

**SELEKSI *IN VITRO* DAN UJI KETAHANAN PLANLET ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] HASIL *INDUCED RESISTANCE*
TERHADAP *Fusarium oxysporum***

(Skripsi)

Oleh

**MEILYANA SANTA MARIA
NPM 1817021010**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

SELEKSI *IN VITRO* DAN UJI KETAHANAN PLANLET ANGGREK BULAN [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] HASIL *INDUCED RESISTANCE* TERHADAP *Fusarium oxysporum*

Oleh

MEILYANA SANTA MARIA

Tanaman anggrek merupakan tanaman yang paling banyak diminati oleh berbagai kalangan karena keindahan bentuk dan warna bunganya. *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume termasuk ke dalam salah satu jenis anggrek yang masuk dalam daftar tanaman yang terancam punah. *P. amabilis* biasanya disebabkan oleh infeksi dari jamur patogen. Salah satu jenis jamur yang dapat menyerang *P. amabilis* adalah *Fusarium oxysporum* (Fo). Berdasarkan permasalahan yang terjadi dapat digunakan cara alternatif dan tidak menimbulkan efek negatif yaitu dengan menggunakan seleksi salah satu kultivar unggul yang tahan terhadap infeksi dari Fo melalui seleksi secara *in vitro* pada medium yang telah ditambahkan asam salisilat. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi asam salisilat efektif pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap Layu Fusarium dan mengetahui indeks stomata pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap *F. oxysporum* hasil induksi asam salisilat serta menentukan kriteria ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap Fo hasil induksi asam salisilat. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor, yaitu penambahan konsentrasi asam salisilat yang dibagi atas 5 taraf, yaitu 0 ppm, 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm, dan 115 ppm. Analisis data menggunakan Uji Levene pada taraf 5 % dan dilanjutkan dengan Uji Anova One Way pada taraf 5 %, jika data menunjukkan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi asam salisilat 115 ppm lebih efektif untuk menekan perkembangan jamur dibandingkan konsentrasi 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm dan mampu menekan intensitas penyakit hingga 25 % serta meningkatkan kriteria ketahanan dari moderat ke tahan. Karakter ekspresi spesifik pada planlet *P. amabilis* yang diimbasi asam salisilat yaitu semakin meningkatnya konsentrasi asam salisilat maka semakin meningkat nilai indeks stomata daun *P. amabilis*.

Kata kunci: *Phalaenopsis amabilis*, asam salisilat, seleksi *in vitro*,
Fusarium oxysporum

**SELEKSI *IN VITRO* DAN UJI KETAHANAN PLANLET ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] HASIL *INDUCED RESISTANCE*
TERHADAP *Fusarium oxysporum***

Oleh

MEILYANA SANTA MARIA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi : **SELEKSI *IN VITRO* DAN UJI KETAHANAN
PLANLET ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] HASIL
INDUCED RESISTANCE TERHADAP
*Fusarium oxysporum***

Nama Mahasiswa : **Meifyana Santa Maria**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1817021010

Jurusan/ Program Studi : Biologi/ S1 Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP 196510311992032003

Dra. Tundjung Tripeni H., M.S.
NIP 195806241984032002

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

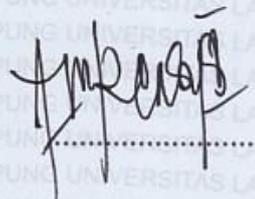
Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 196101121991031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

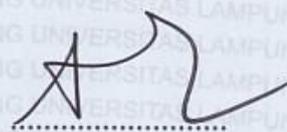
Ketua

: Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.



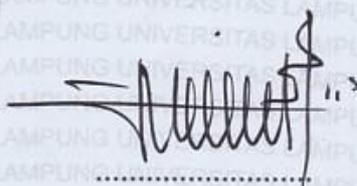
Sekretaris

: Dra. Tundjung Tripeni H., M.S.



Penguji Utama

: Dra. Yulianty, M.Si.

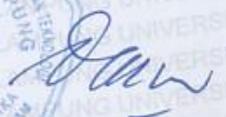


2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.

NIP 197407052000031001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 31 Mei 2022

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Meilyana Santa Maria

NPM : 1817021010

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 10 Juni 2022

Yang menyatakan,



Meilyana Santa Maria

NPM. 1817021010

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Desa Srimenanti, Kecamatan Bandar Sribhawono, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung pada tanggal 29 Mei 2000 sebagai anak ketiga dari 3 bersaudara, dari Bapak Sumedi dan Ibu Tyas Rahasri.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di TK Xaverius Srimenanti pada tahun 2005, selanjutnya penulis menempuh pendidikan dasar di SD Kristen 4 Sribhawono pada tahun 2006. Pada tahun 2012 penulis melanjutkan pendidikannya di SMP Negeri 1 Bandar Sribhawono. Pada tahun 2015 penulis melanjutkan pendidikannya di SMA Negeri 1 Bandar Sribhawono. Pada tahun 2018, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten pada mata kuliah Fitopatologi Program Studi S1 Biologi Terapan FMIPA Unila. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Saintek 2019-2020.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata pada bulan Februari-Maret 2021 di Desa Srimenanti, Kecamatan Bandar Sribhawono, Kabupaten Lampung Timur. Pada tahun 2021 bulan Agustus- September, penulis melaksanakan Kerja Praktik di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung dengan judul “**Gambaran Resistensi**

Bakteri terhadap Antibiotik pada Sampel Urin dari RS. Urip Sumoharjo di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung". Penulis melaksanakan penelitian pada bulan Desember 2021 sampai dengan bulan Februari 2022 di Ruang Kultur *In Vitro* Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat, karunia dan kasih-Nya yang telah memberikan kesabaran, kekuatan, dan kesehatan untukku dalam mengerjakan skripsi ini.

Ku persembahkan karya ini sebagai cinta kasihku, tanda bakti, serta rasa terima kasihku yang terdalam kepada:

Bapak dan Ibu yang telah mendidik, menyayangi dan mencintai, selalu mendoakanku tiada henti, memberikan semangat dan nasehat, serta pengorbanan besar untuk kesuksesanku.

Kakakku dan keluarga besarku tercinta yang selalu memberikan dukungan, dorongan, motivasi, dan semangat untuk keberhasilanku.

Guru-guruku, dosen-dosenku, terutama pembimbingku yang tak pernah lelah dan selalu sabar memberikan bimbingan dan arahan kepadaku.

Sahabat-sahabatku yang senantiasa menjadi penyemangat, yang memberikan pengalaman berharga, selalu menguatkan, tempat berbagi cerita baik suka dan duka.

Tiada hari yang indah tanpa kalian.

Almamater tercinta.

MOTTO

Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apa pun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur.

(Filipi 4:6)

If you study to 'remember', you will forget, but if you study to 'understand' you will remember.

Akan selalu ada jalan menuju sebuah kesuksesan bagi siapapun, selama orang tersebut mau berusaha dan bekerja keras untuk memaksimalkan kemampuan yang ia miliki.

SANWACANA

Salam Sejahtera

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat, karunia, dan kasih-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul: “**Seleksi *In Vitro* dan Uji Ketahanan Planlet Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] Hasil *Induced Resistance* terhadap *Fusarium oxysporum*” tepat pada waktunya.**

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari perhatian, bimbingan, masukan, arahan, nasehat, curahan waktu, serta motivasi yang tiada henti selama dalam penelitian, penulisan, serta dalam proses menyelesaikan studi. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Ibu **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**, selaku pembimbing I, dan kepada Ibu **Dra. Tundjung Tripeni H., M.S.**, selaku pembimbing II.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pula kepada:

1. Ibu Dra. Yulianty, M.Si. selaku pembahas yang telah banyak memberikan masukan, arahan nasehat, dan curahan waktu terhadap penulis dalam menyempurnakan naskah skripsi ini.
2. Bapak (Alm) Ir. Zulkifli, M.Sc. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran pada awal penelitian.

3. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung, beserta staf dan jajarannya yang telah memberikan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
5. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
6. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Emantis Rosa, M.Biomed selaku pembimbing akademik yang senantiasa memberikan saran dan bimbingan selama penulis mengemban pendidikan di bangku perkuliahan
8. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si., selaku kepala Laboratorium Botani, Jurusan Biologi FMIPA Unila beserta seluruh staf yang memberi izin, fasilitas, dan bantuan kepada penulis selama melakukan penelitian.
9. Bapak Ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Unila yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu penulis mengucapkan terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang sudah diberikan kepada penulis selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
10. Kedua orang tua tercinta Bapak Sumedi dan Ibu Tyas Rahasri yang tiada henti-hentinya mendoakan, memberikan semangat, dan dukungan pada penulis baik selama pelaksanaan maupun pembuatan skripsi serta nasihat-nasihat yang menguatkan penulis.
11. Kedua kakakku yaitu Tri Nani dan Merry Paulus Susanti A.Md. Kep tersayang yang selalu mendo'akan, memberikan semangat, kasih sayang, kesabaran serta motivasi kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

12. Sahabat tersayang Yemima Simamora, Sofia Vao Afni Daely dan Syavira Indriani yang telah mendukung, menyemangati, memotivasi, dan membantu penulis dalam pelaksanaan skripsi.
13. Sahabat seperjuangan penelitian kultur jaringan Asrini, Dwi Septiani, Aura, Feriza, Desti, Galih, Suci, Gilang, Zelfi, Vega, dan Jabar atas kerjasama, kebersamaan, kritik, dan saran semangat yang telah diberikan kepada penulis.
14. Kakak S2 seperjuangan penelitian kultur jaringan yaitu Kak Yuli dan Kak Elsi terimakasih atas kerjasama, bantuan, bimbingan, dukungan, kebersamaan baik suka dan duka, dan saran selama penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
15. Teman-teman Biologi FMIPA Unila 2018 yang selalu menyemangati penulis dalam melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
16. Kakak dan adik tingkat Jurusan Biologi, terimakasih atas semangat dan doa yang sudah diberikan.
17. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan, yang telah ikut serta membantu dalam penulisan skripsi ini.

