

Uji Ketahanan Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Hasil Seleksi dengan Asam Salisilat Terhadap *Fusarium oxysporum* Secara *In Vitro*

Induced Resistance of Moon Orchid Plantlet (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) as Result of The In Vitro Salicylic Acid Selection Toward to *Fusarium oxysporum*

Ria Aulia Noviantia, Endang Nurcahyani*, dan Martha Lulus Lande

Jurusan Biologi - FMIPA Universitas Lampung - Bandar Lampung, Indonesia
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro No. 1, Bandar Lampung, Indonesia 35145
E-mail : riaaulia74@gmail.com

ABSTRACT

Phalaenopsis amabilis cultivated have many constraints such as the appearance of fusarium wilt disease caused by *Fusarium oxysporum*. Plantlet *P. amabilis* which resistant to *F. Oxysporum* was selected in the solid Vacin and Went (VW) medium was added with salicylic acid at concentrations of 65 ppm, 75 ppm, and 85 ppm, compared with controls (0 ppm). The goals of the research were to study and determine of: 1) The SA concentration of plantlet *P. amabilis* selection tolerant; 2) The proper concentration of AS during in vitro selection for suppressing the *Fo*. The research was carried out in December 2015 to February 2016 in the Botany Laboratory (in vitro research room), Departement of Biology, Faculty of MIPA, Lampung University. The result showed that: 1) The SA tolerant concentration for plantlet selection with *P. amabilis* was between 65 ppm - 85 ppm. 2) The 85 ppm of SA was effective for suppressing the *Fo* compared to 65 ppm and 75 ppm.

Keywords: *Phalaenopsis amabilis*, salicylic acid, *Fusarium oxysporum*, In vitro, Resistance.

Diterima : 30 Maret 2016, **Disetujui :** 18 Juli 2017

PENDAHULUAN

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) adalah 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. Indonesia memiliki tiga bunga nasional yang ditetapkan melalui Keputusan Presiden Nomor 4/1993, yaitu bunga melati (*Jasminum sambac* L.) sebagai puspa bangsa, bunga padma raksasa (*Rafflesia arnoldii* R. Br.) sebagai puspa langka, dan bunga anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) sebagai puspa pesona (Puspitaningtyas & Mursidawati, 2010).

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

Salah satu cara alternatif pengendalian penyakit yang efektif dan aman terhadap lingkungan adalah menggunakan varietas yang tahan atau resisten (Nurchayani, 2013). Penggunaan varietas unggul yang tahan terhadap *Fo* dengan daya hasil tinggi merupakan cara alternatif pengendalian penyakit dan tidak menimbulkan dampak negatif seperti penggunaan pestisida (Ambar *et al.*, 2003). Pengembangan kultivar tahan *Fo* tersebut dapat dilakukan dengan metode seleksi *in vitro* yaitu mengkulturkan eksplan berupa organ atau jaringan pada medium yang mengandung asam salisilat dengan konsentrasi selektif (Suryanti *et al.*, 2009).

Asam salisilat merupakan signal penting dalam ketahanan tanaman, digunakan sebagai senyawa pengimbas ketahanan tanaman pisang terhadap penyakit layu *Fusarium* (Suryanti *et al.*, 2009). Asam salisilat di gunakan pada tanaman sebagai reaksi terhadap infeksi patogen, dan digunakan sebagai racun murni pada penyakit layu *Fusarium*. Mekanisme ketahanan tanaman terhadap penyakit dapat berupa ketahanan secara fisik maupun kimia. Salah satu bentuk ketahanan secara kimia adalah asam salisilat (Corina *et al.*, 2009 dalam Sujatmiko *et al.*, 2012; Rebecca *et al.*, 2007 dalam Sujatmiko *et al.*, 2012).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai dengan bulan Februari 2016 di Laboratorium Botani (ruang penelitian *in vitro*), Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan dalam rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan adalah penambahan asam salisilat ke dalam medium VW (*Vacin and Went*) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 65 ppm, 75 ppm, dan 85 ppm.

Persiapan medium tanam dan seleksi. Medium yang digunakan adalah *Vacin and Went* (VW) padat dengan penambahan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) *Benzine Amino Purine* (BAP). Setelah medium dicairkan, kemudian medium disterilisasi selama 15 menit. Medium VW yang sudah disterilkan kemudian ditambah asam salisilat (AS) dengan konsentrasi 0 ppm (kontrol), 65 ppm, 75 ppm, dan 85 ppm.

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

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 diteteskan pada planlet 1-2 tetes. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar (25 °C) selama 24 jam. Pengamatan dilakukan selama 3 minggu dengan mengamati dan menghitung jumlah daun yang menunjukkan gejala layu dengan indeks kelayuan menurut He *et al.* (2002) seperti di sajikan dalam Tabel 1.

