁ A ₀ U ₃	R ₁ A ₁ U ₄	R ₀ A ₂ U ₃
R ₁ A ₃ U ₂	R ₀ A ₁ U ₃	R ₁ A ₂ U ₁	R ₁ A ₁ U ₂	R ₁ A ₃ U ₄	R ₀ A ₂ U ₂	R ₁ A ₂ U ₄	R ₀ A ₀ U ₂
R ₀ A ₁ U ₁	R ₁ A ₂ U ₃	R ₁ A ₀ U ₁	R ₀ A ₃ U ₂	R ₀ A ₂ U ₄	R ₀ A ₁ U ₂	R ₁ A ₃ U ₃	R ₁ A ₀ U ₄
R ₀ A ₀ U ₃	R ₁ A ₃ U ₁	R ₁ A ₂ U ₂	R ₁ A ₁ U ₁	R ₀ A ₃ U ₃	R ₀ A ₃ U ₁	R ₁ A ₀ U ₂	R ₀ A ₁ U ₄

Keterangan :

R₀ = Tidak diinokulasi dengan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

R₁ = Diinokulasi dengan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

A₀ = Asam salisilat konsentrasi 0 ppm

A₁ = Asam salisilat konsentrasi 90 ppm

A₂ = Asam salisilat konsentrasi 100 ppm

A₃ = Asam salisilat konsentrasi 110 ppm

U₁ = Ulangan ke 1

U₂ = Ulangan ke 2

U₃ = Ulangan ke 3

U₄ = Ulangan ke 4

Tabel 2. Kode perlakuan satuan percobaan

Kode Perlakuan	Perlakuan Inokulasi	Taraf Konsentrasi
		Asam Salisilat
R ₀ A ₀	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	0 ppm
R ₀ A ₁	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	90 ppm
R ₀ A ₂	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	100 ppm
R ₀ A ₃	Tidak diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	110 ppm
R ₁ A ₀	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	0 ppm
R ₁ A ₁	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	90 ppm
R ₁ A ₂	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	100 ppm
R ₁ A ₃	Diinokulasi <i>Rhizoctonia</i>	110 ppm

Keterangan :

R₀ = Tidak diinokulasi dengan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