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

Bandar Lampung, 10 Juni 2022
Penulis,

Meilyana Santa Maria

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	4
1.3. Kerangka Pemikiran	4
1.4. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Anggrek Bulan (<i>Phalaenopsis amabilis</i>)	7
2.1.1. Klasifikasi.....	7

2.1.2. Morfologi Anggrek Bulan	7
2.1.3. Sejarah Mengenai Anggrek Bulan	9
2.1.4. Syarat Tumbuh Anggrek Bulan.....	10
2.2. Penyakit Layu Fusarium	10
2.3. Ketahanan Terimbas (<i>Induced Resistance</i>).....	12
2.4. Asam Salisilat	14
2.5. Kultur Jaringan	15
2.6. Stomata.....	17
III. METODE PERCOBAAN	18
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
3.2. Alat dan Bahan Penelitian	18
3.3. Rancangan Percobaan	19
3.4. Bagan Alir Penelitian.....	20
3.5. Pelaksanaan Penelitian	22
3.5.1. Sterilisasi Alat	22
3.5.2. Persiapan Medium Tanam	22
3.5.3. Persiapan Medium Seleksi	22
3.5.4. Penanaman Planlet Dalam Medium Seleksi Asam Salisilat	23
3.5.5. Pengamatan	23
1. Presentase Jumlah Planlet	23
2. Visualisasi Planlet	24
3.5.6. Indeks Stomata	24
3.5.7. Pengujian Planlet Anggrek Bulan Terhadap <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i>	24
1. Inokulasi <i>Fo</i> Pada Planlet Anggrek Bulan	24
3.5.8. Analisis Data	26

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1. Presentase Jumlah Planlet Hidup	27
4.2. Visualisasi Planlet	28
4.3. Indeks Stomata	31
4.4. Pengujian Planlet Anggrek Bulan Terhadap <i>Fusarium oxysporum</i>	36
V. KESIMPULAN.....	42
5.1. Simpulan	42
5.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Notasi Perlakuan dan Ulangan	19
2. Tata Letak Percobaan Setelah Pengacakan	20
3. Indeks Kelayuan.....	25
4. Tingkat Ketahanan Tanaman	26
5. Persentase Jumlah Planlet Hidup Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat	28
6. Visualisasi Planlet <i>P. amabilis</i> dalam Medium VW Hasil Pengimbasan Asam Salisilat Secara <i>In Vitro</i>	28
7. Uji Lanjut BNJ Rata-Rata Indeks Stomata Daun Planlet <i>P. amabilis</i>	32
8. Persentase daun layu atau kuning setelah inokulasi <i>Fo</i> pada setiap perlakuan asam salisilat.....	38
9. Intensitas penyakit hasil uji ketahanan dan tingkat ketahanan angrek bulan pada setiap perlakuan asam salisilat.....	39
10. Komposisi Medium <i>Vacin and Went</i>	52
11. Jumlah Planlet Hidup dan Visualisasi Planlet Per-Minggu	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bunga Anggrek Bulan.....	8
2. Struktur Kimia Asam Salisilat 2-dimensi	15
3. Bagan Alir Penelitian	21
4. Pertumbuhan Planlet Anggrek Bulan Umur 3 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Asam Salisilat	29
5. Grafik indeks stomata daun planlet <i>P. amabilis</i> 21 hari setelah tanam pada berbagai konsentrasi AS	32
6. Penampang bagian bawah daun planlet <i>P. amabilis</i>	34
7. Isolasi monospora <i>F. oxysporum</i> dalam medium PDA.....	36
8. Hasil inokulasi <i>F. oxysporum</i> pada planlet anggrek bulan hari ke-15 setelah perlakuan.....	40
9. Sterilisasi Alat-Alat Penelitian.....	63
10. Penimbangan Bahan-Bahan Medium Seleksi VW	63
11. Pembuatan Medium Seleksi VW	64
12. Pembuatan Konsentrasi Asam Salisilat.....	64
13. Penambahan Asam Salisilat dalam Medium Seleksi	65
14. Penanaman Anggrek Bulan pada Medium VW dengan Berbagai Konsentrasi Asam Salisilat yang Berbeda	65
15. Medium VW yang Sudah Ditanami <i>P. amabilis</i>	66
16. Pengamatan Anggrek Bulan.....	66
17. Penimbangan Bahan-Bahan untuk Membuat Medium PDA	67
18. Pembuatan Medium PDA	67

19. Penuangan Medium PDA ke Cawan Petri	68
20. Alat untuk Menghitung Kerapatan Spora Jamur <i>Fo</i>	68
21. Inokulasi Jamur <i>Fo</i> ke Planlet Anggrek Bulan	69
22. Pengamatan Stomata Daun Anggrek Bulan	69

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dan memiliki kondisi lingkungan yang memenuhi syarat untuk menjamin kehidupan tanaman anggrek. Kondisi ini membuat Indonesia dikenal sebagai negara yang menyimpan kekayaan plasma nutfah anggrek paling besar di dunia. Jumlah tanaman anggrek di Indonesia sekitar 6.000 spesies dari sekitar 26.000 spesies tanaman anggrek di dunia (Heriswanto, 2009).

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan salah satu tanaman anggrek yang banyak diminati oleh berbagai kalangan karena keindahan bentuk dan warna bunganya (Purwati, 2012). Anggrek bulan juga merupakan salah satu bunga nasional Indonesia. Berdasarkan Keputusan Presiden Nomor 4/1993 Indonesia memiliki tiga bunga nasional yang ditetapkan yaitu bunga melati (*Jasminum sambac* L.) sebagai puspa bangsa, bunga padma raksasa (*Rafflesia arnoldii* R. Br.) sebagai puspa langka, dan bunga anggrek bulan (*P. amabilis*) sebagai puspa pesona (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

Anggrek bulan (*P. amabilis*) merupakan spesies pertama dalam marga *Phalaenopsis* yang diberi nama oleh seorang ahli Botani yaitu C. L. Blume. Anggrek bulan memiliki manfaat dan nilai ekonomi yang tinggi dan

dapat digunakan sebagai induk persilangan, plasma nutfah, bunga potong, dan penghias ruangan maupun taman sehingga anggrek bulan sangat populer di seluruh dunia (Widiarsih dan Dwimahyani, 2013).

Tanaman anggrek meningkat produksinya, maka akan semakin meningkatnya penyediaan bibit anggrek oleh karena itu perlu diperhatikan mengenai kualitas bibit anggrek dan metode perbanyakan yang digunakan. Metode perbanyakan konvensional umumnya sering kali tidak dapat memenuhi jumlah produksi tanaman anggrek sehingga perlu digunakan metode perbanyakan yang tepat, efisien, dan cepat seperti kultur jaringan. Kultur jaringan dapat menghasilkan bibit yang seragam dalam jumlah yang banyak (Nurchayani *et al.*, 2019).

Tanaman anggrek dalam pertumbuhannya, sering mendapatkan gangguan seperti timbulnya penyebab penyakit dari jamur, bakteri, ataupun virus yang menyerang bagian-bagian pada tubuh tanaman anggrek (Djatnika, 2012). Penyakit layu *Fusarium* yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* (*Fo*) merupakan salah satu kendala dalam budidaya tanaman anggrek bulan yang menyerang pada bagian akar yang terluka (Pandjaitan, 2005).

F. oxysporum adalah jamur patogen tular tanah yang penyebarannya melalui kontak dengan bagian tanaman yang terinfeksi. Penyakit dimulai ketika jamur menghasilkan hifa untuk menempel pada permukaan akar, menghasilkan enzim pengurai dinding sel untuk memecahkan dinding sel dan memungkinkan hifa tumbuh melalui korteks ke dalam jaringan vaskuler (floem dan xilem). Layu *Fusarium* terlihat setelah jamur patogen berkoloni dan menyebar ke bagian tanaman yang lain (Joshi, 2018).