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

Tabel 1. 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

Tingkat ketahanan tanaman ditentukan berdasarkan skoring dengan mengacu pada ketentuan Wibowo (2002) seperti ditunjukkan dalam Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Tingkat Ketahanan tanaman menurut Wibowo (2002)

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

Keterangan : IP = Intensitas Penyakit

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil seleksi planlet anggrek bulan berdasarkan persentase jumlah planlet hidup dengan berbagai konsentrasi AS disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase jumlah planlet hidup hasil seleksi dengan asam salisilat

Konsentrasi Asam salisilat (ppm)	Persentase jumlah planlet hidup pada minggu (%)			
	I	II	III	IV
0	100	100	100	100
65	100	100	100	100
75	100	100	100	100
85	100	100	100	80

Tabel 3 menunjukkan bahwa pada minggu I, II, dan III pada konsentrasi 65, 75, 85 ppm, dan kontrol persentase jumlah planlet hidup mencapai 100%. Pada planlet anggrek bulan yang diperlakukan dengan konsentrasi 65, 75, 85 ppm pada minggu ke-IV tidak mengalami kematian, sedangkan pada konsentrasi 85 ppm mengalami kematian 20%. Menurut Purwati *et al.* (2007) menyatakan bahwa keberhasilan seleksi *in vitro* dipengaruhi oleh ketersediaan metode regenerasi planlet dalam jumlah banyak dan keefektifan agen penyeleksi yang digunakan. Asam salisilat (AS) dapat digunakan sebagai agen penyeleksi dalam seleksi *in vitro* untuk memperoleh varian yang tahan terhadap *Fusarium oxysporum*. Hasil seleksi planlet anggrek bulan berdasarkan persentase visualisasi planlet dengan berbagai konsentrasi AS disajikan pada Tabel 4.

Jumlah planlet pada konsentrasi AS 0-85 ppm pada minggu I menunjukkan 100% hidup dan secara visual semuanya hijau. Mulai minggu II planlet yang ditanam pada medium AS 75-85 ppm menunjukkan adanya perubahan secara visual berwarna hijau dengan bagian tertentu cokelat atau *browning* dengan persentase paling tinggi sebesar 20%. Planlet yang ditanam pada konsentrasi AS 85 ppm secara visual menunjukkan *browning* pada minggu IV dan mengalami kematian sebesar 20%.

Hasil secara visualisasi menunjukkan bahwa planlet yang semula berwarna hijau kemudian menjadi hijau cokelat pada bagian tertentu, dan *browning* setelah diberi perlakuan dengan AS. Planlet yang tahan AS, *browning* hanya terjadi pada bagian ujung daun, sedangkan planlet yang tidak tahan AS akan mengalami *browning* yang cepat meluas ke seluruh bagian planlet.

Tabel 4. Persentase dan visualisasi planlet hasil seleksi dengan berbagai konsentrasi asam salisilat
 Persentase dan visualisasi planlet pada minggu (%)

Konsentrasi asam salisilat (ppm)	Persentase dan visualisasi planlet pada minggu (%)			
	I	II	III	IV
0	H : 100	H : 100	H : 100	H : 100
65	H : 100	H : 100	H : 100	H : 100
75	H : 100 HC: 0	H : 80 HC: 20	H : 60 HC: 40	H : 50 HC: 50
85	H : 100 HC: 0	H : 80 HC: 20	H : 70 HC: 30	H : 60 HC: 20 C : 20

Keterangan: H = Hijau ; HC = Hijau Cokelat ; C = Cokelat atau *browning*

Berdasar pengamatan terhadap planlet anggrek bulan hasil pengimbasan yang diuji terlihat bahwa pada hari ke-4 setelah inokulasi muncul gejala daun layu pada kontrol. Gejala daun layu juga muncul pada 65 ppm. Sedangkan pada perlakuan 75 ppm terlihat gejala layu pada hari ke-8. Gejala tersebut merupakan karakteristik layu *Fusarium* (Nurchayani, 2013), sehingga dapat dilakukan perhitungan persentase daun layu atau kuning (Tabel 5).

Tabel 5. Persentase daun layu atau kuning pada setiap perlakuan asam salisilat

Perlakuan	Persentase daun layu atau kuning pada hari pengamatan ke:					
	0	4	8	12	16	20
Kontrol	0	33.33	66.67	66.67	66.67	100.00
65 ppm	0	33.33	33.33	66.67	66.67	66.67
75 ppm	0	0	33.33	33.33	33.33	33.33
85 ppm	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan Tabel 5 diketahui gejala daun layu atau kuning yang muncul pada hari ke-4 setelah inokulasi menunjukkan bahwa persentase daun layu atau kuning pada kontrol dan perlakuan 65 ppm telah mencapai rata-rata 33.33%. Sedangkan perlakuan 75 ppm baru menunjukkan gejala daun layu atau kuning pada hari ke-8 dengan persentase 33.33% pada kontrol meningkat menjadi 66.67%. Peningkatan persentase daun layu atau kuning juga terjadi pada perlakuan 65 ppm pada hari ke-12 menjadi 66.67%. Pada perlakuan 85 ppm tidak menunjukkan adanya daun layu atau kuning.

Berdasarkan skoring terhadap gejala daun layu atau kuning yang muncul maka dapat diketahui persentase intensitas penyakit dan kriteria ketahanan dari masing-masing perlakuan (Tabel 6).

