

**KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK *Cattleya* sp. HASIL INDUKSI
ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

(SKRIPSI)

Oleh

GALIH ADI KUSUMA

NPM 1817021049



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

2022

ABSTRAK

KARAKTERISASI ANGGREK *Cattleya* sp. HASIL INDUKSI ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO*

Oleh

GALIH ADI KUSUMA

Anggrek *Cattleya* (*Cattleya* sp. Lindl). merupakan salah satu jenis anggrek yang sangat diminati oleh masyarakat luas karena memiliki keistimewaan dari warna, bentuk, dan ukuran bunganya, hal ini yang menyebabkan anggrek *Cattleya* cukup banyak dibudidayakan di Indonesia. Salah satu pemicu penurunan produksi tanaman anggrek *Cattleya* karena adanya jamur *Fusarium oxysporum* yang menyebabkan penyakit layu Fusarium. Salah satu pengendalian yang efektif untuk mencegah infeksi jamur *Fusarium oxysporum* adalah dengan meningkatkan ketahanan tanaman. Peningkatan ketahanan tanaman anggrek *Cattleya* dapat dilakukan dengan cara mengimbas agen penginduksi ketahanan tanaman menggunakan asam salisilat pada planlet anggrek *Cattleya* secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi asam salisilat yang efektif untuk menginduksi planlet anggrek *Cattleya* secara *in vitro* dan menganalisis karakter planlet anggrek *Cattleya* setelah diinduksi asam salisilat secara *in vitro* meliputi kandungan klorofil total, klorofil a, klorofil b, dan indeks stomata. Penelitian ini menggunakan medium *Vacin and Went* (VW) dengan penambahan asam salisilat pada konsentrasi yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan data yang diperoleh dihomogenitaskan dengan Uji Levene apabila ada beda nyata maka dilanjutkan dengan menggunakan analisis ragam atau anova pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Parameter pengamatan adalah jumlah planlet yang hidup, visualisasi planlet, analisis kandungan klorofil, dan analisis indeks stomata. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi asam salisilat yang efektif untuk pertumbuhan planet anggrek *Cattleya* sp. adalah pada konsentrasi 80 ppm. Perubahan karakter yang terjadi pada planlet anggrek *Cattleya* sp. hasil induksi asam salisilat meliputi: perubahan morfologi pada konsentrasi 80 ppm planlet anggrek *Cattleya* menjadi lebih besar dan memiliki daun yang lebih banyak. Perubahan fisiologis pada konsentrasi 80 ppm memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi daripada konsentrasi kontrol dan perubahan secara anatomi pada konsentrasi 80 ppm menghasilkan nilai indeks stomata yang lebih tinggi.

Kata Kunci: Anggrek *Cattleya*, Asam Salisilat, *In vitro*, Planlet.

**KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK *Cattleya* sp. HASIL INDUKSI
ASAM SALISILAT SECARA *IN VITRO***

Oleh

GALIH ADI KUSUMA

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
2022**

Judul Skripsi : KARAKTERISASI PLANLET ANGGREK
Cattleya sp. HASIL INDUKSI ASAM SALISILAT
SECARA *IN VITRO*

Nama Mahasiswa : Galih Adi Kusuma

NPM : 1817021049

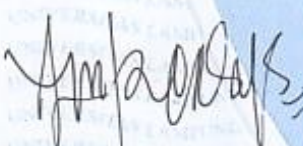
Jurusan/Program Studi : Biologi/S1 Biologi

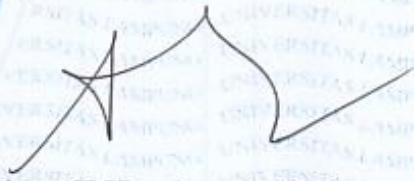
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP.196510311992032003


Dra. Tundjung T Handayani, M.S.
NIP. 195806241984032002

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

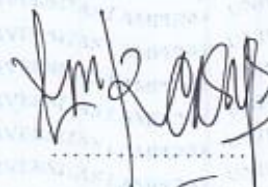

Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 19610112199103100

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

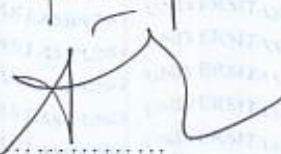
Ketua

: Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.



Sekretaris

: Dra. Tundjung T Handayani, M.S.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Dra. Eti Ernawati, M.P.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng Supto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 197407052000031001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 06 Juni 2022

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Galih Adi Kusuma

NPM : 1817021049

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 di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 06 Juni 2022

Yang menyatakan,



Galih Adi Kusuma

NPM. 1817021049

RIWAYAT HIDUP



Galih Adi Kusuma, atau akrab disapa Galih, lahir di Metro, 18 Juni 2000. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Zubaidi dan Ibu Natalia Novita Sari.

Penulis menempuh pendidikan pertamanya di TK Negeri Pembina pada tahun 2005 dan melanjutkan pendidikan dasar di SD N 8 Metro Pusat tahun 2006-2012 dan melanjutkan jenjang pendidikannya di SMP N 4 Metro dan selesai pada tahun 2015. Penulis melanjutkan jenjang pendidikannya di SMA N 5 Metro tahun 2015-2018. Setelah itu penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) angkatan 2018.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti organisasi seperti Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai Anggota Bidang Kaderisasi dan Kepemimpinan, dan sebagai anggota Unit Kegiatan Mahasiswa Katholik (UKMK) Universitas Lampung.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Kota Metro pada bulan Februari 2021 dengan judul **“Uji Cemar Mikroba pada Sampel Susu Kambing dengan Metode Total Plate Count (TPC) di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Kota Metro”** serta melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Putra Daerah di

Kelurahan Hadimulyo Barat, Kec. Metro Pusat, Kota Metro, Provinsi Lampung,
pada Agustus – September 2021.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur kehadiran Tuhan yang maha kuasa, saya persembahkan karya kecil ini dengan kesungguhan hati sebagai tanda cinta kepada:

Dua orang yang paling berharga bagi hidup saya, Bapak Zubaidi (Alm) dan Ibu Natalia Novita Sari yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi, serta melindungi saya dengan do'a yang ibu dan bapak panjatkan setiap saat hingga langkah saya selalu di ringankan dan dimudahkan hingga saat ini;

Dosen-dosen yang telah menjadi orang tua kedua di kampus yang tak bosan memberikan dan mengajarkan saya ilmu serta bimbingan dengan tulus dan ikhlas hingga saya berhasil mengantungi gelar sarjana;

Sahabat dan teman-teman Biologi 18 yang telah berjuang bersama dari awal menjadi mahasiswa baru, mengalami pengkaderan bersama sampai saat ini dan seterusnya yang selalu memberi mendukung serta pelajaran dalam setiap perjalanan hidup saya di bangku perkuliahan;

Almamater tercinta yang menjadi kebanggan saya dimanapun saya berada,

Universitas Lampung

MOTTO

The greatest feeling of winning adalah pada saat saya sudah tidak berusaha menang yaudah biarin aja. Saya ya seperti ini dan tidak harus *complete* dengan yang lain, dan disitu saya merasa menang.

(Adriano Qalbi)

Semua boleh sakit asal jangan Ibu, nanti dunia berhenti.

(Jason Ranti)

Kita Semua gagal, ambil sedikit tisu bersedihlah secukupnya.

(Hindia)

Kalo lo enggak jalan sekarang, lo harus lari besok.

(Penulis)

Sing uwis yo uwis.

(Penulis)

SANWACANA

Puji syukur saya haturkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan pertolongan-Nya kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “**Karakterisasi Planlet Anggrek *Cattleya* sp. Hasil Seleksi Asam Salisilat Secara *In Vitro***” dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan S1 dan merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Universitas Lampung.