Salah satu cara alternatif dalam pengendalian penyakit yang efektif dan aman terhadap lingkungan yaitu menggunakan varietas yang tahan atau

resisten (Nurchayani *et al.*, 2012). Pengembangan kultivar tahan *Fo* tersebut dapat dilakukan dengan mengkulturkan eksplan berupa organ atau jaringan pada medium yang mengandung asam salisilat dengan konsentrasi selektif atau yang dikenal dengan metode *in vitro* (Suryanti *et al.*, 2009).

Asam salisilat merupakan salah satu bentuk ketahanan tumbuhan secara kimia yang dapat mengatasi serangan patogen biotrof (patogen yang aktif pada jaringan hidup) dan virus. Pengaktifan gen ketahanan pada tanaman akibat adanya gen virulensi pada patogen (*vir gene*) merupakan proses pembentukan senyawa asam salisilat. Mekanisme ketahanan melalui jalur asam salisilat berhubungan dengan protein-protein yang terkait dengan pathogenesis (*pathogenesis-related proteins/ PR proteins*) seperti kitinase, peroksidase, β -glukanase dan PR-1 (Vlot, 2009; Larson, 2007).

Hasil penelitian Suryanti (2009), membuktikan bahwa bibit pisang hasil pengimbasan asam salisilat memiliki ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Noviantia (2017) membuktikan bahwa kisaran konsentrasi asam salisilat toleran untuk seleksi planlet anggrek bulan secara *in vitro* adalah 65-85 ppm. Nurchayani *et al.* (2012) menyatakan bahwa penekanan perkembangan jamur *F. oxysporum* f.sp. *vanillae* menggunakan seleksi asam fusarat pada konsentrasi 110 ppm lebih efektif dibandingkan dengan konsentrasi 90 ppm dan 100 ppm.

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

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk

1. Mengetahui konsentrasi asam salisilat efektif pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap Layu Fusarium.
2. Mengetahui indeks stomata pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap *F. oxysporum* hasil induksi asam salisilat.
3. Menentukan kriteria ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *F. oxysporum* hasil induksi asam salisilat.

1.3. Kerangka Pemikiran

Anggrek bulan (*P. amabilis*) merupakan salah satu tanaman anggrek yang banyak diminati oleh berbagai kalangan karena memiliki bentuk dan warna bunga yang indah, serta memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Tanaman anggrek dalam pertumbuhannya sering mendapatkan gangguan seperti penyakit layu Fusarium. Penyakit layu Fusarium disebabkan oleh jamur *F. oxysporum* (*Fo*) dengan cara menyerang akar dan bersifat mematikan bagi tanaman anggrek.

Upaya pengendalian yang paling berpotensi adalah penggunaan biji yang sehat dan tahan, sehingga dirasakan perlu untuk dilakukan upaya pengimbasan ketahanan tanaman. Pengimbasan ketahanan memerlukan *inducer* yang berfungsi sebagai penstimulir sinyal ketahanan tanaman.

Salah satu senyawa yang mampu berperan sebagai *inducer* adalah asam salisilat. Pengembangan kultivar tahan *Fo* tersebut dapat dilakukan dengan mengkulturkan eksplan berupa organ atau jaringan pada medium yang

mengandung asam salisilat dengan konsentrasi selektif atau yang dikenal dengan metode seleksi *in vitro* (Suryanti *et al.*, 2009).

Asam salisilat merupakan salah satu bentuk ketahanan tumbuhan secara kimia yang dapat mengatasi serangan patogen biotrof (patogen yang aktif pada jaringan hidup) dan virus. Pengaktifan gen ketahanan pada tanaman akibat adanya gen virulensi pada patogen (*vir gene*) merupakan proses pembentukan senyawa asam salisilat. Mekanisme ketahanan melalui jalur asam salisilat berhubungan dengan protein-protein yang terkait dengan patogenesis (*pathogenesis-related proteins/ PR proteins*) seperti kitinase, peroksidase, β -glukanase dan PR-1 (Vlot, 2009; Larson, 2007).

Penelitian ini dilakukan pengimbasan *P. amabilis* dengan menggunakan asam salisilat. *P. amabilis* yang tahan asam salisilat diharapkan tahan juga dengan penyakit layu Fusarium. Tumbuhan yang telah mengalami pembentukan asam salisilat, maka akan membentuk ketahanan alami, meliputi produksi fitoaleksin dan penambahan sel lignin, peningkatan aktivitas enzim peroksidase dan kandungan klorofil (Soesanto, 2008).

Berdasarkan kerangka pikir di atas, maka dilakukan penelitian tentang seleksi *in vitro* planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* hasil pengimbasan asam salisilat.

1.4. Hipotesis

Hipotesis penelitian sebagai berikut.

1. Hipotesis pertama

H_0 = Tidak terdapat konsentrasi asam salisilat efektif pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap Layu Fusarium.

H_1 = Terdapat konsentrasi asam salisilat efektif pada planlet

P. amabilis yang toleran terhadap Layu Fusarium.

2. Hipotesis kedua

H_0 = Adanya penurunan indeks stomata pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap *F. oxysporum* hasil induksi asam salisilat.

H_1 = Adanya peningkatan indeks stomata pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap *F. oxysporum* hasil induksi asam salisilat.

3. Hipotesis ketiga

H_0 = Tidak adanya kriteria ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *F. oxysporum* hasil induksi asam salisilat.

H_1 = Adanya kriteria ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *F. oxysporum* hasil induksi asam salisilat.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume)

2.1.1. Klasifikasi

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

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

2.1.2. Morfologi Anggrek Bulan

Morfologi anggrek bulan (*P. amabilis*) sama seperti jenis anggrek lainnya yang terdiri dari bunga, daun, akar, dan batang. Bunga anggrek bulan (*P. amabilis*) tersusun majemuk yang muncul dari ketiak daun, simetri bilateral, berwarna putih bersih dengan sedikit variasi kuning dan bintik kemerahan di bibir bunga. Satu helai mahkota bunga termodifikasi membentuk semacam lidah sebagai pelindung aksesoris yang berfungsi membawa benang sari dan putik. Benang sari mempunyai tangkai

sangat pendek dengan kepala sari berbentuk cakram kecil dan terlindungi oleh struktur kecil yang harus dibuka oleh serangga penyerbuk dan membawa serbuk sari ke putik. Anggrek bulan memiliki 2 macam akar yaitu akar lekat dan akar udara. Akar lekat berfungsi untuk melekat, menahan keseluruhan tanaman agar tetap berada ditempatnya dan menyerap air serta nutrisi. Akar udara berfungsi untuk menyerap nutrisi dalam bentuk uap air dan gas (Binawati, 2012). Gambar bunga anggrek bulan disajikan pada **Gambar 1.**



Gambar 1. Bunga Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis*)
 Keterangan: 1 = sepal dorsale, 2 = sepal lateralia,
 3 = petal latelaria, 4 = labellum, 5 = column
 Sumber: Saputra (2012)

Daun anggrek bulan berwarna hijau, daun tebal, berdaging, berbentuk lonjong dengan bagian ujung agak melebar dan tumpul. Tulang daun berbentuk sejajar dengan helaian daun. Buah anggrek merupakan buah capsular (seperti butiran) yang berbelah 6 dengan jumlah biji yang banyak. Biji anggrek tidak memiliki jaringan penyimpan cadangan makanan seperti biji tanaman pada umumnya atau yang disebut dengan endosperm (Hatni, 2017).

Batang anggrek bulan berukuran 30-40 cm pada satu poros tumbuh atau bersifat monopodial yakni tumbuh meninggi atau secara vertikal (Yusnita,

2012). Sisi batang diantara ketiak daun adalah tempat bunga keluar. Ukuran batang anggrek bulan sangat pendek, hampir tidak terlihat, tidak menghasilkan umbi semu (pseudobulb) dan rizoma. Pada bagian batang terdapat akar-akar udara yang berfungsi untuk mencari makan dan merekatkan diri pada benda-benda di sekitar agar batang tetap tegak (Utami *et al.*, 2007).

2.1.3. Sejarah Mengenai Anggrek Bulan

Tanaman anggrek bulan ditemukan pertama kali oleh Rumphius yang diberi nama *Angraecum album majus* pada tahun 1750. Dua tahun kemudian, Osbeck menemukannya di Nusakambangan lalu dikirim ke Linnaeus dan diberi nama *Epidendrum amabile* dalam edisi pertama Species Plantarumnya, yang diterbitkan pada tahun 1753. Tahun 1825 Dr. Karl Ludwig Blume menetapkannya dalam marga baru yaitu *Phalaenopsis* (American Orchid Society, 2021).

Nama *Phalaenopsis* diambil dari bahasa Yunani Phalaina yang berarti “Ngenget atau Kupu – Kupu” dan Opsi yang berarti “Berbentuk atau Menyerupai” dan dalam Bahasa Inggris dikenal dengan *Moth Orchid*. *P. amabilis* dikenal sebagai anggrek bulan di Indonesia dan ditetapkan menjadi salah satu dari tiga bunga nasional Indonesia yang disebut sebagai puspa pesona. Sesuai dengan ketetapan Presiden nomor 4/1993 (Puspitaningtyas, 2010).