R₁ = Diinokulasi dengan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

A₀ = Asam salisilat konsentrasi 0 ppm

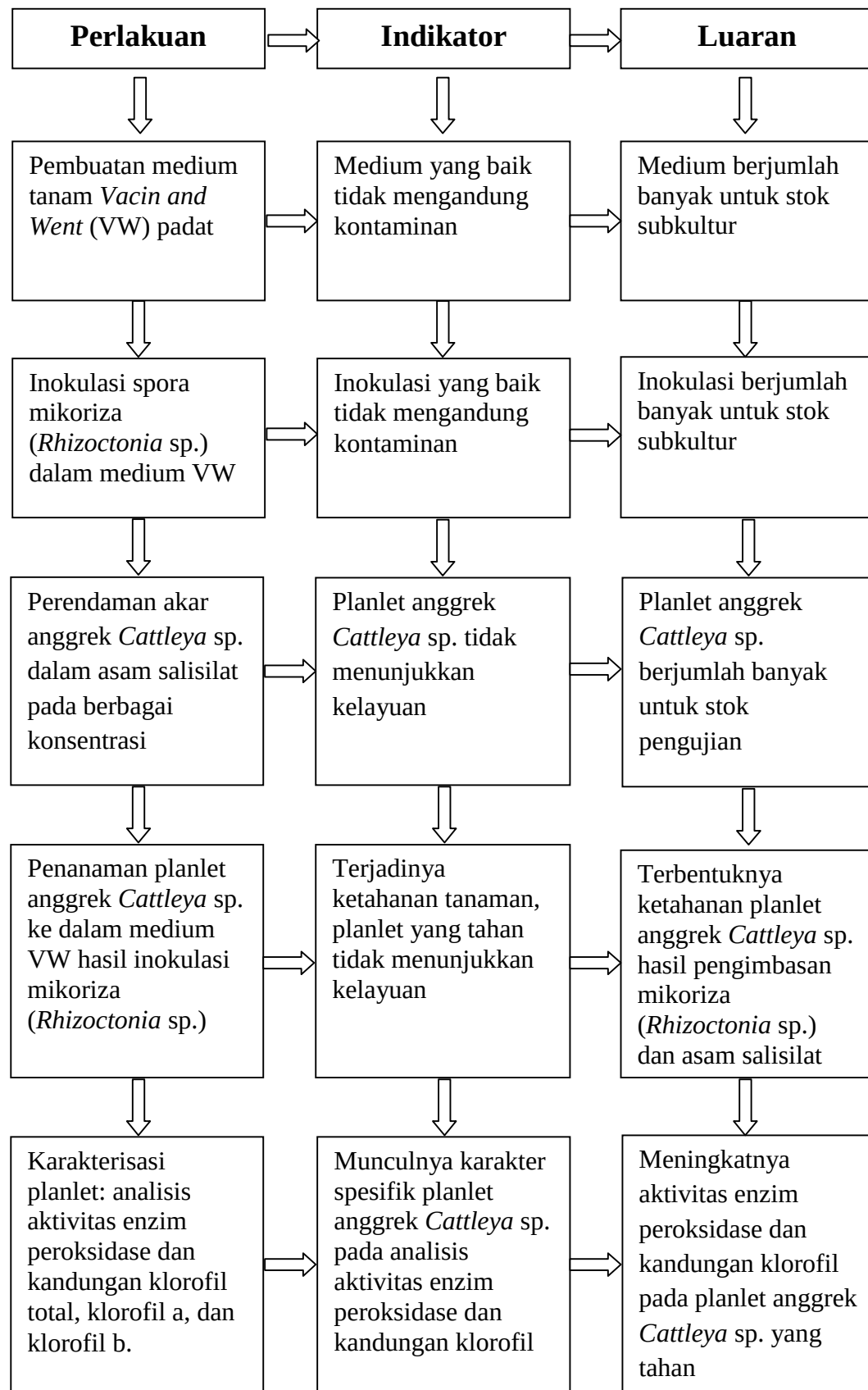
A₁ = Asam salisilat konsentrasi 90 ppm

A₂ = Asam salisilat konsentrasi 100 ppm

A₃ = Asam salisilat konsentrasi 110 ppm

D. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu: 1) Pembuatan medium tanam *Vacin and Went* (VW) padat; 2) Pemberian isolat mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dalam medium VW; 3) Penentuan kisaran konsentrasi asam salisilat untuk perendaman planlet anggrek *Cattleya* sp. sebelum penanaman dalam medium; 4) Penanaman planlet anggrek *Cattleya* sp. ke dalam medium penelitian secara *in vitro*; 5) Analisis karakter ekspresi spesifik pada planlet anggrek *Cattleya* sp. meliputi persentase jumlah planlet yang hidup, visualisasi planlet, analisis aktivitas enzim peroksidase, kandungan klorofil total, klorofil a, dan klorofil b, dan indeks stomata. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada Gambar 4.



Gambar 4. Bagan Alir Penelitian

E. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut.

1. Persiapan Medium Tanam

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vacin and Went* (VW) padat. Pembuatan medium tanam VW sebanyak 1 liter adalah dengan cara memipet sejumlah larutan stok dari komposisi medium *Vacin and Went* (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 20 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.

2. Inokulasi Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.)

Inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) dilakukan secara langsung pada medium tanam anggrek secara *in vitro* dengan menambahkan larutan isolat mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) yang dimasukkan pada medium *Vacin and Went* (VW) sebanyak 0,1 ml dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 72 jam (Komunikasi pribadi).

3. Induksi Planlet Anggrek *Cattleya* sp. dengan Asam Salisilat

Asam salisilat ditimbang dan dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi 0 ppm, 90 ppm, 100 ppm, dan 110 ppm. Kemudian asam salisilat 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 di dalam LAF *Cabinet*. 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 dengan volume asam salisilat sebanyak 25 ml selama 2 menit.