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

Penulis menyadari bahwa selama proses penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Proses penyusunan skripsi ini tentu tidak luput dari pengarahan, kritik, saran, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga dapat terselesaikan pada waktu yang tepat. Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada:

- 1 Ibu Dra. Eti Ernawati, M.P., selaku Pembahas yang telah memberikan masukan, kritik, saran, kepada penulis demi kesempurnaan dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini, serta Ibu yang memberi berbagai macam motivasi dan pembelajaran hidup.

- 2 Bapak Dr. Jani Master, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa memberikan saran dan bimbingan selama penulis mengemban pendidikan di bangku perkuliahan.
- 3 Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
- 4 Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- 5 Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku ketua jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
- 6 Seluruh Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat di bangku perkuliahan dan mengantarkan saya mencapai gelar sarjana.
- 7 Jum's Residence Brotherhood yang selalu ada dan menemani penulis dalam segala keadaan dan memberikan penulis motivasi, semangat dan hiburan selama ini.
- 8 Teman-teman tercinta Aura Pricilla Sabathini, Feriza Yolanda Putri, Gilang Pratama Indra, Rizka Dwi Damayanti, dan Putri Oktariana yang telah memberikan dukungan dan berbagi keceriaan kepada penulis.
- 9 Teman-Teman Kultur Jaringan 2018. selaku rekan seperjuangan selama menjalankan penelitian yang telah membantu, mendukung, memberikan motivasi, berbagi keluh-kesah, dan menghibur penulis.
- 10 Teman-teman KKN Hadimulyo Barat (Agnes, Edo, Eggy, Rara, Ricky, dan Yusuf) atas kebersamaan dan pengalaman ketika terjun ke masyarakat;
- 11 Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2018 yang namanya tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih untuk rasa kekeluargaan yang terjalin selama ini.
- 12 Orang-orang yang tidak bisa disebutkan namanya, yang telah memberikan pengalaman dan pelajaran hidup serta memotivasi penulis untuk menjadi pribadi yang lebih baik lagi di masa depan.
- 13 Almamaterku, Universitas Lampung.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa memberikan berkat, kasih sayang, dan kebahagiaan kepada semua yang telah membantu penulis menyelesaikan

penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa ini jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 06 Juni 2022

Penulis,

Galih Adi Kusuma

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DEPAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
SURAT KEASLIAN SKRIPSI.....	vi
RIWAYAT HIDUP.....	vii
PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO.....	x
SANWACANA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pikir.....	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
II. TINJUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Anggrek <i>Cattleya</i>	5

2.1.1	Klasifikasi.....	5
2.1.2	Sejarah	5
2.1.3	Morfologi.....	6
2.1.4	Syarat Tumbuh Anggrek.....	7
2.2.	Asam Salisilat	8
2.3	Ketahanan Terimbas	9
2.4	Biosintesis Klorofil.....	10
2.5	Stomata	12
2.6	Perbanyakkan Tanaman Secara <i>In Vitro</i>	13
III.	METODE PENELITIAN.....	15
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2	Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3.3	Rancangan Percobaan.....	16
3.4	Bagan Alir Penelitian	16
3.5	Pelaksanaan Penelitian.....	18
3.5.1	Persiapan medium tanam.....	18
3.5.2	Persiapan medium seleksi.....	18
3.5.3	Penanaman planlet dalam medium seleksi asam salisilat.	19
3.6	Pengamatan.....	19
3.6.1	Presentase jumlah planlet yang hidup.....	19
3.6.2	Visualisasi planlet.....	20
3.6.3	Analisis kandungan klorofil.....	20
3.6.4	Analisis indeks stomata.....	21
3.7	Analisis Data	21
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1	Persentase Jumlah Planlet Hidup.....	23
4.2	Kandungan Klorofil.....	27
4.2.1	Kandungan Klorofil A	26
4.2.2	Kandungan Klorofil B	30
4.2.3	Kandungan Klorofil Total	32

4.3 Indeks Stomata	35
V. KESIMPULAN.....	40

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Tata Letak Satuan Percobaan	16
Tabel 2. Presentase jumlah planlet anggrek <i>Cattleya</i> hidup hasil induksi asam salisilat pada berbagai konsentrasi.....	24
Tabel 3. Presentase visualisasi planlet anggrek <i>Cattleya</i> hasil induksi asam salisilat pada berbagai konsentrasi.....	24
Tabel 4. Rata-Rata Kandungan Klorofil a planlet anggrek <i>Cattleya</i> pada beberapa konsentrasi asam salisilat.....	28
Tabel 5. Rata-rata kandungan klorofil b planlet anggrek <i>Cattleya</i> pada beberapa konsentrasi asam salisilat.....	31
Tabel 6. Rata-rata kandungan klorofil total planlet anggrek <i>Cattleya</i> pada beberapa konsentrasi asam salisilat	33
Tabel 7. Indeks stomata pada planlet anggrek <i>Cattleya</i> sp. pada beberapa konsentrasi asam salisilat.....	38
Tabel 8. Jumlah planlet hidup dan visualisasi planlet.....	43
Tabel 9. Komposisi medium <i>Vacin & Went</i> (VW).....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bunga Anggrek Cattleya.....	6
Gambar 2. Struktur Kimia Asam Salisilat.....	8
Gambar 3. Struktur Klorofil a dan b.....	11
Gambar 4. Bagan Alir Penelitian.....	17
Gambar 5. Planlet anggrek Cattleya yang ditanam pada medium VW yang telah diinduksi asam salisilat berbagai konsentrasi	26
Gambar 6. Histogram kandungan klorofil a planlet anggrek Cattleya.....	29
Gambar 7. Kurva regresi linear yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan kandungan klorofil a planlet anggrek Cattleya.....	29
Gambar 8. Histogram kandungan klorofil b planlet anggrek Cattleya.....	31
Gambar 9. Kurva regresi linear yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan kandungan klorofil b.....	32
Gambar 10. Histogram kandungan klorofil total planlet anggrek Cattleya.....	34
Gambar 11. Kurva regresi linear yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan kandungan klorofil total planlet anggrek Cattleya.....	34
Gambar 12. Gambar stomata planlet anggrek Cattleya sp. yang diinduksi asam salisilat berbagai konsentrasi.	36
Gambar 13. Histogram indeks stomata pada planlet anggrek Cattleya.....	39
Gambar 14. Kurva regresi linear hubungan antara konsentrasi asam salisilat dan indeks stomata planlet anggrek Cattleya.....	39

Gambar 15. Penanaman planlet anggrek <i>Cattleya</i> sp.	54
Gambar 16. Pembuatan medium seleksi asam salisilat	54
Gambar 17. Pembuatan medium tanam	54
Gambar 18. Penimbangan planlet anggrek <i>Cattleya</i> sp.	54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan dan keberagaman jenis tanaman hortikultura antara lain anggrek (Ramadiana *et al.*, 2011). Tanaman anggrek mempunyai bentuk dan bunga yang unik dan sangat indah. Spesies anggrek yang tersebar di seluruh dunia sebanyak 25.000 – 30.000. Anggrek yang tumbuh di Indonesia terdapat kurang lebih 5000 spesies anggrek endemik, sekitar 986 spesies tersebar di hutan pulau Jawa, 971 spesies ditemukan di Sumatera, 113 spesies tumbuh di Maluku dan sisanya dapat ditemukan di pulau Sulawesi, Papua, Nusa Tenggara, dan Kalimantan (Qosim *et al.*, 2012).