Penyebaran anggrek bulan berada di daratan Asia Tenggara dari pegunungan Himalaya ke Filipina (Palawan), Indonesia (Sumatra, Kalimantan, Jawa), Papua Nugini, hingga ke bagian utara Australia (Queensland). Penyebaran pada geografis yang berbeda menyebabkan munculnya variasi karakter. Variasi karakter berupa perbedaan pigmen warna pada bagian bibir bunga

yang umum berwarna kuning dan merah, spot merah pada bagian keping sisi bibir (lateral lobe) dan bentuk bunga (Alrich dan Higgins, 2014).

2.1.4. Syarat Tumbuh Anggrek Bulan

Anggrek bulan tumbuh di daerah tropis, baik dataran rendah maupun pegunungan dengan ketinggian 50-600 meter dan tumbuh secara maksimal pada ketinggian 500-1000 meter. Anggrek bulan hidup menumpang pada batang atau cabang tanaman lain, baik yang masih hidup maupun sudah mati (Damayanti, 2011).

Anggrek membutuhkan cahaya matahari sebanyak 10-40 % artinya anggrek bulan menyukai tempat yang teduh. Anggrek bulan tidak membutuhkan air dalam jumlah yang banyak, namun juga tidak terlalu sedikit. Kebutuhan air harus disesuaikan dengan jenis anggrek, ukuran tanaman, jenis media, jenis pot, suhu udara, kelembapan udara, dan kecepatan angin agar tidak merugikan tanaman anggrek. Anggrek bulan tumbuh dengan baik dengan suhu udara yang sejuk pada kelembapan antara 60-70 % dan suhu ideal berkisar antara 19-27 °C. Suhu udara yang sejuk dapat mengurangi tingginya penguapan (Damayanti, 2011).

2.2. Penyakit Layu Fusarium

Pada tanaman anggrek, *F. oxysporum* akan menyebabkan penyakit layu yang menjadi kendala dalam memproduksi tanaman *P. amabilis*. Penyakit layu Fusarium pada anggrek akan menunjukkan gejala berupa daun dan batang menguning. Pada umumnya *F. oxysporum* menyebabkan tanaman menjadi busuk dan akhirnya mati. Penyakit layu Fusarium merupakan penyakit yang disebabkan oleh jamur *F. oxysporum* yang menjadi kendala produksi tanaman anggrek *P. amabilis*. Layu Fusarium pada anggrek dapat menunjukkan gejala

menguningnya daun dan batang. Umumnya *F. oxysporum* menyebabkan tanaman membusuk dan akhirnya mati (Noviantia, 2017). Menurut Chung (2012), gejala lain yang ditunjukkan dari penyakit layu Fusarium yaitu layu pada siang hari, pertumbuhan kerdil, dan daun klorosis sedangkan gejala internal jaringan pembuluh yang terkena menjadi berwarna kecokelatan atau hitam.

Klasifikasi jamur *F. oxysporum* menurut Hibbett *et al.* (2007) sebagai berikut.

Kerajaan : Fungi
Filum : Ascomycota
Kelas : Sordariomycetes
Bangsa : Hypocreales
Suku : Nectriaceae
Marga : *Fusarium*
Jenis : *Fusarium oxysporum*

Secara ekonomi marga *Fusarium* adalah salah satu genus jamur patogen penting dalam pertanian holtikultura di dunia. *Fusarium* menyebabkan penyakit layu pada berbagai tanaman. Banyak jenis *Fusarium* yang berada dalam tanah bertahan sebagai klamidospora atau sebagai hifa pada sisa tanaman dan bahan organik lain. *F. oxysporum* memiliki klamidospora yang melimpah (Saragih dan Silalahi, 2006)

Klamidospora merupakan konidia pada fase istirahat yang ber dinding tebal, dijumpai pada hifa maupun makrokonidia yang sifatnya persisten atau dapat bertahan dalam tanah selama bertahun-tahun. Dalam hal ini semakin banyak klamidospora maka *F. oxysporum* sangat sulit untuk dimusnahkan dan lebih ganas dari isolat-isolat lainnya (Saragih dan Silalahi, 2006).

Tulang-tulang daun pucat terutama daun bagian atas yang diikuti dengan merunduknya tangkai daun yang menyebabkan daun yang lebih tua menggulung

(epinasti) sampai tanaman menjadi layu keseluruhan. Ini merupakan gejala awal dari *F. oxysporum*. Tanaman yang masih sangat muda penyakit ini dapat menyebabkan tanaman mati secara mendadak, karena pada pangkal batang terjadi kerusakan. Tanaman dewasa yang terinfeksi masih bisa bertahan namun buah yang dihasilkan sangat sedikit dan kecil-kecil (Semangun, 2000).

Penyebaran jamur *Fusarium* sp. dipengaruhi oleh keadaan pH yaitu dari kisaran keasaman tanah yang memungkinkan jamur *Fusarium* sp. tumbuh dan melakukan kegiatannya. Kondisi suhu di dalam tanah erat kaitannya dengan suhu udara di atas permukaan tanah. Suhu udara yang rendah akan menyebabkan suhu tanah yang rendah, begitu juga sebaliknya. Suhu selain berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman juga berpengaruh terhadap perkembangan penyakit. Jamur *Fusarium* sp. dapat hidup pada suhu tanah antara 10-24 °C, meskipun hal ini tergantung pula pada isolat jamurnya (Soesanto, 2002).

Patogen penyebab layu *Fusarium* ini cepat berkembang pada tanah yang terlalu basah atau becek, kelembaban udara yang tinggi, dan pH tanah yang rendah (Tjahjadi, 1989). Jamur ini sangat cocok pada tanah-tanah asam yang mempunyai kisaran pH 4,5-6,0 (Sastrahidayat, 1989). Menurut Semangun (1996) serangan jamur lebih ditentukan oleh suhu yang kurang menguntungkan tanaman inang.

2.3. Ketahanan Terimbas (*Induced Resistance*)

Salah satu bentuk ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen dengan mengaktifkan ketahanan alami tanaman (misalnya produksi fitoaleksin dan penambahan sel lignin, peningkatan aktivitas peroksidase dan kandungan klorofil) disebut ketahanan terimbas. Dalam menghambat pertumbuhan patogen di dalam tanaman, sel atau jaringan mampu menghasilkan senyawa toksin terhadap patogen melalui reaksi biokimia (Agrios, 2005).

Molekul yang mampu menstimulasi dan mengaktifkan respon ketahanan tanaman merupakan agen pengimbas, disebut juga elisitor atau induser. Berdasarkan kemampuannya untuk memacu respon ketahanan, elisitor dibagi menjadi dua kelompok, yaitu elisitor yang bersifat umum (*general elicitors*) dan spesifik (*race specific elicitors*). Elisitor umum mampu memicu respon ketahanan pada tanaman inang maupun bukan inang (Nürnberg 1999, Boller and Felix 2009).

Elisitor spesifik hanya mengimbas ketahanan tanaman tertentu (Angelova *et al.*, 2006). Sebagian besar elisitor bersifat umum karena mekanisme ketahanan tanaman pada umumnya melalui mekanisme yang sama, diantaranya melalui penghalang yang bersifat fisik seperti penebalan dinding sel melalui lignifikasi. Salah satu contoh elisitor spesifik adalah TMV dan Avr gen yang hanya mengimbas ketahanan pada tanaman tomat, dan Syringolids- acyl glycosides hanya mengimbas ketahanan kedelai (Lancioni, 2008).

Aktivitas patogen pada tanaman yang terinfeksi dapat dibatasi sehingga patogen tidak dapat berkembang dan menyebabkan kerusakan berat, hal ini merupakan suatu bentuk ketahanan tanaman yang terinfeksi patogen (Agrios, 2005). Ketahanan kimiawi ditunjukkan dengan terbentuknya senyawa kimia yang mampu mencegah pertumbuhan dan perkembangan patogen, yang dapat berupa PR protein (*Pathogenesis-Related Proteins*), metabolit sekunder berupa senyawa alkaloida, fenol, flavonida, glikosida, fitoaleksin, dan sebagainya (Chairul, 2003). Umumnya, tanaman tahan mengandung senyawa kimia tersebut dengan konsentrasi lebih tinggi daripada tanaman tidak tahan (Mansfield, 2000; Agrios, 2005).

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 molekuler tumbuhan. Pengenalan molekul patogen oleh protein gen resisten memicu jalur transduksi sinyal yang menyebabkan aktivasi respons-respons pertahanan, yang mencakup respons hipersensitif.

2. Respons hipersensitif

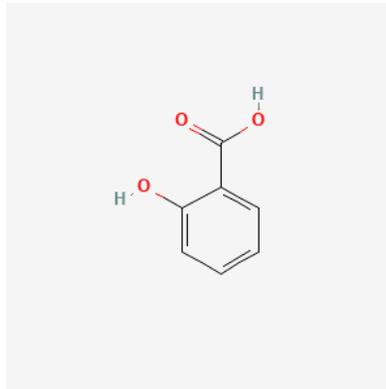
Respons hipersensitif merupakan respons pertahanan yang menyebabkan kematian sel dan jaringan di dekat infeksi patogen untuk membatasi penyebaran patogen. Respons hipersensitif juga menginduksi produksi PR-protein, salah satunya adalah enzim peroksidase yang berperan penting dalam proses lignifikasi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

3. Resistensi sistemik yang diperoleh

Sebelum sel yang terinfeksi mati, sel-sel 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 resistensi sistemik yang diperoleh teraktivasi. Asam salisilat dalam hal ini berperan menginfeksi jalur transduksi sinyal untuk menginduksi produksi protein PR dan resistensi terhadap serangan patogen.