4. Penanaman Planlet pada Medium Penelitian

Planlet anggrek *Cattleya* sp. yang telah diinduksi dengan asam salisilat kemudian ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium perlakuan. Masing-masing perlakuan dilakukan 4 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 2 eksplan dalam setiap botol kultur.

5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 2 minggu setelah penanaman untuk mengetahui pengaruh induksi asam salisilat dan inokulasi mikoriza

(*Rhizoctonia* sp.) terhadap planlet anggrek *Cattleya* sp. secara *in vitro* dengan parameter sebagai berikut.

a. Persentase Jumlah Planlet Hidup

Perhitungan persentase jumlah planlet hidup anggrek *Cattleya* sp. dengan menggunakan rumus:

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

(Nurcahyani dkk., 2014)

b. Visualisasi Planlet

Visualisasi planlet yang diamati setelah diberikan perlakuan induksi asam salisilat dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) meliputi warna planlet dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna coklat dan coklat.

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

(Nurcahyani dkk., 2014)

6. 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 anggrek *Cattleya* sp., dan 0,5 mL H₂O₂ 1%. Campuran diendapkan dalam suhu kamar dan dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 0,5 mL. Spektrofotometer (*Shimadzu 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.

7. Analisis Kandungan Klorofil

Bahan untuk analisis kandungan klorofil menggunakan daun planlet anggrek *Cattleya* sp. yang sudah diberikan perlakuan induksi asam salisilat dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.), menggunakan metode Miazek (2002) dengan spektrofotometer. Daun planlet anggrek *Cattleya* sp. sebanyak 0,1 g dihilangkan ibu tulang daunnya, digerus dengan mortar, ditambahkan 10 mL ethanol. Larutan disaring dengan kertas *Whatman* No. 1 dan dimasukkan ke dalam flakon lalu ditutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar (ethanol) di ambil sebanyak 1 mL, dimasukkan dalam kuvet.

Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 648 nm dan 664 nm, dengan tiga kali ulangan setiap sampel.

Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Klorofil total} = 5,24 \lambda_{664} + 22,24 \lambda_{648} \text{ mg/l}$$

$$\text{Klorofil a} = 13,36 \lambda_{664} - 5,19 \lambda_{648} \text{ mg/l}$$

$$\text{Klorofil b} = 27,43 \lambda_{648} - 8,12 \lambda_{664} \text{ mg/l (Miazek, 2002).}$$

8. Analisis Indeks Stomata

Pembuatan preparat stomata dilakukan dengan metode Ruzin (1999) melalui beberapa tahap yaitu daun planlet anggrek *Cattleya* sp. dibuat potongan-potongan segi empat dengan sisi ± 5 mm dan dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan kloralhidrat dalam air (5:1). Tabung dipanasi dalam waterbath selama ± 10 -15 menit hingga potongan daun tersebut transparan. Potongan daun diletakkan pada gelas benda dengan permukaan yang terdapat stomata diletakkan di sebelah atas, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat diamati pada 5 bagian daerah yang berlainan. Tiap sel epidermis (E) ditandai dengan (x), stomata (S) ditandai dengan (O). indeks stomata dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Indeks Stomata} = \left[\frac{S}{E+S} \right] \times 100$$

Hasil akhir adalah rata-rata dari 5 buah pengamatan (Ruzin, 1999).

F. Anilisa Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet anggrek *Cattleya* sp. selama seleksi dengan asam salisilat dan perlakuan inokulasi *Rhizoctonia* mikoriza berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Data kuantitatif yang diperoleh dari setiap parameter dihomogenkan dengan menggunakan uji Levene kemudian dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam pada taraf

nyata 5% dan uji lanjut dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf nyata 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini meliputi:

1. Planlet anggrek *Cattleya* yang diberikan perlakuan induksi asam salisilat dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) memiliki karakter ekspresi yang spesifik.
 - a. Kandungan klorofil a, b, dan total tertinggi terdapat pada daun planlet anggrek *Cattleya* yang diberikan asam salisilat konsentrasi 110 ppm dan tidak diinokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.).
 - b. Aktivitas enzim peroksidase tertinggi terdapat pada planlet anggrek *Cattleya* yang diberikan asam salisilat konsentrasi 110 ppm dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.).
 - c. Indeks stomata tertinggi terdapat pada daun planlet anggrek *Cattleya* yang diberikan asam salisilat pada konsentrasi 100 ppm dan inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.).
 - d. Konsentrasi asam salisilat yang toleran terhadap planlet anggrek *Cattleya* adalah 110 ppm.