Tanaman anggrek *Cattleya* sp. umumnya berkembang biak dengan biji. Selain itu anggrek juga dapat dibiakan dengan metode kultur jaringan yang merupakan teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman berupa sel, jaringan atau organ dalam kondisi yang aseptik secara *in vitro*. Pengembangan anggrek dengan metode kultur jaringan memiliki kelebihan yaitu menghasilkan planlet dengan jumlah banyak tetapi dalam waktu yang singkat. Hasil tersebut tidak dapat ditemukan dalam metode perbanyakan secara konvensional (Yusnita, 2010).

Anggrek *Cattleya* menjadi tanaman yang sangat diminati oleh masyarakat luas. Selain memiliki warna bunga dan bentuk yang menarik dan sangat beragam, anggrek juga memiliki nilai ekonomis yang tinggi dibandingkan tanaman-tanaman hortikultura yang lain. Itu yang menyebabkan anggrek

dapat menarik banyak peminat dalam negeri maupun mancanegara. Indonesia memiliki potensi yang sangat menjanjikan untuk budidaya anggrek. Produksi tanaman anggrek di Indonesia mengalami penurunan. Pada tahun 2019, produksi tanaman anggrek di Indonesia mencapai 18,61 juta tangkai dan menurun pada tahun 2020 menjadi 11.68 juta tangkai (BPS, 2021).

Pembudidayaan tanaman anggrek mempunyai banyak kendala yang dihadapi seperti munculnya penyakit yang berasal dari jamur patogen, virus ataupun bakteri yang menyerang bagian tubuh tanaman anggrek. Penyakit-penyakit tersebut antara lain busuk daun, busuk akar, busuk lunak, busuk hitam, bercak daun, *Cymbidium mozaic*, dan layu Fusarium. Penyakit layu Fusarium disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* (*Fo*) yang menyerang akar tanaman anggrek (Djantika, 2012).

Tanaman anggrek yang terjangkit penyakit layu Fusarium memiliki gejala batang dan daun mulai menguning, tipis, berkeriput, bengkok, dan leher daun membusuk sampai pangkal batang. Pada dasarnya *Fusarium* sp. merupakan jamur patogen ini dapat mengakibatkan tanaman menjadi layu dan selanjutnya tanaman akan mati (Soelistijono, 2015). Penyakit layu Fusarium dapat dikendalikan menggunakan fungisida kimia tetapi fungisida kimia belum efektif dan dapat berdampak buruk bagi lingkungan (Wedge & Elmer 2008).

Asam salisilat dapat digunakan untuk mengimbas ketahanan tanaman terhadap penyakit yang disebabkan oleh jamur dengan cara menghambat enzim hidrolisis yang dimiliki oleh jamur, sehingga jamur tidak dapat menginfeksi tanaman. Tanaman yang tahan terhadap asam salisilat juga tahan terhadap penyakit layu Fusarium (Nurcahyani, 2012). Asam salisilat bertindak sebagai modulator resistensi penyakit endogen yang dibentuk oleh dekarboksilasi asam sinamat, diikuti oleh pembentukan asam benzoat dan selanjutnya 2-hidroksilasi dengan pembentukan asam salisilat. Asam salisilat merupakan suatu signal penting yang digunakan sebagai senyawa pengimbas ketahanan tanaman terhadap penyakit layu Fusarium (Sujatmiko *et al.*, 2012).

Sejauh ini penelitian mengenai karakterisasi planlet anggrek *Cattleya* sp. hasil induksi asam salisilat secara *in vitro* belum pernah dilakukan, oleh karena itu penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui karakterisasi planlet anggrek *Cattleya* sp. setelah dilakukan pengimbasan asam salisilat secara *in vitro* sehingga diharapkan dapat memberikan informasi mengenai karakterisasi seperti kandungan klorofil dan indeks stomata pada planlet anggrek *Cattleya* sp. hasil induksi asam salisilat.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui konsentrasi asam salisilat yang efektif pada planlet anggrek *Cattleya* sp. secara *in vitro*
2. Mengetahui karakter planlet anggrek *Cattleya* sp. setelah diinduksi asam salisilat secara *in vitro*.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan asam salisilat dalam mendapatkan anggrek *Cattleya* yang resisten terhadap penyakit layu Fusarium. Selain itu, dapat membantu masyarakat terutama petani anggrek dalam budidaya tanaman anggrek, serta memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang pemuliaan dan penyakit tanaman.

1.4 Kerangka Pikir

Anggrek *Cattleya* merupakan jenis anggrek yang mempunyai keistimewaan dari warna, ukuran, dan bentuk bunganya. Jika dibandingkan dengan jenis anggrek lainnya, anggrek ini mempunyai warna bunga yang beragam dan ukuran bunga yang relatif besar. Keistimewaan tersebut membuat anggrek

Cattleya mampu bersaing di pasar Indonesia maupun dunia. Akibat adanya penyakit layu Fusarium yang tidak jarang menyerang tanaman anggrek Cattleya. Hal tersebut menyebabkan kualitas tanaman menjadi lebih menurun.

Penyebab penyakit layu Fusarium pada anggrek Cattleya adalah jamur *Fusarium oxysporum*. Jamur ini menyerang rimpang akar yang baru saja dipotong atau akar tanaman anggrek dengan kondisi terluka. Gejala tanaman anggrek jika terkena penyakit ini yaitu daunnya mengeriput serta menguning seperti kekurangan air lalu kemudian layu.

Pada umumnya fungisida digunakan untuk pengendalian penyakit layu Fusarium ini, akan tetapi penggunaan fungisida dapat berdampak buruk bagi kesehatan manusia dan lingkungan, sehingga memerlukan pengendalian yang aman dan tidak membahayakan bagi manusia dan lingkungan. Salah satu pengendalian yang aman bagi kesehatan manusia dan lingkungan adalah pengendalian hayati. Pengendalian tersebut dilakukan dengan mengimbas asam salisilat anggrek Cattleya secara *in vitro* untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit patogen.

Asam salisilat digunakan sebagai racun murni dan sebagai reaksi yang disebabkan infeksi patogen. Komponen penting untuk mengaktifkan gen ketahanan terhadap berbagai macam jamur, virus, dan bakteri secara sistematis merupakan peran dari asam salisilat. Tanaman yang diimbas asam salisilat diharapkan akan lebih resisten terhadap penyakit.

1.5 Hipotesis

1. Terdapat konsentrasi asam salisilat yang efektif untuk menginduksi planlet anggrek *Cattleya* sp. secara *in vitro*.
2. Ada perubahan karakter yang terjadi pada planlet anggrek *Cattleya* sp. yang diinduksi asam salisilat secara *in vitro*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anggrek *Cattleya*

2.1.1 Klasifikasi

Menurut Cronquist (1981) dan APG II (2003), anggrek *Cattleya* diklasifikasikan sebagai berikut.

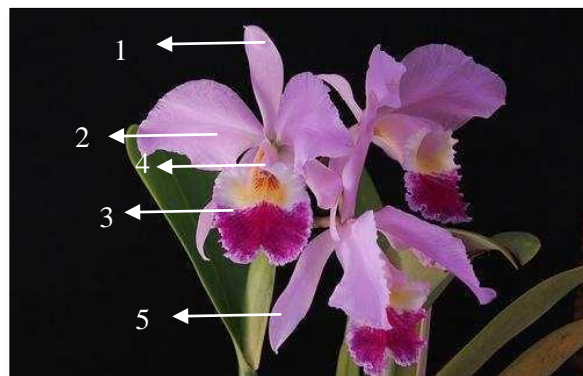
Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Bangsa : Asparagales
Suku. : Orchidaceae
Marga : *Cattleya*
Jenis : *Cattleya* sp. Lindl.