2.4. Asam Salisilat

Asam salisilat adalah asam beta hidroksi, yang ada sebagai senyawa alami pada tumbuhan. Memiliki aktivitas langsung sebagai agen anti-inflamasi dan bertindak sebagai agen antibakteri topikal karena kemampuannya untuk mempromosikan pengelupasan kulit. Asam salisilat mempunyai rumus molekul $C_7H_6O_3$ atau HOC_6H_4COOH , berbentuk kristal berwarna putih hingga coklat muda, tidak berbau, berat molekul sebesar 138,12 g/mol, titik lebur sebesar $315^{\circ}F$, dan memiliki kelarutan sebesar 2240 mg/L pada suhu $25^{\circ}C$ (Pubchem, 2021). Struktur asam salisilat disajikan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Struktur kimia asam salisilat 2-dimensi (Pubchem, 2021)

Asam salisilat berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, yang terdiri dari proses fisiologis (perkecambahan, pematangan buah, pembungaan, fotosintesis, konduktansi stomata, pengambilan dan transportasi, biogenesis kloroplas, interaksi dengan organisme lain, dan perlindungan tanaman dari beberapa stres (tekanan) lingkungan (Ahanger *et al.*, 2014). Dalam meningkatkan pertumbuhan dan proses metabolik tanaman terutama pada kondisi stress dapat dilakukan melalui aplikasi asam salisilat dengan konsentrasi optimal pada tanaman (Singh *et al.*, 2010).

Asam salisilat juga dilaporkan dapat digunakan untuk pengendalian patogen tanaman. Pemanfaatan asam salisilat sebagai sinyal transduksi dalam jaringan pertahanan tanaman telah diamati dan dikarakterisasi pada sejumlah gen yang bekerja dalam biosintesis asam salisilat. Rangkaian dari proses ini meliputi konjugasi, akumulasi, dan crosstalk hormon tanaman seperti asam jasmonat, etilen, asam absisi, auksin, giberelin, sitokinin, dan brassinosteroid (Leiwakabesy *et al.*, 2017).

2.5. Kultur Jaringan

Kultur jaringan (*Tissue Culture*) merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman secara vegetatif dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti

daun, mata tunas, sel, protoplas dan menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh (Ahloowalia *et al.*, 2004).

Teknik ini dilakukan dalam wadah tertutup yang tembus cahaya dan aseptik sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap (Karyanti *et al.*, 2018; Prakash S., Hoque M.I., 2004).

Kultur jaringan sering disebut juga dengan kultur *in vitro*. Teori totipotensi sel oleh Schawann dan Scheleiden merupakan teori yang mendasari teknik kultur jaringan. Setiap sel tanaman dilengkapi dengan informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap sehingga dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh pada kondisi lingkungan yang sesuai. Oleh karena itu, semua organisme baru yang berhasil ditumbuhkan akan memiliki sifat yang sama persis dengan induknya (Yusnita, 2015).

Kelebihan dari teknik kultur jaringan antara lain pengadaan bibit tidak tergantung musim, bibit dapat diproduksi dalam jumlah banyak dengan waktu yang relatif lebih cepat (dari satu mata tunas yang sudah respon dalam 1 tahun dapat dihasilkan minimal 10.000 planlet/bibit), bibit yang dihasilkan seragam dan bebas penyakit (kultur meristem, biaya pengangkutan bibit relatif lebih murah dan mudah, dalam proses pembibitan bebas dari gangguan hama penyakit, dapat diperoleh sifat-sifat yang dikehendaki (Yusnita, 2015).

Pangestika (2015) menyebutkan bahwa keberhasilan kultur jaringan tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya sterilisasi, pemilihan bahan eksplan, faktor lingkungan seperti pH, cahaya dan temperatur, serta kandungan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) dalam medium kultur.

2.6. Stomata

Daun memiliki struktur stomata (mulut daun) yang berfungsi untuk pertukaran gas O₂, CO₂, dan uap air dari daun ke alam sekitar dan sebaliknya (Sumardi *et al.*, 2010). Fungsi stomata tersebut sangat penting dalam proses fotosintesis, respirasi dan transpirasi. Stomata terdapat pada sisi atas atau bawah daun, atau hanya pada permukaan bawah saja. Jumlah stomata per mm² berbeda pada setiap tumbuhan (Mulyani, 2006).

Jumlah stomata mempengaruhi tingkat kerapatan stomata yaitu bila jumlahnya banyak maka tingkat kerapatan stomata juga tinggi. Tingkat kerapatan stomata berbeda pada setiap jenis tumbuhan yang dipengaruhi oleh lingkungan seperti intensitas cahaya, ketersediaan air, suhu, dan konsentrasi CO₂. Misalnya, jika semakin tinggi intensitas cahaya, kerapatan stomata pada permukaan daun juga semakin meningkat (Meriko dan Abizar, 2017).

Posisi stomata antara daun yang satu dengan daun yang lainnya tidak sama. Hal ini disebabkan karena perbedaan luas permukaan daun pada tanaman, penutupan stomata, jumlah dan ukuran stomata, perbedaan bentuk stomata, jumlah daun, dan kerapatan stomata. Faktor eksternal yang dapat mempengaruhi stomata pada tumbuhan didominasi oleh radiasi matahari, suhu dan temperatur (Putriani, 2019).

Banyaknya jumlah daun maka makin banyak jumlah stomata sehingga makin besar transpirasinya. Banyaknya jumlah stomata maka tanaman mampu menyerap CO₂ dan menghasilkan O₂. Distribusi stomata berhubungan dengan kecepatan dan intensitas transpirasi pada daun, misalnya letak satu sama lain dengan jarak tertentu dalam batas tertentu, maka makin banyak porinya makin cepat penguapan (Hariyanti, 2010).

III. METODE PERCOBAAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2021 sampai dengan bulan Februari 2022 di Ruang Kultur *In Vitro* Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, inkubator, *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, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik *Ohaus*, tisu, ose jamur, *hotplate*, vortex, jarum suntik, dan *object glass*.

Bahan yang digunakan adalah planlet *P. amabilis* steril dalam botol kultur berumur 4 bulan dan inokulum *F. oxysporum* yang diperoleh dari koleksi pribadi Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si, asam salisilat (AS) yang diproduksi oleh Darmstadt Germany, alkohol 70%, akuades, sukrosa, *Plant Preservative Mixture* (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl)

serta bahan kimia medium VW (*Vacin & Went*) padat yang komposisinya disajikan dalam **Lampiran 1**.

3.3. Rancangan Percobaan

Rancangan Penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor konsentrasi asam salisilat yang terdiri atas 5 taraf yaitu 0 ppm, 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm, dan 115 ppm. Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 1 eksplan *P. amabilis* dalam setiap botol kultur. Percobaan notasi perlakuan dan ulangan disajikan dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Notasi perlakuan dan ulangan

Ulangan	Konsentrasi asam salisilat (ppm)				
	0	85	95	105	115
1	K ₁ U ₁	K ₂ U ₁	K ₃ U ₁	K ₄ U ₁	K ₅ U ₁
2	K ₁ U ₂	K ₂ U ₂	K ₃ U ₂	K ₄ U ₂	K ₅ U ₂
3	K ₁ U ₃	K ₂ U ₃	K ₃ U ₃	K ₄ U ₃	K ₅ U ₃
4	K ₁ U ₄	K ₂ U ₄	K ₃ U ₄	K ₄ U ₄	K ₅ U ₄
5	K ₁ U ₅	K ₂ U ₅	K ₃ U ₅	K ₄ U ₅	K ₅ U ₅

Keterangan :

- K₁ : Konsentrasi 0 ppm (kontrol)
- K₂ : Konsentrasi 85 ppm
- K₃ : Konsentrasi 95 ppm
- K₄ : Konsentrasi 105 ppm
- K₅ : Konsentrasi 115 ppm
- U₁-U₅ : Ulangan 1-ulangan 5

Tata letak percobaan setelah pengacakan disajikan pada **Tabel 2**.