2. Terdapat interaksi antara asam salisilat konsentrasi 110 ppm dan mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) terhadap indeks stomata daun planlet anggrek *Cattleya*.

B. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai pengamatan anatomi akar planlet hasil inokulasi mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) untuk mengetahui adanya struktur peloton mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) di dalam jaringan sel akar planlet, peningkatan konsentrasi asam salisilat, dan penentuan dosis mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) yang sesuai untuk pertumbuhan planlet.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 1997. *Plant Pathology*. Academic Press. London.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 4th ed. Academic Press. New York.
- Akhsan, N. 1996. Studi Keberadaan Populasi Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *licopersici* (Sacc) Snyder & Hans.) di Palaran, Loa Jaran dan Tanah Merah. *Bul. Budidaya Pert.*
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, and Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Andersen, T. F. and H. N. Rasmussen. 1996. The Mycorrhizal species of *Rhizoctonia*. In: Sneh, B., S. Jabaji-Hare, S. Neate, and G. Dijst. *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and disease control. KAP. London.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2016. *Publikasi laporan tanaman hias 2014 (produksi Anggrek)*. <http://www.bps.go.id>. Diunduh pada 10 Oktober 2016 pada pukul 19.30 WIB.
- Bahri, S. 2010. *Klorofil*. Diktat Kuliah Kapita Selekta Kimia Organik. Universitas Lampung. Lampung.
- Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi). 2010. *Panduan Karakterisasi Tanaman Hias Anggrek*. Balithi. Jakarta.
- Çag, S., Cevahir-Öz, G., Sarsag, M., and Gören-Saglam, N. 2009. Effect Of Salicylic Acid On Pigment, Protein Content and Peroxidase Activity In Excised Sunflower Cotyledons. *Pak. J. Bot.* 41(5): 2297-2303.
- Cahyono, B. 2008. *Tomat Usaha Tani & Penanganan Pasca Panen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Campbell, N. A., Jane B. Reece, dan Lawrence G. Mitchell. 2000. *Biologi Jilid 3*. Erlangga. Jakarta.
- Campbell, N. A., Jane B. Reece, dan Lawrence G. Mitchell. 2003. *Biologi Jilid 2*. Erlangga. Jakarta.

- Cardoso, J. E. and E. Echandi. 1987. Nature of protection of bean seedling from *Rhizoctonia* root rot by a binucleate *Rhizoctonia*-like fungus. *Phytopathology*. 77 : 1548 – 1551.
- Carling, D. E., E. J. Pope, K. A. Brainard, and D. A. Carter. 1999. Characterization of mycorrhiza isolates of *Rhizoctonia solani* from an orchid, including AG-12, a new anastomosis group. *Phytopathology*. 89 : 942 – 946.
- 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.
- Darmono, D. W. 2003. *Merawat Cattleya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Direktorat Perlindungan Hortikultura (Ditlinhorti). 2013. *OPT Anggrek*. <http://ditlin.hortikultura.pertanian.go.id/>. Diunduh pada 1 November 2016 pada pukul 18.45 WIB.
- Dwidjoseputro. 1994. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Pustaka Gramedia. Jakarta.
- Fahn, A. 1991. *Anatomi tumbuhan. Edisi ke-3*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- 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*.
- Gamborg, O. L. dan J. P. Shyluk. 1981. Nutrition, Media, and Characteristic of Plant Cell and Tissue Culture. *dalam* Gunawan, L. W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gautam, P. and Stein, J. 2011. Induction of systemic acquired resistance to *Puccinia sorghi* in corn. *International Journal of Plant Pathology*. Vol. 2, No. 1. pp. 43 - 50.
- Gunawan, L. W. 1989. *Budidaya Anggrek. Seri Agrihobi*. Penebar Swadaya. Jakarta. <https://books.google.co.id/>. Diunduh pada 3 November 2016 pada pukul 20.15 WIB.
- Gunawan, L. W. 1992. *Teknik Kultur Jaringan*. PAU Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Gupta, S. K., P. P. Gupta, T. P. Yadava, and C. D. Kaushik. 1990. Metabolic changes in mustard due to *Alternaria* leaf blight. *Indian Phytopathol.* 43(1): 64-69.