2.1.2 Sejarah

Nama *Cattleya* diambil dari seorang hortikulturis Inggris bernama William Cattley yang pernah mengimpor tanaman dari Brazil. Tanaman tersebut dikemas dengan dedaunan, diantara daun daun yang digunakan sebagai pengemas terdapat semacam umbi (*bulb*) yang tidak dikenal. Oleh Wiliam Cattley umbi tersebut lalu ditanam di dalam pot dan diletakkan di tempat panas. Pada November 1818 tanaman tersebut berbunga sangat indah dengan warna ungu. Seorang botanis terkenal pada masa itu yang bernama Dr. John Lindley kemudian memberi nama *Cattleya labiata autumnalis* yang berarti bunga *Cattleya* dengan labellum yang indah berbunga pada musim gugur (Gunawan, 2005).

2.1.3 Morfologi

Anggrek *Cattleya* memiliki bunga yang sangat indah sehingga mendapat julukan *The Queen of Orchid*. Ukuran bunga anggrek *Cattleya* lebih besar dibandingkan dengan anggrek lainnya. Morfologi bunga anggrek *Cattleya* disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Bunga Anggrek *Cattleya* (*Cattleya* sp.)
 Keterangan: 1 = *sepal dorsal*, 2 = *petal*, 3 = *labellum*, 4 = *column*, 5 = *sepal lateral*.
 Sumber: Orchidswiki (2009)

Tanaman anggrek *Cattleya* merupakan tanaman tipe simpodial. Tanaman tipe ini mempunyai ciri-ciri bunga keluar dari ujung batang, tidak memiliki batang utama, dan akan kembali berbunga pada pertumbuhan tunas baru atau anakan baru (Darmono, 2007).

Secara umum anggrek *Cattleya* memiliki bentuk akar yang relatif kecil, lunak dan mudah patah dibandingkan anggrek lainnya dan berwarna putih serta runcing di ujung akarnya. Akar tanaman anggrek *Cattleya* memiliki lapisan epidermis yang menjadi jaringan terluar akar, tersusun atas sel parenkim yang berfungsi untuk akar mudah untuk menyerap air. Akar-akar yang tua akan berubah menjadi kering dan berwarna coklat dan akan digantikan dengan akar yang baru tumbuh (Yusnita, 2010).

Anggrek *Cattleya* termasuk anggrek simpodial yang terdiri atas umbi semu (*pseudobulb*) yang memiliki pertumbuhan terbatas. *Pseudobulb* agak pipih, berdaging, keras, dan berbentuk ganda dengan ukuran yang bervariasi tergantung spesiesnya. Terdapat akar rimpang rizoma pada pangkal *pseudobulb* untuk menghubungkan *pseudobulb* dengan *pseudobulb* yang lain. Untuk *pseudobulb* yang telah mengeluarkan bunga akan berfungsi sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan dan air (Yuswanti *et al.*, 2014).

Anggrek *Cattleya* memiliki bentuk daun yang lebar, tulang daun sejajar dengan helaian daun, daun melekat pada batang satu helai tiap buku dan berhadapan dengan daun pada buku berikutnya atau berpasangan. Berdasarkan pertumbuhannya anggrek *Cattleya* termasuk golongan *evergreen* yaitu dahan tetap hijau dan segar serta tidak gugur secara bersamaan (Darmono, 2007).

2.1.4 Syarat Tumbuh Anggrek

Pada umumnya anggrek dapat tumbuh dimana saja mulai dari daerah tropis hingga sub tropis. Meskipun demikian anggrek *Cattleya* memiliki sifat dan karakter yang berbeda dengan anggrek lainnya. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman antara lain cahaya, air, udara, dan makanan (hara). Faktor-faktor harus dalam takaran yang seimbang jika cahaya yang diterima berlebihan maka sel pada tanaman akan layu (Reddy, 2016).

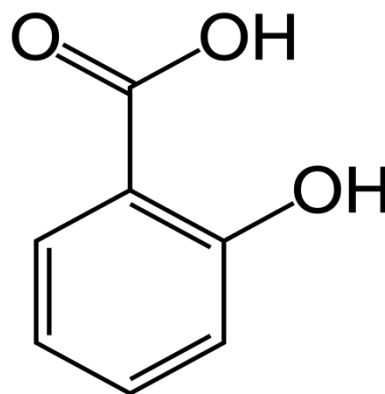
Menurut Prabowo dan Kartohadiprodjo (2009), umumnya tanaman anggrek tidak membutuhkan banyak air. Penyiraman yang berlebihan menyebabkan tumbuhnya jamur pada batang anggrek dan layunya daun. Cahaya matahari juga penting untuk pertumbuhan tanaman anggrek sebagai sumber energi dan proses fotosintesis. Suhu yang baik menurut Iswanto (2005), yaitu 21-30 °C pada siang hari dan 13-18 °C pada malam

hari. Anggrek *Cattleya* dapat tumbuh dengan baik pada kelembaban udara sekitar 50% tetapi kelembaban udara untuk pertumbuhan yang paling baik dengan kelembaban 70% (Parnata, 2005).

Anggrek *Cattleya* tumbuh dengan optimal pada daerah dengan ketinggian antara 500-1500 mdpl. Ketinggian tempat sangat berpengaruh pada pertumbuhan dan presentase hidup bibit anggrek. Tanaman yang ditanam pada dataran rendah dapat berbunga lebih awal dibandingkan dengan tanaman yang terdapat pada dataran tinggi. Tanaman anggrek membutuhkan sirkulasi udara yang baik yang berguna untuk pergantian udara di permukaan akar dan daun. Sirkulasi udara yang baik antara lain udara yang berhembus secara lambat dan terus menerus sepanjang tanaman anggrek tersebut tumbuh (Parnata, 2005)

2.2 Asam Salisilat

Asam Salisilat adalah kelompok senyawa fenolik yang mempunyai banyak peran pada respon tanaman terhadap penyakit dan dapat mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan tanaman (Rivas & Plasencia, 2011). Asam salisilat dengan rumus molekul C_6H_4COOH memiliki bentuk kristal berukuran kecil serta berwarna merah terang hingga cokelat. Asam salisilat memiliki berat molekul sebesar 138,123 g/mol dan titik leleh sebesar $156^{\circ}C$ (Purnomo *et al.*, 2007). Struktur asam salisilat disajikan pada **Gambar 2**.



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

Asam salisilat yang diaplikasikan secara eksogen merupakan antioksidan yang dapat mempengaruhi proses biokimia, fisiologis dan molekular pada tanaman (Saruhan *et al.*, 2012). Asam salisilat bertindak sebagai modulator resistensi penyakit endogen yang dibentuk oleh dekarboksilasi asam sinamat, diikuti oleh pembentukan asam benzoat dan selanjutnya 2-hidroksilasi dengan pembentukan asam salisilat. Asam salisilat juga dapat digunakan sebagai regulator endogen resistensi penyakit yang dapat dibentuk melalui proses dekarboksilasi yang berasal dari asam sinamat lalu membentuk asam benzoat dan subsekuensinya 2-hidroksilasi menghasilkan asam salisilat (An & Zhonglin, 2011).