K ₂ U ₁	K ₃ U ₂	K ₅ U ₂	K ₄ U ₄	K ₁ U ₂
K ₄ U ₁	K ₁ U ₁	K ₃ U ₅	K ₂ U ₃	K ₅ U ₄
K ₃ U ₄	K ₂ U ₂	K ₅ U ₅	K ₁ U ₃	K ₄ U ₅
K ₁ U ₅	K ₅ U ₃	K ₂ U ₄	K ₄ U ₂	K ₃ U ₃
K ₄ U ₃	K ₃ U ₁	K ₁ U ₄	K ₅ U ₁	K ₂ U ₅

Keterangan :

K₁ : Konsentrasi 0 ppm (kontrol)

K₂ : Konsentrasi 85 ppm

K₃ : Konsentrasi 95 ppm

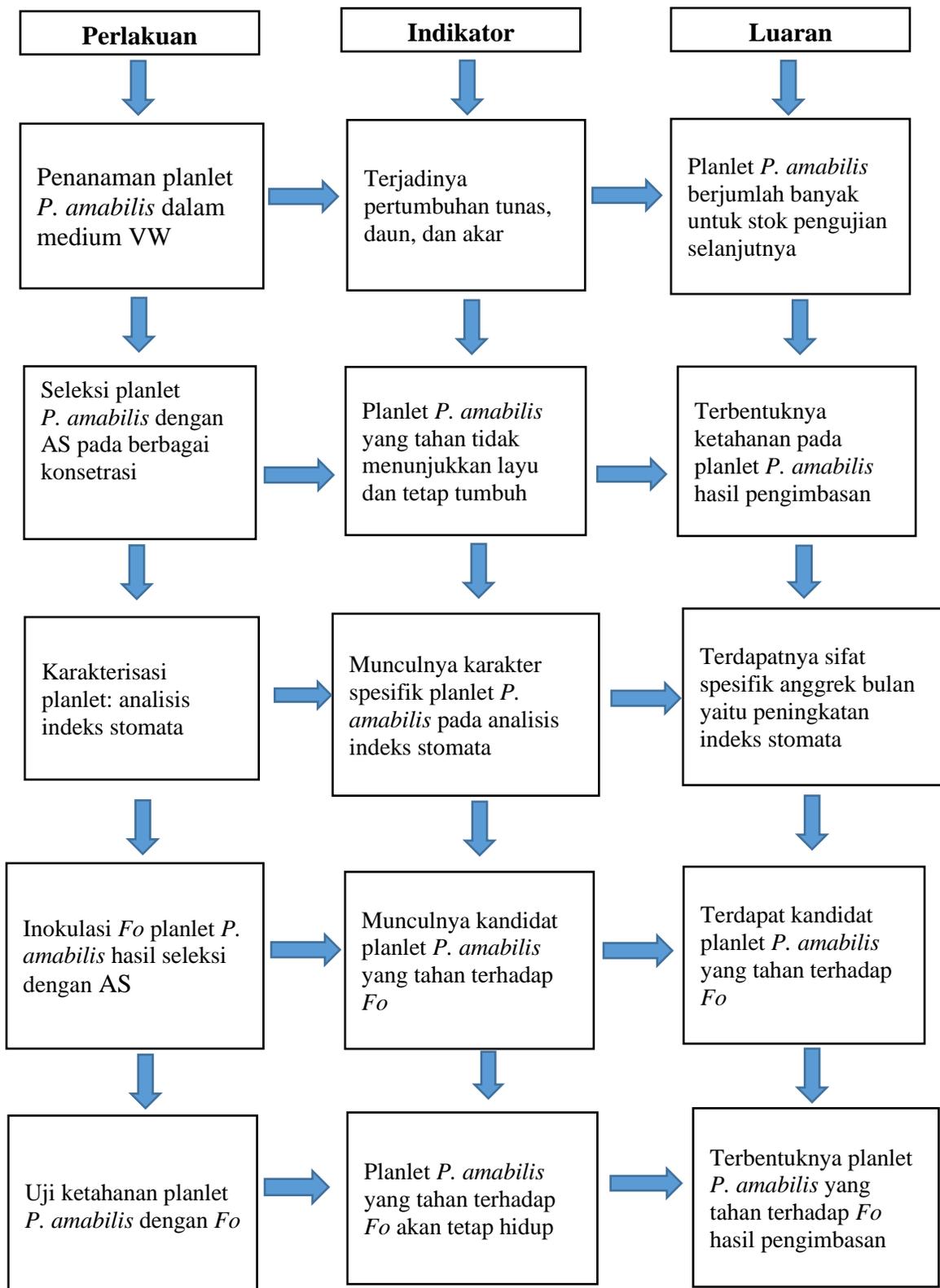
K₄ : Konsentrasi 105 ppm

K₅ : Konsentrasi 115 ppm

U₁-U₅ : Ulangan 1-ulangan 5

3.4. Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu 1) Penanaman planlet *P. amabilis* ke dalam medium VW; 2) Seleksi planlet *P. amabilis* dengan AS pada berbagai konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi asam salisilat secara *in vitro* dengan terbentuknya ketahanan planlet *P. amabilis* yang telah diimbasi AS; 3) Analisis karakter ekspresi yang spesifik pada planlet *P. amabilis* yaitu indeks stomata; 4) Inokulasi jamur *Fo* ke dalam planlet *P. amabilis* hasil seleksi dengan asam salisilat sehingga terdapat kandidat planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap *Fo*; 5) Uji ketahanan planlet *P. amabilis* terhadap *Fo* dengan mengetahui persentase penyakit yang kuat sehingga mendapatkan planlet *P. amabilis* yang tahan terhadap *Fo* hasil pengimbasan dengan AS. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti yang tercantum pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Bagan Alir Penelitian

3.5. Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa langkah sebagai berikut

3.5.1. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan alat-alat disetting set yang meliputi (*scalpel*, mata *scalpel*, pinset) dicuci dengan menggunakan detergen kemudian dibilas dengan air mengalir lalu disterilisasi dengan autoklaf. Alat-alat dari bahan gelas dibungkus dengan plastik sedangkan alat-alat logam dan cawan petri dibungkus dengan kertas hvs kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.

3.5.2. Persiapan Medium Tanam

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vacint & Went* (VW) padat. Pembuatan media 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 diangkat, kemudian ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Media sterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121 °C selama 15 menit (Nurchayani, 2013).

3.5.3. Persiapan Medium Seleksi

Medium *Vacint & Went* ditambah asam salisilat dengan konsentrasi 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm, 115 ppm serta kontrol. Sebelum digunakan,

asam salisilat yang telah dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu disaring menggunakan *syringe filter* yang mempunyai diameter 0,45 µm sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22 µm satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril didalam LAF *Cabinet*. Selanjutnya AS ditambahkan ke dalam medium VW. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) untuk memastikan bahwa AS telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan (Nurcahyani, 2013).

3.5.4. Penanaman Planlet Dalam Medium Seleksi Asam Salisilat

Eksplan yang digunakan berupa planlet steril. Planlet-planlet dari botol kultur dikeluarkan dengan *scalpel* steril dan satu-persatu diletakkan di atas cawan petri berdiameter 10 cm, kemudian planlet dipilah satu-satu, setelah itu ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi media perlakuan yang telah ditentukan. Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 1 eksplan *P. amabilis* dalam setiap botol kultur.

3.5.5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 3 minggu setelah penanaman untuk mengetahui konsentrasi AS yang toleran untuk seleksi planlet *P. amabilis* secara *in vitro* dengan parameter sabagai berikut.

1. Presentase Jumlah Planlet Hidup

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

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

2. Visualisasi Planlet

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

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

(Nurchayani *et al.*, 2014).

3.5.6. Indeks Stomata

Pembuatan preparat untuk pengamatan indeks stomata pada daun planlet *P. amabilis* dengan cara permukaan bawah daun diolesi cat kuku transparan lalu dibiarkan mengering. Kemudian cat kuku dikelupas menggunakan selotip sehingga daun tampak transparan dan diletakkan di atas obyek glass. Preparat di amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Preparat di amati pada daerah pandang yang berlainan. Indeks stomata dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Mahesha, 2014):

$$\frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{Sel epidermis + jumlah stomata}} \times 100 \%$$

3.5.7. Pengujian Planlet Anggrek Bulan Terhadap *Fusarium oxysporum*

Setelah dilakukan pengamatan selama 3 minggu selanjutnya dilakukan inokulasi planlet *P. amabilis*.

1. Inokulasi *Fo* Pada Planlet Anggrek Bulan

Inokulasi monospora dilakukan menurut teknik Hadisutrisno (1995) sebagai berikut. Inokulasi *Fo* dilakukan secara langsung pada planlet anggrek bulan dalam botol kultur. Mikrokonidium

jamur *Fo* dengan kerapatan spora $1,7 \times 10^4$ per mL, sebanyak 1-2 tetes yang disuntikkan pada setiap planlet uji dan dilakukan metode pelukaan akar menggunakan jarum suntik. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar (25°C) selama 24 jam. Pengamatan dilakukan selama 2 minggu dengan mengamati dan menghitung jumlah daun yang menunjukkan gejala layu dengan indeks kelayuan menurut He *et al.*, (2002) seperti di sajikan dalam **Tabel 3.**

Tabel 3. Indeks kelayuan menurut He *et al.* (2002)

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

Intensitas Penyakit (IP) dihitung dengan rumus:

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

Keterangan :

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

Tingkatan ketahanan tanaman ditentukan berdasarkan skoring dengan mengacu pada ketentuan Wibowo (2002) seperti ditunjukkan dalam **Tabel 4.** sebagai berikut.