- Gutiérrez-Coronado, M., Trejo C. L., A. Larqué-Saavedra. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol Biochem.* 36(8): 563-565.
- Hamim. 2007. *Ekofisiologi Tanaman*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Harbourne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh: Padmawinata K. dan Sudiro I. ITB. Bandung. pp 259-261
- Hayakawa, S., Y. Uetake, and A. Ogoshi. 1999. Identification of symbiotic rhizoctonias from naturally occurring protocorms and roots of *Dactylorhiza aristata* (Orchidaceae). *Journal of Faculty Agriculture Hokkaido University* 6 : 129 – 141.
- Herlina, L. 2009. Potensi *Trichoderma harzianum* sebagai Biofungisida pada Tanaman Tomat. *Biosaintifika*. Vol.1. Hal. 62.
- Hew C. S. and Young J. W. H. 1997. *The Physiology of Tropical Orchids in Relation to the Industry*. World Scientific. Singapore.
- Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y., and Matsui, H. 2001. A Large Family of Class III Plant Peroxidase. *Cell Physiology*. 42(5), 462-468.
- Hopkins, W. G. 1999. *Introduction to Plant Physiology*. 2nd edition. Academy Press. New York.
- Husen, S. 2001. Aplikasi Bioteknologi pada Kultur In Vitro Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Bestari*. No. 31, Th. XIV.
- Iswanto, H. 2002. *Petunjuk Perawatan Anggrek*. Agro Media Putri. Jakarta.
- Iswanto, H. 2010. *Petunjuk Praktis Merawat Anggrek*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- John, T. St. 1992. *The Importance of Mycorrhizal Fungi and other Beneficial Microorganism in Biodiversity Projects*. Makalah yang dipresentasikan pada The Western Forest Nursery Associations Meeting at Fallen Leaf Lake, September 14-18, 1992.
- Jumin, H. B. 1989. *Ekologi Tumbuhan*. Rajawali Press. Jakarta.
- Juwanda, M., Khotimah, K., dan Amin, M. 2016. Peningkatan Ketahanan Bawang Merah Terhadap Penyakit Layu Fusarium Melalui Induksi Ketahanan dengan Asam Salisilat Secara In Vitro. *Agrin Vol. 20, No. 1*.

- Karjadi, A. K. dan Buchory. 2008. Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Pertumbuhan Dan Perkembangan Jaringan Meristem Kentang Kultivar Granola. *Jurnal hortikultura*. Vol. 18-4
- Kasiamdari, R. S. 2000. *Binukleat Rhizoctonia* isolate from mycorrhizal pot culturs:Its morphological characteristics and pathogenicity. *Biologi*. 2(10): 615-628.
- Kessman, H., Staub, T., Hofmann, T. M., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., and Ryals, J. 1994. Induction of Systemic Acquired Disease Resistance in Plants by Chemical. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32. pp 439- 459.
- Kirk, R. E., and Othmer, D. F. 1979. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd wd., vol 15-20, The Inter Science Encyclopedia, Inc., New York.
- Lakitan, B. 1993. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lie, R., P. Guo, M. Baum, S. Grando, S. Ceccarelli. 2006. *Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley*. Agricultural sciences in China.
- Lubis. L. dan M. I. Pinem. 2004. *Penyakit Tanaman Pangan dan Hortikultura*. FP USU. Medan. Hlm 41-42.
- Mateo, A., Funck, D., Mühlenbock, P., Kular, B., Mullineaux, P. M., and Karpinski, S. 2006. Controlled levels of salicylic acid are required for optimal photosynthesis and redox homeostasis. *J Exp Bot.* 57:1795-1807.
- Mattjik, N. A. 2010. *Budi Daya Bunga Potong dan Tanaman Hias*. IPB Press. Bogor.
- Mc.Kee, T. and J. Mc. Kee. 1999. *Biochemistry : An Introduction*. Second ed. Mc. Graw-Hill. New York.
- Miazek, Mgr Inz. 2002. Krystian. *Chlorophyll Extraktion From Harvested Plant Material*. Supervisor: Prof. Dr. Ha. Inz Stanislaw Ledakowicz.
- Murphy, A. M., A. 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.
- Muslimah, I. 2016. *Karakterisasi Planlet Pisang Ketan (Musa paradisiacal L.) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat Secara In Vitro*. Universitas Lampung. Lampung. [Skripsi].