Asam salisilat mempunyai peran penting dalam ketahanan tanaman yang terinduksi secara sistemik. Sinyal pertahanan tanaman yang berasal dari asam salisilat muncul ketika terjadi infeksi patogen. Senyawa tersebut akan terakumulasi di tempat terinfeksi tanaman yang menjadi inang oleh patogen. (Hayat *et al.*, 2010). Asam salisilat dalam mematikan jamur dengan cara menghambat enzim hidrolisis yang dimiliki oleh patogen sehingga jamur tidak dapat menginfeksi tanaman (Semangun, 2006). Selain asam salisilat dapat menghalau infeksi patogen, asam salisilat juga dapat merubah karakter dari tanaman tersebut yaitu adanya peningkatan kandungan klorofil sehingga tanaman tampak lebih hijau jika dibandingkan dengan tanaman yang tidak diberi asam salisilat. Asam salisilat juga dapat mengubah ukuran stomata menjadi lebih besar. Perubahan karakter ini juga dapat menjadikan tanaman angrek tahan terhadap layu *Fusarium* (Putri, 2017).

2.3 Ketahanan Terimbas

Ketahanan terimbas merupakan proses ketahanan alami pada tanaman mulai aktif seperti peningkatan aktivitas enzim peroksidase, penambahan sel lignin, produksi fitoaleksin dan meningkatnya kandungan klorofil yang bertujuan

untuk pertahanan tanaman terhadap patogen. Reaksi yang terjadi di dalam suatu jaringan dapat menghasilkan senyawa yang bersifat toksin terhadap patogen dan menghambat pertumbuhan patogen pada tanaman. Ketahanan terimbas adalah salah satu pengendalian terhadap patogen dengan bantuan agen biologis yang non virulen sehingga terjadinya peningkatan ketahanan pada patogen utama (Agrios, 2005).

Ketahanan terimbas dapat diartikan sebagai ketahanan sistemik karena bentuk ketahanan pada tanaman yang ditingkatkan tidak hanya pada bagian tanaman yang terinfeksi patogen tetapi pada jaringan yang tidak terinfeksi dan tempatnya terpisah juga ditingkatkan (Soesanto, 2008). Respon tanaman terhadap patogen dengan jaringan tumbuhan yang telah terinfeksi akan melewati mekanisme resistensi spesifik dengan cara pengikatan ligan patogen ke dalam reseptor yang spesifik, pengikatan tersebut bertujuan untuk memicu jalur transduksi sinyal untuk menghasilkan respon hipersensitif (Campbell *et al.*, 2003).

Induksi ketahanan sistemik dapat memicu kondisi fisiologis yang merangsang mekanisme pertahanan alami dan ketahanan tanaman dengan pengaplikasian bahan pengeduksi eksternal. Bahan pengeduksi eksternal dapat berupa kompos, sinar ultraviolet, bahan kimia toksin dan tak toksin, dan agensia yang lain (Agrios, 2005). Senyawa-senyawa yang berperan pada aplikasi agens penginduksi seperti asam salisilat, kitinase, peroksidase, dan β -1,4glukosidase. Peran senyawa-senyawa tersebut ditandai dengan meningkatnya kadar dan aktivitasnya (Soesanto, 2008).

2.4 Biosintesis Klorofil

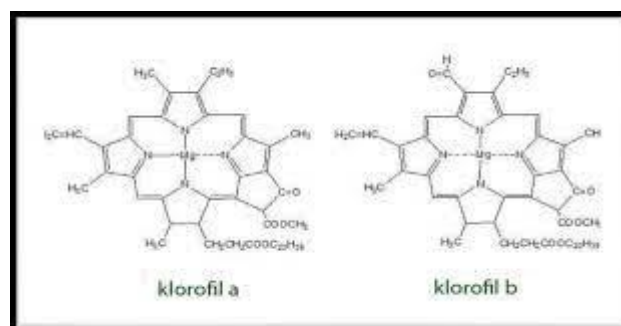
Klorofil adalah pigmen berwarna hijau yang dapat ditemukan pada tumbuhan, alga, maupun *cyanobacteria*. Pigmen tersebut berperan menyerap dan merombak energi cahaya menjadi energi kimia. Klorofil terdiri dari atom C, H, N, dan O yang mengelilingi Mg sebagai atom tunggal. Klorofil menyerap

energi matahari yang selanjutnya digunakan untuk membelah molekul H_2O menjadi H_2 dan O dan menggabungkan unsur H dan CO_2 menghasilkan karbohidrat (Zakiyah, 2018).

Sintesis klorofil pada daun berguna untuk menangkap cahaya dengan intensitas yang berbeda tergantung pada faktor genetik dan lingkungan. Faktor-faktor yang mempengaruhi sintesis klorofil antara lain air, cahaya, gula, karbohidrat, temperatur, oksigen, dan faktor genetik setiap spesies. Unsur-unsur seperti: N , Fe , Mg , S , Mn , Cu , Zn juga mempengaruhi sintesis protein. Unsur Nitrogen menjadi faktor penting dalam pembentukan klorofil dan merupakan unsur hara makro. Kekurangan dari unsur nitrogen adalah dapat menyebabkan gejala klorosis pada daun tanaman (Hendriyani & Nantya, 2009).

Klorofil terdapat dua jenis, yaitu klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) yang memiliki warna hijau tua dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) yang memiliki warna hijau muda. Klorofil a dan b adalah klorofil yang paling kuat menyerap cahaya dibagian merah dengan panjang gelombang 600-700 nm dan paling sedikit menyerap cahaya hijau dengan panjang gelombang 500-600 nm. Cahaya yang berwarna biru diserap oleh karotenoid. Karotenoid dapat membantu menyerap cahaya sehingga cahaya matahari dapat dimanfaatkan dengan baik oleh tanaman (Nio Song & Banyo, 2011). Struktur klorofil a dan b disajikan pada

Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Klorofil a dan b (Nio Song & Banyo, 2011).

Air dan unsur hara yang cukup dari dalam tanah memiliki peran yang penting dalam proses sintesis klorofil. Keberadaan klorofil merupakan faktor utama yang mempengaruhi proses fotosintesis. Proses tersebut sangat penting karena untuk mempertahankan pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Lie *et al.*, 2006). Klorofil dalam fotosintesis memiliki 3 fungsi utama yaitu memicu fiksasi CO₂ sebagai penghasil karbohidrat, memanfaatkan energi matahari, dan sebagai penyedia energi bagi ekosistem (Bahri, 2010). Karbohidrat hasil fotosintesis mempunyai berbagai fungsi salah satunya sebagai materi penyusun dinding sel. Struktur dinding sel yang tebal dapat menghambat penetrasi patogen, oleh karena itu kandungan klorofil dapat dijadikan parameter untuk mengukur ketahanan suatu tanaman terhadap infeksi patogen (Putri, 2017).

2.5 Stomata

Stomata merupakan modifikasi sel epidermis daun yang berupa sepasang sel penjaga dengan celah sehingga terjadi pertukaran antara uap air dan gas di bagian dalam stomata dengan lingkungan. Stomata terdiri dari sel penutup dan celahnya. Sel epidermis yang letaknya berdekatan dengan sel penutup disebut sel tetangga. Sel ini berperan dalam proses perubahan osmotik yang memicu gerakan sel penutup dalam mengatur lebar celah stomata (Hasanuddin, 2011).

Stomata memiliki peran yang penting dalam proses fotosintesis dan transpirasi. Stomata berperan sebagai alat dalam proses adaptasi somaklonal yang tahan kekeringan, transpirasi tanaman, dan kerapatan stomata dapat mempengaruhi proses fotosintesis. Stomata umumnya terdapat pada permukaan bawah daun, akan tetapi pada beberapa spesies tumbuhan stomata terdapat pada permukaan atas dan bawah daun, batang, dan cabang tanaman (Lakitan, 2013).