Tabel 4. Tingkat Ketahanan Tanaman

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

Keterangan : IP = Intensitas Penyakit

3.5.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet *P. amabilis* selama seleksi dengan asam salisilat yang tahan terhadap *Fo* berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan didukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Uji Levene pada taraf nyata 5 % dan dilanjutkan dengan Uji Anova One Way pada taraf 5 %, jika data menunjukkan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5 %.

V. KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. Konsentrasi asam salisilat yang paling efektif pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap Layu Fusarium yaitu 115 ppm.
2. Karakter ekspresi spesifik pada planlet *P. amabilis* yang diimbasi asam salisilat yaitu semakin meningkatnya konsentrasi asam salisilat maka semakin meningkat nilai indeks stomata daun *P. amabilis*.
3. Berdasarkan data intensitas penyakit dan kategori ketahanannya dapat diketahui bahwa perlakuan AS konsentrasi 105 dan 115 ppm dapat menaikkan kriteria dari moderat menjadi tahan dengan intensitas penyakit kurang dari 25 %.

B. Saran

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

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*, 5th ed. Elsevier Academic Press. California.
- Ahanger, M. A., Tyagi, S. R., dan Ahmad, P. 2014. Drought Tolerance: Role of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients. *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in plants under Changing Environment*. Vol. 1: 35-38.
- Ahloowalia, B. S., Prakash, J., Savangikar, V. A., dan Savangikar, C. 2004. Plant Tissue Culture. *Low Cost Options for Tissue Culture Technology in Developing Countries*. 3-10.
- Alrich, P. dan Higgins, W. 2014. *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume. *Phalaenopsis Fourth Quarter*. Vol. 24: 18-21.
- American Orchid Society. 2021. *Phalaenopsis, The Genus - Beginner's Handbook, XXIII*. <https://www.aos.org/orchids/additional-resources/phalaenopsis-the-genus.aspx>. Diakses pada 1 November 2021 pukul 10. 27 WIB.
- Amilah dan Astuti, Y. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada media *Vacin and Went* (VW) terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume]. *Buletin Penelitian*. No. 09.
- Andari, G., Nurcahyani, E., dan Agustrina, R. 2016. Analisis Lignin dan Indeks Stomata Anggrek Tanah (*Spathoglottis plicata*) Hasil *Induced Resistance* terhadap *Fusarium oxysporum* secara *In Vitro*. Prosiding SEMIRATA Bidang MIPA. ISBN: 978-602-71798-1-3.

- Angelova, Z., Georgiev S., and Roos, W. 2006. Elicitation of Plants. *Biotechnol and Biotechnol. Eq.* Vol. 20(2): 72-83.
- Binawati, D. K. 2012. Pengaruh Media Tanam terhadap Anggrek Bulan (*Phalaenopsis* sp. L.) Aklimatisasi dalam Plenty. *Jurnal Wahana.* Vol. 58(1): 60-68.
- Boller, T. and Felix, G. 2009. A Renaissance of Elicitors: Perception of Microbe-Associated Molecular Patterns and Danger Signals by Pattern-Recognition Receptors. *Annual Rev. of Plant Biology.* Vol. 60: 379-406.
- Campbell, N. A and Reece J. B., and Cain, M. L. 2008. *Biologi Jilid 2* (Terjemahan) *Edisi Kedelapan.* Erlangga. Jakarta.
- Chairul. 2003. Identifikasi secara Cepat Bahan Bioaktif pada Tumbuhan di Lapangan. *Berita Biologi.* Vol. 6(4): 621-628.
- Chung G. F. 2012. Effect of Pests and Diseases on Oil Palm Yield. *Palm Oil.* 163-210.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* Colombia University Press. New York.
- Damayanti, E. 2011. Untung Besar Budi Daya Tanaman Anggrek. *Aksara Publisher.* Yogyakarta.
- Djatnika, I. 2012. Seleksi Bakteri Antagonis untuk Mengendalikan Layu Fusarium pada Tanaman *Phalaenopsis*. *Jurnal Hortikultura.* Vol. 22(3): 276-284.
- Gabriel, B. P. dan Riyatno. 1989. *Metharhizium anisopliae (Mech) Sor: Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya.* Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian. Jakarta.
- Hadisutrisno, B. 1995. Pengendalian Hayati Penyakit Busuk Batang Vanili. *Buletin Azolla.* Vol. 2: 15-21.
- Hammerscgmidth, R. dan Becker, A. S. 1999. The Role of Salicylic Acid in Disease Resistance. *Dalam Agrawal, A. A., S. Tuzun, and E. Bent. Induced Plant Defences Against Pathogens and Herbivores.* APS Press Minnesota. p. 37-45.

- Haruningtyas, N. 2011. Respon Pertumbuhan dan Anatomi Jaringan Daun pada *Asytasia gangetica*, *Impatiens balsamina*, dan *Mirabilis jalapa* akibat Polusi Udara. *Skripsi*. Departemen Biologi FMIPA IPB. Bogor.
- Haryanti, S. 2010. Jumlah dan Distribusi Stomata pada Daun Beberapa Spesies Tanaman Dikotil dan Monokotil. *Jurnal Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. 18(2).
- Hatni, F. 2017. Karakterisasi Planlet Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] Hasil Inokulasi *Rhizoctonia* sp. dan Induksi Asam Salisilat secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- He, C. Y., Hsiang, T., and Wolyn, D. J. 2002. Induction of Systemic Disease Resistance and Pathogen Defence Responses in *Asparagus officinalis* Inoculated with Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology*. Vol. 51: 225-230.
- Heriswanto, K. 2009. *Berkibarlah Anggrek-Anggrek Indonesia*. BBI Dinas Kelautan dan Pertanian Propinsi DKI Jakarta. Jakarta.
- Herlinda, S., Utama, M. D., Pujiastuti, Y., dan Suwandi. 2006. Kerapatan dan Viabilitas Spora *Beauveria Bassiana* (Bals.) akibat Sub Kultur dan Pengayaan Media, serta Virulensinya terhadap Larva *Plutella* (Linn.). *Jurnal HPT Tropika*. Vol. 6(2): 70-78.
- Hibbett, D. S., Binder M., Bischoff, J. F., Blackwell M., Cannon P. F., and Eriksson O. E. 2007. A Higher-Level Phylogenetic Classification of The Fungi. *Mycol Res*. Vol. 111: 509-47.
- Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. ITB. Bandung.
- Joshi, R. 2018. A Review of *Fusarium oxysporum* on its Plant Interaction and Industrial Use. *Journal of Medicinal Plants Studies*. Vol. 6(3): 112-115
- Karyanti, K., Kristianto, Y. G., Khairiyah, H., Novita, L., Sukarnih, T., Rudiyan, Y., dan Sofia, D. Y. 2018. Pengaruh Wadah Kultur dan Konsentrasi Sumber Karbon pada Perbanyak Kentang Atlantik secara *In Vitro*. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia (JBBI)*. Vol. 5(2): 177.

- Khan, W., Prithiviraj B., and Smith D. L. 2003. Photosynthetic Response of Corn and Soybean to Foliar Application of Salicylates. *Journal Plant Physiology*. 160: 485-492.
- Khaterine dan Kasiamdari R. S. 2015. Identifikasi dan Uji Patogenitas *Fusarium* sp. Penyebab Penyakit Busuk Pucuk pada Tanaman Anggrek Bulan (*Phalaenopsis* sp.). *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*. Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Lancioni, P. 2008. Studies on Biotik and Abiotik Elicitorsinducing Defense Responses in Tomato. *Thesis*. Universitas di Bologna.
- Larson, R. L. B., and Jacobsen, B. J. 2007. Biocontrol Elicited Systemic Resistance in Sugarbeet is Salicylic Acid Independent and NPR1 Dependent. *J. Sugarbeet Res.* Vol. 44:1-2.
- Leiwakabesy, C., Sinaga, M.S., Mutaqin, K. H., Trikoesoemanigtyas T., dan Giyanto G. 2017. Asam Salisilat sebagai Penginduksi Ketahanan Tanaman Padi terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Vol. 13(6).
- Lestari, E. G. 2006. Hubungan antara Kerapatan Stomata dengan Ketahanan Kekeringan pada Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti, dan IR 64. *Biodiversitas*. Vol. 7(1): 44-48.
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. Vol. 7(1): 63-68.
- Mahesha. 2014. *Determination of Stomatal Index*. University Mysore. Mysore.
- Mansfield, J. W. 2000. *Antimicrobial Compounds and Resistance*. Kluwer Academic Publiser. London. 325-370.
- Mellidou, I., Buts, K., Hatoum, D., Ho, Q. T., Johnston, J. W., Watkins, C. B., Schaffer, R. J., Gapper, N. E., Giovannoni, J. J., Rudell, D. R., Hertog, M. L. A. T. M., and Nicolai, B. M. 2014. Transcriptomic Events Associated with Internal Browning of Apple during Postharvest Storage. *BMC Plant Biology*. Vol. 14: 328 (17p).