- Naylor, M., Murphy, A. M., Berry, J. O., and Carr, J. P. 1998. 'Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement'. *Molecular Plant Microbe Interac.* Vol. 11, pp. 860 - 6.
- Nio Song dan Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains.* 11 (2).
- 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].
- 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. pp 272- 279.
- Peterson, R. L. and M. L. Farquhar. 1994. Mycorrhizas Integrated Development between Roots and Funfi. *Mycologia.* 311-326.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant.* Martinus Nijhoff Publ. Netherlands. 433p.
- Radwan, D. E. M., and D. M. Soltan., 2012. The Negative Effects of Clethodium in Photosynthesis and Gas Exchange Status of Maize Plants are Ameliorated by Salicylic Acid Pretreatment. *Photosynthetica.* pp : 012-016.
- Rahmatia, D. dan Pitriana, P. 2007. *Pengayaan Seri Flora dan Fauna 'Bunga Anggrek'.* Ganesha Ecxact. Jakarta.
- 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.
- Rasmussen, J. B., Hammerschmidt, R., and Zook, M. N. 1991. Systemic Induction of Salicylic Acid Accumulation in Cucumber after Inoculation with *Pseudomonas syringae* pv *syringae*'. *Plant Physiol.* 1342-1347.
- 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, dan M. J. Rumondor. 2011. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Orchidaceae. *Jurnal Bioslogos*. Vol. 1 No. 1.
- Rukmana, R. 2000. *Seri Budi Daya : Anggrek Bulan*. Kanisius. Yogyakarta. <https://books.google.co.id/>. Diunduh pada 1 November 2016 pada pukul 15.45 WIB.
- Ruzin, S. E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. New York.
- Salisbury, F. B. dan C. W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid I*. Edisi IV. ITB. Bandung.
- Sandra, E. 2003 *Membuat Anggrek Rajin Berbunga*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Saptiningsih, E. 2007. Peningkatan produktivitas tanah pasir untuk pertumbuhan tanaman kedelai dengan inokulasi mikorhiza dan rhizobium. *Jurnal Bioma*. 9 (2): 58 – 61
- 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.
- Sarwono, B. 2002. *Mengenal dan Membuat Anggrek Hibrida*. Agro Media Pustaka. Depok.
- Sasmitamihardja, Dardjat dan Arbayah, H. S. 1990. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. FMIPA-ITB. Bandung.
- Sastrahidayat, I. R. 1990. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Usaha Nasional. Surabaya.
- Satter, M. A., Hanafi, M. M., Mahmud, T. M. M., and 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.
- Schmidt, L. 2000. *Pedoman Penanganan Benih Hutan Tropis dan Sub Tropis*. Direktorat Jendral Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial. Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Semangun, H. 1987. *Pengelolaan Penyakit Tumbuhan, Khususnya mengenai Pelaksanaannya di Perkebunan Besar*. UGM. Yogyakarta.
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta.