Menurut Semangun (2006), stomata dapat digunakan sebagai tempat masuknya jamur patogen. Jamur *F. oxysporum* dapat masuk dan menginfeksi

tanaman melalui stomata pada daun yang paling dekat dengan permukaan tanah. Tanaman mempunyai dua tipe jenis ketahanan mekanis, yaitu ketahanan mekanis aktif dan ketahanan mekanis pasif. Tanaman dengan ketahanan mekanis pasif sukar diinfeksi patogen dikarenakan mempunyai struktur morfologi seperti adanya lapisan lilin, lapisan epidermis dengan kutikula sangat tebal, dan mempunyai sedikit stomata. Stomata dapat menjadi parameter ketahanan tanaman terhadap patogen (Semangun, 2006).

2.6 Perbanyakan Tanaman Secara *In Vitro*

Kultur *in vitro* berasal dari dua kata yaitu '*culture*' yang berarti budaya dan '*vitrous*' yang berarti transparan. Kultur *in vitro* dapat diartikan teknik menumbuhkan sel, jaringan atau organ pada suatu wadah atau gelas kultur yang transparan hingga menjadi tanaman lengkap dengan lingkungan terkontrol. Definisi yang lain kultur *in vitro* atau kultur jaringan merupakan teknik isolasi bagian-bagian tanaman seperti jaringan, organ dan embrio yang dikultur pada medium buatan secara aseptik sehingga bagian bagian tanaman tersebut mampu beregenerasi dan berdeferensiasi menjadi tanaman lengkap. Sejauh ini kultur *in vitro* menjadi cara yang paling sering digunakan untuk memperbanyak bibit anggrek. Teknik ini dapat menghasilkan jumlah bibit yang banyak dan tingkat keberhasilan cukup tinggi (Zulkarnain, 2009).

Teknik kultur jaringan yang dikemukakan Schleiden & Schwann pada tahun 1838, berdasarkan teori sel yaitu bahwa sel memiliki kemampuan totipotensi. Setiap sel yang diletakkan dalam lingkungan yang sesuai maka dapat tumbuh menjadi tanaman yang sempurna. Pada teknik *in vitro* pembentukan organ tanaman dapat terjadi secara langsung apabila suatu eksplan diinduksi langsung membentuk organ tanpa membentuk kalus terlebih dahulu. Sel sel yang telah diinduksi kemudian dapat melanjutkan pertumbuhannya menjadi embrio. Selanjutnya dari embrio dapat berkembang menjadi tanaman utuh (Abbas, 2011).

Keberhasilan dari kultur *in vitro* sangat bergantung pada media yang digunakan. Menambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) dalam media kultur jaringan dapat membantu proses pertumbuhan dan perkembangan planlet angrek secara *in vitro* (Nurchayani, 2020). Faktor lingkungan juga berpengaruh dalam perkembangan *in vitro*, faktor lingkungan tersebut yaitu cahaya, pH, suhu dan kelembaban. Beberapa faktor tersebut dapat mempengaruhi proses pertumbuhan dan diferensiasi sel (Sandra, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret sampai dengan April 2022 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur berukuran 100 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, Erlenmeyer berukuran 50 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tip, mikropipet, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), scapel, mata pisau scapel, pinset, *aluminium foil*, tisu, corong gelas, kertas label, kertas filter, timbangan analitik ohaus, spektrofotometri, waterbath, mikroskop, dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan adalah planlet anggrek *Cattleya* sp. steril dalam botol kultur, asam salisilat, aquades, alkohol, sukrosa, agar, Asam Klorida (HCl), *Kalium Hidroksida* (KOH), , *Plant Preservative Mixture* (PPM), *Benzine Amino Purine* (BAP), *Indole-3-Acetic Acid* (IAA),serta bahan kimia medium *Vacin and Went* (VW) padat.

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian ini disusun dengan pola dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi asam salisilat yang terdiri dari empat taraf yaitu: 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm. Masing masing konsentrasi dilakukan 5 kali pengulangan dan setiap pengulangan terdiri dari 3 eksplan *Cattleya* sp. dari setiap botol kultur. Tata letak satuan percobaan seleksi planlet anggrek *Cattleya* sp. secara *in vitro* disajikan dalam **Tabel 1.**

Tabel 1. Tata letak satuan percobaan

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

Keterangan:

K1: Konsentrasi 0 ppm (kontrol)