- Meriko, L. dan Abizar. 2017. Struktur Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Kantong Semar (*Nepenthes* spp.). *Berita Biologi*. Vol. 16(3).
- Mialoundama, A. S., Heinz, D., Debayle, D., Rahier, A., Camara B., and Bouvier, F. 2009. Abscisic Acid Negatively Regulates Elicitor-Induced Synthesis of Capsidiol in Wild Tobacco. *Plant Physiol*. Vol. 150, pp. 1556-66.
- Mokodompit, M. 2014. Kerapatan dan Distribusi Stomata Daun Beberapa Varietas Tumbuhan Puring (*Codiaeum variegatum*) yang Terdapat di Kota Gorontalo. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Gorontalo.
- Mulyani, S. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Noviantia, R. A., Nurcahyani, E., dan Lulus, M. L. 2017. Uji Ketahanan Planlet Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat terhadap *Fusarium oxysporum* secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol. 17(2): 132-137.
- Nurcahyani, E. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi *In Vitro* dengan Asam Fusarat terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Desertasi (Tidak dipublikasikan).
- Nurcahyani, E., Hadisutrisno, B., Sumardi, I., dan Suharyanto, E. 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. pp: 272-279.
- Nurcahyani, E., Sumardi, I., Hadisutrisno, B., dan Suharyanto, E. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*) melalui Seleksi Asam Fusarat secara *In Vitro*. Vol. 12(1): 12-22.
- Nurcahyani, E., Sumardi, I., Qudus, H. I., Wahyuningsih S., Palupi A., dan Sholehkah. 2019. Seleksi *In Vitro* Planlet Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] yang Diinduksi Larutan Atonik dalam Keadaan Cekaman Kekeringan. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Biologi Indonesia XXV*.

- Nürnberg, T. 1999. Signal Perception in Plant Patogen Defense. *Cell. Mol. Life Sci.* Vol. 55:167-182.
- Ozyigit, I. I., M. V. Kahraman., and O. Ercan. 2007. Relation Between Explant Age, Total Phenols and Regeneration Response in Tissue Cultured Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *African Jurnal Biotechnol.* Vol. 6(1): 003-008.
- Pangestika, D., Samanhudi, S., dan Triharyanto, E. 2015. Kajian Pemberian IAA dan Paclobutrazol terhadap Pertumbuhan Eksplan Bawang Putih. *Jurnal Kewirausahaan dan Bisnis.* No. 16.
- Panjaitan, E. 2005. Respons Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium* sp.) terhadap Pemberian BAP dan NAA secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian.* Vol. 3(3): 45-51.
- Prakash, S., Hoque, M. I., dan Brinks, T. 2004. Culture Media and Containers. *Low Cost Options for Tissue Culture Technology in Developing Countries.* 29-40.
- Predieri, S. 2001. Mutation Inductin and Tissue Culture in Improving Fruits. *Plant Cell Tiss. Org. Cult* 64. pp 185- 210.
- Pubchem. 2021. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Salicylic-acid>. Diakses pada 1 November 2021 pukul 11.00 WIB.
- Purwati, P. 2012. *Pengaruh Macam Media dalam Keberhasilan Aklimatisasi Anggrek Phalaenopsis amabilis (Anggrek Bulan).* Program Studi Hortikultura Jurusan Budidaya Tanaman Pangan. Politeknik Negeri Lampung.
- Putriani, A., Prayogo, H., dan Wulandari, R. S. 2019. Karakteristik Stomata pada Pohon di Ruang Terbuka Hijau Universitas Tanjungpura Kota Pontianak. *Jurnal Hutan Lestari.* Vol. 7(2): 746 – 751.
- Putri, O. S. D., Sastrahidayat, I. R., dan Djauhari, S. 2014. Pengaruh Metode Inokulasi Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) terhadap Kejadian Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Jurnal HPT.* Vol. 2(3).
- Puspitaningtyas, D. M. dan Mursidawati. 2010. *Koleksi Anggrek Kebun Raya Bogor.* UPT Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPI. Bogor. Vol. 1(2).

- Rompas, Y., Rampe, H. L., dan Rumondor, M. J. 2011. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Orchidaceae. *Jurnal Bioslogos*. Vol. 1(1).
- Ru, Z., Lai, Y., Xu, C., and Li, L. 2013. Polyphenol Oxidase (PPO) in Early Stage of Browning of *Phalaenopsis* Leaf Explants. *Journal of Agricultural Science*. Vol 5 (9): 57 – 64.
- Salachna P., Piechocki, R., Zawadzinska A., and Woskowiak, A. 2015. Response of Speckled Spur-Flower to Salinity Stress and Salicylic Acid Treatment. *Journal of Ecological Engineering*. Vol. 16(5): 68–75.
- Saputra, B. 2012. Induksi Kalus Embriogenik dan Inisiasi Embrio Somatik Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] Menggunakan Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat. *SI Thesis*. UAJY.
- Saragih, Y. S. dan Silalahi, F. H. 2006. Isolasi dan Identifikasi Spesies *Fusarium* Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Markisa Asam. *Jurnal Hortikultura*. Vol. 16(4): 336-344.
- Sari, W. D. P. dan Herkules. 2017. Analisis Struktur Stomata pada Daun Beberapa Tumbuhan Hidrofit Sebagai Materi Bahan Ajar Mata Kuliah Anatomi Tumbuhan. *Jurnal Biosains*. Vol. 3(3).
- Sastrahidayat, I. R. 1989. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Usaha Nasional. Surabaya.
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta.
- Semangun, H. 2000. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta.
- Singh, P. K., Kumar, C. V., and Bandana, B. 2010. Effect of Salicylic Acid on Seedling Growth and Nitrogen Metabolism in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. Vol. 6(3): 102-113.
- Soesanto, L. 2002. *Penyakit Busuk Rimpang Jahe di Sentra Produksi Jahe Jawa Tengah : Intensitas dan Pola Sebaran Penyakit*. Proyek Pembinaan Kelembagaan Litbang Pertanian (ARMPPII). Jawa Tengah.

- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Sukmadjaja, D., Mariska, I., Lestari, E. G., Kosmiatin M., Tombe, M., dan Hobir. 2002. Seleksi Silang Tunas Abaka dengan Asam Fusarat atau Filtrat *F. oxysporum* dan Regenerasinya Membentuk Planlet. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*.
- Sumardi, I., Nugroho, H., dan Purnomo. 2010. *Struktur dan Perkembangan Tumbuhan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suryanti., Chinta, Y.D., dan Sumardiyono, D. 2009. Pengimbasan Ketahanan Pisang terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Asam Salisilat *In Vitro*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. Vol. 15(2): 90-95.
- Susilowati, E., Nurcahyani, E., dan Lande M. L. 2015. Kandungan Klorofil Daun Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat Secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Swasembada Pangan*. Politeknik Negeri Lampung.
- Suwarno, S. J. dan Masnilah, R. 2020. Potensi *Bacillus* spp. sebagai Agen Biokontrol untuk Menekan Layu Fusarium (*Fusarium oxysporum*) pada Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.). *Jurnal Pengendalian Hayati*. Vol. 3(1): 22-28.
- Tang, W. and Newton R. J. 2004. Increase of Polyphenol Oxidase and Decrease of Polyamines Correlate with Tissue Browning in Virginia Pine (*Pinus virginiana* Mill.). *Plant Sci*. Vol. 167(3): 621-628.
- 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.
- Thurston, H. D. 1998. *Tropical Plant Diseases*. APS Press. Minnesota, 200 p.
- Tjahjadi, N. 1989. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Kanisius. Yogyakarta.
- Utami, E. S. W., Sumardi, I., Taryono., dan Semiarti, E. 2007. Pengaruh Napathalene Acetit Acid (NAA) terhadap Embrio Genesis Somatik Anggrek Bulan [*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume]. *Biodiversitas*. Vol. 8(4): 295-299.

- Vlot, A. C., Dempsey, D. A., and Klessig, D. F. 2009. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. *Phytopathol.* Vol. 47: 177-206.
- Wibowo, A. 2002. Pengendalian Penyakit Layu Fusarium pada Pisang dengan Menggunakan Isolate Non Patogenik *Fusarium* sp. *Jurnal Fitopatologi Indonesia.* Vol. 6: 65-70.
- Widiarsih, S. dan Dwimahyani, I. 2013. Aplikasi Iradiasi Gamma untuk Pemuliaan Mutasi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* Bl.) Umur Genjah. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi.* Vol. 9(1): 59-66.
- Widianti, P., Violita, V., dan Chatri, M. 2017. Luas dan Indeks Stomata Daun Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Cisokan dan Batang Piaman akibat Cekaman Kekeringan. *Jurnal Bioscience.* Vol. 1(2): 77-86.
- Yusnita. 2015. *Kultur Jaringan Tanaman sebagai Teknik Penting Bioteknologi untuk Menunjang Pembangunan Pertanian.* Aura Publishing. Lampung.
- Yusnita. 2012. *Pemuliaan Tanaman untuk Menghasilkan Anggrek Hibrida Unggul.* Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Lampung.