- Semangun, H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta.
- Semangun, H. 2006. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta.
- Simaei, M., Khavari-Nejad, R. A., and Bernard, F. 2012. Exogenous application of salicylic acid and nitric oxide on the ionic contents and enzymatic activities in nacl-stressed soybean plants. *American Journal of Plant Sciences*. 3: 1495-1503.
- Smith, S. E. and Read. D. J. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. Second Edition. Academic Press. Harcourt Brace & Company Publisher. London.
- Smith, S. E. and D. J. Read. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd Edition. Academic Press. New York. 805 p.
- Soelistijono. 2013. Pengimbasan Ketahanan Anggrek *Spathoglottis plicata* terhadap Penyakit Busuk Akar *Rhizoctonia solani* menggunakan Rhizoctonia Mikoriza In Vitro. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. [Disertasi].
- 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).
- Soeryowinoto, S. M. 1974. *Merawat Anggrek*. Kanisius. Yogyakarta.
<https://books.google.co.id/>. Diunduh pada 2 November 2016 pada pukul 14.50 WIB.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Sujatmiko, B., Sulistyaningsih, E., dan Murti, R. H. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis melo* L.) terhadap Layu *Fusarium* secara *In-vitro* dan Kaitannya dengan Asam Salisilat. *Ilmu Pertanian*. 15 (2). pp 1- 18.
- Supriyanto, U. S., Irawan, dan I. W. S. Dharmawan. 2003. *Teknik Pengemasan Inokulum Cendawan BNR*. Makalah dalam Seminar Tahunan Aso-siasi BNR Indonesia. Bandung 16 September 2003. 12 hal.
- Sutrisno, W. 2012. *Sintesis senyawa dimer isoeugenol menggunakan enzim peroksidase dari kulit bawang Bombay (allium cepa L.) serta uji aktivitas antioksidan*. FMIPA UI. Depok
- Syafi, S. 2008. *Respon Morfologis dan Fisiologis Bibit Berbagai Genotip Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Terhadap Cekaman Kekeringan*. IPB. Bogor. [Tesis].

- 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.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 1998. *Plant Physiology*. Second Edition. Sunderland : Sinauer Associates, Inc., Publisher.
- van Loon, L. C., W. S. Pierpoint, Th. Boller, and V. Conejero. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Report.* 12 : 245-264.
- van Loon L. C., P. A. H. M. Baker, and C. M. J. Pieterse. 1998. Systemic Resistance Induced by Rhizosphere Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-458
- Vlot A.C, Dempsey D.A, and Klessig D.F. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Ann. Rev. Phytopathol.* 47: 177-206.
- Wahyudi, T., Panggabean, T. R. dan Pujiyanto. 2008. *Kakau Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Penebar Swadaya. Hlm. 1-151
- Wedge, D. E. and Elmer, W. H. 2008. *Fusarium Wilt of Orchids*. *ICOGO Bull.* 2 (3): 161-168.
- Wei, G., J. W. Kloepper, and S. Tuzun. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology.* 86 : 221-224.
- Widiastoety, D. dan Nurmalinda. 2010. Pengaruh Suplemen Nonsintetik terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Vanda. *Jurnal Hortikultura.* Vol. 20 No. 1.
- Widyas. 2009. *Analisis Risiko Anggrek Phalaenopsis pada PT Ekakarya Graha Flora di Cikampek, Jawa Barat*. Fakultas Ekonomi dan Manajemen, Institut Pertanian Bogor. Bogor. [Skripsi].
- Wilkins. 1989. *Fisiologi Tanaman*. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta.
- Winarsih, S. 2007. Pengaruh bahan organik pada pertumbuhan *Gliocladium virens* dan daya antagonisnya terhadap *Fusarium oxysporum* secara in-vitro. ISSN 1411 – 0067 *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. Edisi Khusus, No. 3, Hlm. 386 - 390 386.
- Wu, P. H., D. D. Huang, and D. C. N. Chang. 2011. Mycorrhizal symbiosis enhances *Phalaenopsis* orchid's growth and resistance to *Erwinia chrysanthemi*. *African J. Biotech.* 10:10095-10100.
- Yedidia, I., Benhamou, N., and Chet, I. 1999. Induction of Defense Responses in Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by the Biocontrol Agent

Trichoderma harzianum. *Applied and Environmental Microbiology*. 1061–1070 Vol. 65, No. 3

Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien*. Jakarta. Agromedia Pustaka.

Zhou, B. W., S. Y. Liu, D. Y. Chen, Q. Yu, J. Yang, and C. Wang. 1992. Peroxidase in relation to varietas resistance to vius disease in rapeseed (*Brassica napus*). (Abstract). *Oil Crops of China* 2 : 52-54.