K2: Konsentrasi 20 ppm

K3: Konsentrasi 40 ppm

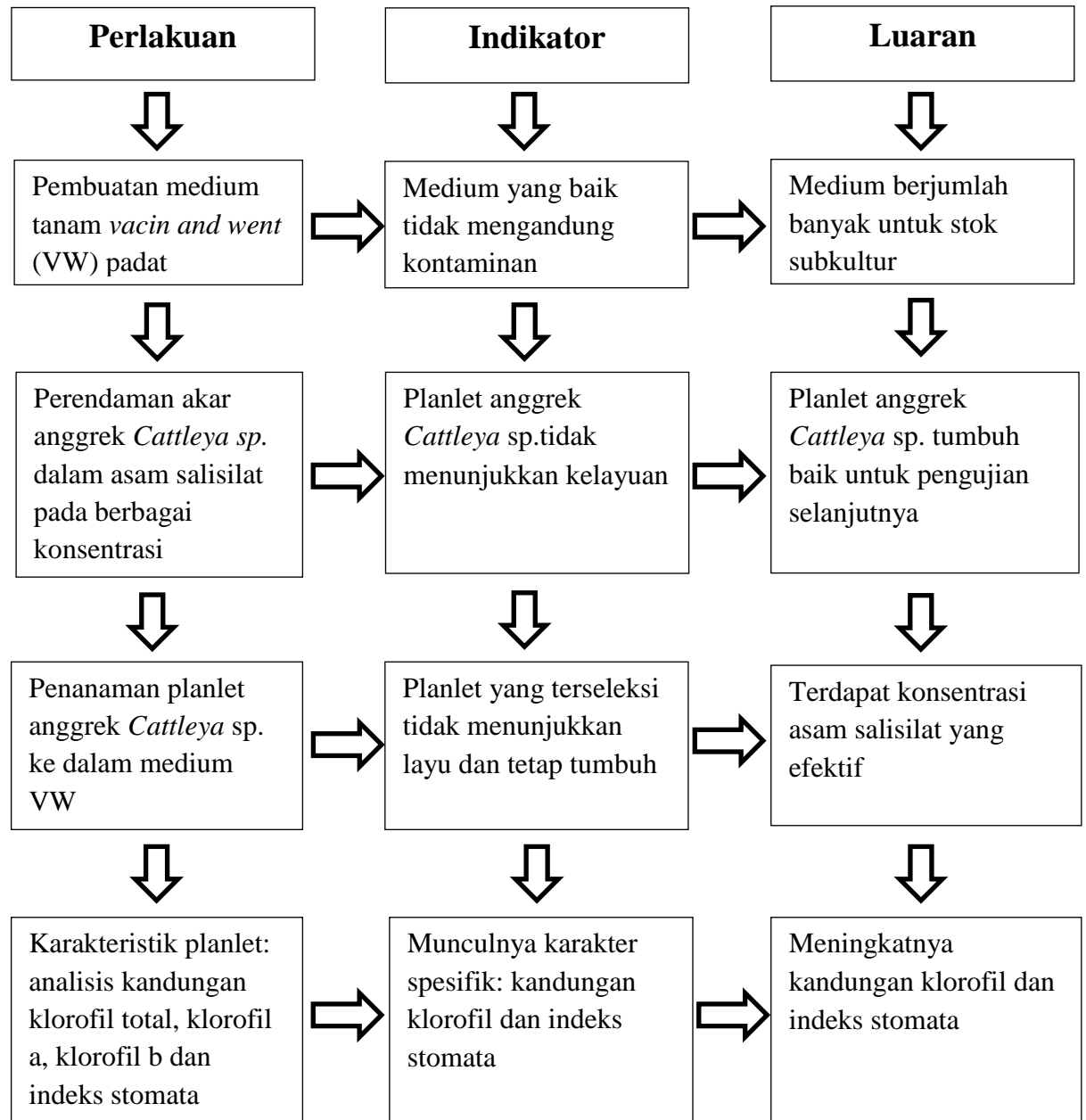
K4: Konsentrasi 60 ppm

K5: Konsentasi 80 ppm

U₁-U₅: Ulangan 1 – Ulangan 5

3.4 Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu, 1) Penanaman planlet anggrek *Cattleya* sp. kedalam medium VW yang sudah ditambahkan asam salisilat sesuai konsentrasi. 2) Penentuan kisaran konsentrasi asam salisilat toleran untuk seleksi planlet anggrek *Cattleya* sp secara *in vitro*. 3) Analisis karakter yang spesifik pada planlet *Cattleya* sp meliputi visualisasi planlet, presentase jumlah planlet yang hidup serta analisis kandungan klorofil a, klorofil b, serta klorofil total. Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti tercantum pada **Gambar 4.**



Gambar 4. Bagan Alir Penelitian

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa tahap sebagai berikut.

3.5.1 Persiapan medium tanam

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vacin and Went* (VW) padat. Pembuatan medium tanam VW sebanyak 1 liter dengan cara memipet sejumlah larutan stok, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter. Akuades ditambahkan hingga tanda (1 liter) dan pH diatur sampai 5,5, dilakukan penambahan KOH 1 N atau HCl 1 N untuk mendapatkan pH 5,5. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke dalam wadah yang lebih besar kemudian ditambahkan agar-agar 7 g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium dipanaskan yang bertujuan untuk melarutkan agar-agar (sambil diaduk) sampai mendidih. Setelah larutan medium diangkat, dilakukan penambahan ZPT kemudian dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Sterilisasi medium dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121 °C selama 15 menit (Nurcahyani, 2013).

3.5.2 Persiapan medium seleksi

Media *Vacint & Went* (VW) ditambah asam salisilat dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm. Asam salisilat dilarutkan dengan akuades pada konsentrasi tertentu, kemudian disaring menggunakan syringe filter dengan diameter 0,45 µm sebanyak 2 kali, dilanjutkan filter berdiameter 0,22 µm satu kali. Penyaringan dilakukan dalam ruang steril. Selanjutnya asam salisilat ditambahkan ke dalam media VW. Medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C) sebelum digunakan, untuk memastikan bahwa asam salisilat telah tersaring dengan baik. Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi, maka medium tersebut dapat digunakan (Nurcahyani, 2012).

3.5.3 Penanaman planlet dalam medium seleksi asam salisilat

Planlet *Cattleya* sp. dari botol kultur dikeluarkan dengan *scalpel* steril dan satu-persatu diletakkan di atas cawan petri berdiameter 10 cm, kemudian planlet dipisahkan satu per satu, setelah itu ditanam pada masing-masing botol kultur yang berisi medium perlakuan. Masing-masing konsentrasi dilakukan 5 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri dari 3 eksplan *Cattleya* sp. pada setiap botol kultur (Nurchayani, 2012).

3.6 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada minggu ke-4 dan dievaluasi untuk mengetahui konsentrasi asam salisilat yang efektif untuk seleksi planlet *Cattleya* sp. secara *in vitro*. Setelah 4 minggu inkubasi, planlet yang masih hidup di dalam botol kultur kemudian dikarakterisasi dengan parameter sebagai berikut.

3.6.1 Presentase jumlah planlet yang hidup

Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah planlet *Cattleya* sp. yang hidup yaitu:

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

(Nurchayani, 2014)

3.6.2 Visualisasi planlet

Visualisasi planlet yang dapat diamati meliputi warna tunas yang terbentuk dengan klasifikasi sebagai berikut: hijau= planlet berwarna hijau, hijau cokelat= planet berwarna hijau tetapi sebagian terdapat warna cokelat, dan cokelat= jika planlet tersebut keseluruhannya berwarna cokelat/planet mati. Visualisasi planlet dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

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

(Nurchayani, 2014)

3.6.3 Analisis kandungan klorofil

Daun planlet *Cattleya sp.* yang sudah diberikan perlakuan penambahan asam salisilat digunakan sebagai bahan untuk analisis kandungan klorofil menggunakan metode Miazek & Ledakowicz (2013) dengan spektrofotometer. Daun planlet *Cattleya sp.* sebanyak 0,1 gram dihilangkan ibu tulang daunnya, kemudian digerus 100% dengan mortar (pestle) dan ditambahkan 10 ml aseton 80% . Larutan disaring dengan kertas saring dan dimasukkan dalam *flakon* lalu tutup rapat. Larutan sampel dan larutan standar berupa aseton 80% diambil sebanyak 1 ml, dimasukkan dalam kuvet. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang (λ) 646 nm dan 663 nm, dengan tiga kali ulangan untuk setiap sampel. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \text{Klorofil A} &= 12,21 \times A_{663} - 2,81 \times A_{646} \text{ mg/l} \\ \text{Klorofil B} &= 20,13 \times A_{646} - 5,03 \times A_{663} \text{ mg/l} \\ \text{Klorofil Total} &= 17,3 \times A_{646} - 7,18 \times A_{663} \text{ mg/l} \end{aligned}$$

Keterangan :

A_{663} : Absorbansi pada panjang gelombang 663 nm

A_{646} : Absorbansi pada panjang gelombang 646 nM

3.6.4 Analisis indeks stomata

Helai daun planlet anggrek *Cattleya* sp. diberikan cat kuku pada bagian bawah daun lalu dikeringkan. Kemudian setelah cat kuku kering pada bagian bawah daun lalu direkatkan isolasi berwarna bening sehingga cat kuku menempel pada permukaan isolasi tersebut. Isolasi yang menempel pada cat kuku kemudian di tarik pelan pelan dengan harapan lapisan epidermis pada daun menempel pada cat kuku dan diletakkan pada kaca preparat yang diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Indeks stomata ditentukan berdasarkan rumus Mahesa (2014) berikut.

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

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet anggrek *Cattleya* sp. selama seleksi dengan asam salisilat berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dengan deskriptif komperatif dan didukung foto. Data kuantitatif dari setiap parameter dihomogenkan terlebih dahulu dengan uji Levene pada taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan analisis menggunakan

Anova One Way pada taraf nyata 5%, jika data menunjukkan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Konsentrasi asam salisilat 80 ppm adalah konsentrasi yang efektif dalam membentuk planlet anggrek *Cattleya* yang toleran terhadap induksi asam salisilat.
2. Perubahan karakter yang lebih nyata pada tanaman anggrek *Cattleya* sp terjadi pada konsentrasi 80 ppm. Dihasilkannya planlet yang lebih besar dan daunnya lebih banyak. Perubahan morfologi pada konsentrasi 80 ppm planlet anggrek *Cattleya* menjadi lebih besar dan memiliki daun yang lebih banyak. Perubahan fisiologis pada konsentrasi 80 ppm memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi daripada konsentrasi kontrol dan perubahan anatomi pada konsentrasi 80 ppm menghasilkan nilai indeks stomata yang lebih tinggi.

5.2. Saran

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terhadap planlet *Cattleya* sp. dengan karakter spesifik lainnya seperti kandungan karbohidrat, kandungan fenol dan analisis molekular

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, B. 2011. *Prinsip Dasar Teknik Kultur Jaringan*. Alfabeta. Bandung.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth edition. Academic press.
- Amilah dan Y. Astuti. 2006. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Taoge dan Kacang Hijau pada media Vacin and Went (VW) terhadap Pertumbuhan Kecambah Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume). *Buletin Penelitian*. No. 09.
- An, Chuanfu., & Zhonglin, Mou. 2011. Salicylic Acid and its Function in Plant Immunity. *Journal of Integrative Plant Biology*. 53 (6): 412-428.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group) II. 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.
- Bahri, S. 2010. Klorofil. Diktat Kuliah Kapita Selektia Kimia Organik. Universitas Lampung. Lampung.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., and Mitchell, L.C. 2003. *Biologi Jilid 2 (Terjemahan) Edisi Ke delapan*. Erlangga. Jakarta.
- Darmono, D,W. 2007. *Agar Anggrek Rajin Berbunga*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Djatnika, I. 2012. Seleksi Bakteri Antagonis untuk Mengendalikan Layu Fusarium pada Tanaman Phalaenopsis. *J. Hort*, 22 (3): 276-284.
- Gunawan, L.W. 2005. *Budidaya Anggrek*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hasanuddin. 2011. *Anatomi Tumbuhan*. Prodi Pendidikan Biologi Fakultas Tarbiyah IAIN Ar-Raniry. Banda Aceh.

- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., & Ahmad, A. 2010. Effect of Oxogenous Saliycilic Acid Under Changing Environment: a review. *Environ Experimental Bot.* 68(1):14-25.
- Hendriyani IS & Nantya S. 2009. Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (*Vigna sinensis*) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. *Jurnal Sains dan matematika.* 17 (3): 145-150.
- Iswanto, H. 2005. *Anggrek Phalaenopsis*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Lakitan B. 2013. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Rajawali Press. Jakarta
- Lie R, Guo P, Baum M, Grando S & Ceccarelli S. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agric Sci in China* .5 (10): 751-757.
- Mahesa. 2014. *A Laboratory Manual on Physiology of Mulberry and Silkworm*. University of Mysore. Mysore.
- Miazek, K & Ledakowicz, S. 2013. Chlorophyll extraction from leaves, needles and microalgae: A kinetic approach. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering.* 6 (2) : 107-115.
- Muslimah, I. 2016. Aktivitas Enzim Peroksidase Daun Planlet Pisang Ketan (*Musa paradisiaca* L.) Hasil Pengimbasan Ketahanan terhadap Asam Salisilat secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan.* 17 (2): 105-108
- Nio Song & Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains.* 11:166-171.
- Nurchayani, E., Issirep, S., Bambang, H., & E. Suharyanto. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanilli (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*) Melalui seleksi asam fusarat secara *in vitro*. *J. HPT Tropika.* 12 (1): 12-22.
- Nurchayani, E. 2013. Karakterisasi Planlet Vanilli (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi *In Vitro* dengan Asam Fusarat terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *Disertasi*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Nurchayani, E., B. Hadisutrisno, I. Sumardi, & 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. Hal.: 272- 279.

- Nurcahyani, E., Sumardi, Qudus, H.I., Wahyuningsih, S., Palupi, A., & Sholekhah. 2020. In Vitro Selection *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Plantlets Result of Induced Resistance with Fusaric Acid. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*. 6(2): 25-28.
- Orchidswiki. 2009. *Cattleya labiata*. <http://www.orchidswiki.com>. Diakses pada tanggal 16 November 2021.
- Parnata, A. 2005. *Panduan Budi Daya dan Perawatan Anggrek*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Prabowo, G. & Kartohadiprojdo, N.S. 2009. *Asyiknya Memelihara Anggrek*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Pubchem. 2017. *Compound Summary Salicylic Acid*. US National Library of Medicine National Center for Biotechnology Informations. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/338> diakses pada tanggal 24 maret 2022 pukul 13.40 WIB.
- Purnomo, T.W.S., Kristian R., & Amitra P.S. 2007. *Asam Salisilat dari Phenol*. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Banten.
- Putri, A,R. 2017. Karakterisasi Planlet Anggrek *Cattleya* (*Cattleya* sp. Lindl.) Hasil Induksi Asam Salisilat dan Inokulasi Mikoriza (*Rhizoctonia* sp.) secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Qosim W.A., Istifadah N., Djatnika I., & Yunitasari. 2012. Pengaruh Mutagen Etil Metan Sulfonat terhadap Kapasitas Regenerasi Tunas Hibrida *Phalaenopsis In Vitro*. *Jurnal Hortikultura*. 22(4):360 – 365.
- Ramadiana, S., A. P. Sari, Yusnita, & D. Hapsoro. 2011. 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. Bandar Lampung.
- Reddy, J. 2016. *Biotechnology of Orchids*. International Pvt Ltd. New Delhi.
- Rivas, M. & Plasencia, J. 2011. Salicylic Acid Beyond Defence: its Role in Plant Growth and Development. *Journal of Experimental Botany*. 62 (10): 3321–3338.
- Sandra, E. 2018. *Buku Pelatihan Kultur Jaringan Esha Flora*. Esha Flora. Bogor.

- Saruhan, N., Saglam, A., & Kadioglu, A. 2012. Salicylic Acid Pretreatment Induces Drought Tolerance and delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant System in Maize Genotypes. *Acta Physiol Plant.* 34: 97-106.
- Semangun, H. 2006. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. UGM Press. Yogyakarta.
- Soelistijono, R., 2015. Kajian Efektifitas Rhizoctonia SP Mikoriza Dataran Rendah dan Sedang pada Tingkat Keparahan Penyakit Anggrek *Phalaenopsis amabilis* terhadap *Fusarium* sp. *Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education.* 7(2):112-119.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Sujatmiko, B, Sulistyaningsih E., & Murti, H.R. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis melo L*) Terhadap Layu *Fusarium* Secara In-Vitro dan Kaitannya dengan Asam Salisilat. *Jurnal Ilmu Pertanian.* 15: 1-18.
- Sulistiana, E. 2014. Pertumbuhan Anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada Perlakuan *Chitosan* dan Asam Salisilat. *Jurnal Buletin Argohorti.* ISSN: 2614-3194
- Susilowati, E. 2015. Seleksi Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) BI.) dengan Asam Salisilat secara In Vitro terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Tarigan, D.M., dan F.K. Wardana. 2020. Pertumbuhan Tanaman Akar Wangi (*Vetiveria zizanioides L.*) di Tanah Salin Dengan Perlakuan Asam Salisilat Dan Fungi Mikoriza Arbuskular. *Jurnal Agrium.* 22 No.3.
- Wedge, D.E & Elmer, W.H. 2008. *Fusarium* Wilt of Orchids. *Trade Journal Publication.* 2 (3): 161-168.
- Yusnita. 2010. *Perbanyakan In Vitro Tanaman Anggrek*. Penerbit Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Yuswanti, H., Astawa, I.N.G. & Maya Dewi, N.N.A. 2014. Pertumbuhan Plantlet Anggrek *Cattleya* sp. dengan Perlakuan Benzyl Amino Purine pada Media Dasar Pupuk Daun Modifikasi. *Jurnal Agrotrop.* 4 NO. 2.
- Zakiah, M. M. 2018. Kandungan Klorofil Daun pada Empat Jenis Pohor Arboretum Sylva Indonesia PC. Universitas Tanjungpura. *Jurn Lestari.* 6(1): 48-55.
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman*. PT. Bumi Aksara. Jakart