Tabel 6. Intensitas penyakit hasil uji ketahanan dan tingkat ketahanan anggrek bulan pada setiap perlakuan asam salisilat

Perlakuan	Hari Pengamatan									
	4		8		12		16		20	
	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan
Kontrol	33,33	Moderat	66,67	Rentan	66,67	Rentan	66,67	Rentan	100	Rentan
65 ppm	33,33	Moderat	33,33	Moderat	66,67	Rentan	66,67	Rentan	66,67	Rentan
75 ppm	0	Tahan	33,33	Moderat	33,33	Moderat	33,33	Moderat	33,33	Moderat
85 ppm	0	Tahan	0	Tahan	0	Tahan	0	Tahan	0	Tahan

Keterangan : IP= Intensitas Penyakit

Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui bahwa pada hari ke-20, intensitas penyakit tertinggi ditunjukkan oleh kontrol (100%), dan perlakuan 65 ppm memiliki 66,67% sehingga dinyatakan rentan terhadap layu *Fusarium*, sedangkan perlakuan 75 ppm memiliki intensitas penyakit 33,33% sehingga kriteria ketahanannya adalah moderat. Pada perlakuan 85 ppm intensitas penyakit kurang dari 25% sehingga kriteria ketahanannya adalah tahan.

Berdasarkan data intensitas penyakit dan kategori ketahanannya, dapat diketahui bahwa perlakuan AS 85 ppm mampu mengimbas ketahanan yang paling baik, dapat menekan intensitas pnyakit kurang dari 25% sehingga kriteria menjadi tahan. Hal ini menunjukkan bahwa AS mampu mengimbas ketahanan planlet anggrek bulan terhadap penyakit layu *Fusarium*.

Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Suryanti *et al* (2009) yang menyatakan bahwa bibit pisang (*Musa sp.*) hasil pengimbasan terhadap asam salisilat memiliki ketahanan yang lebih tinggi dari pada kontrol dengan seleksi *in vitro*. Hasil penelitian ini juga mendukung pernyataan Agrios (2005) yang menyatakan bahwa ekspresi dari pengimbasan ketahanan adalah dengan menurunnya intensitas penyakit. Pada penelitian Nurcahyani (2013) menyatakan bahwa AF mampu mengimbas ketahanan planlet vanili terhadap penyakit layu *Fusarium*.

KESIMPULAN

Kisaran konsentrasi asam salisilat toleran untuk seleksi planlet anggrek bulan secara *in vitro* adalah 65-85 ppm. Secara *in vitro* penekanan perkembangan jamur *F. oxysporum* menggunakan seleksi asam salisilat pada konsentrasi 85 ppm lebih efektif dibandingkan konsentrasi 65 dan 75 ppm. Konsentrasi asam salisilat 85 ppm mampu mengimbas ketahanan yang paling baik, sehingga mampu menekan intensitas penyakit hingga 0%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology, 5th ed.* Elsevier Academic Press. California.
- Ambar, A.A., Tjokrosoedarmo, A.H., Pusposendjojo, N., dan Wibowo, A. 2003. Patogenesis Isolat *Fusarium Oxysporum F.Sp. Lycopersici* dari 4 lokasi pada Tomat. *Agrosains*. XVI(2).
- Djatnika, I. 2012. Seleksi Bakteri Antagonis Untuk Mengendalikan Layu *Fusarium* pada Tanaman *Phalaenopsis*. *J. Hort* 22 (3): 276-284.
- Hadisutrisno, B. 1995. Pengendalian Hayati Penyakit Busuk Batang Vanili. *Buletin Azolla*. 2: 15-21.
- He CY, Hsiang T, & Wolyn DJ. 2002. Induction of Systemic Disease Resistance and Pathogen Defence Responses in *Asparagus officinalis* Inoculated with Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology* 51:225-230.
- Nurcahyani, E., I. Sumardi, B. Hadisutrisno, dan E. Suharyanto. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*) Melalui Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. Terakreditasi SK No. 110/DIKTI/Kep/2009. ISSN: 1411-7525. Vol. 12 /No. 1: 12-22.
- Panjaitan, E. 2005. Respons Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium sp.*) Terhadap Pemberian BAP dan NAA Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. Vol.3. No. 3. Pp: 45-51.
- Purwati, P. 2012. Pengaruh Macam Media Dalam Keberhasilan Aklimatisasi Anggrek *Phalaenopsis Amabilis* (Anggrek Bulan). Program Studi Hortikultura Jurusan Budidaya Tanaman Pangan Politeknik Negeri Lampung.

Noviantia, R.A dkk : Uji Ketahanan Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) Hasil Seleksi dengan Asam...

Purwati, R.D., U.S. Budi, dan Sudarsono. 2007. Penggunaan asam fusarat dalam seleksi in vitro untuk resistensi abaka terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense. *Jurnal Littri*. 13(2): 64-72.

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

Sujatmiko, B, Sulistyaningsih E., dan Murti, H.R. 2012. Studi Ketahanan Melon (*Cucumis melo* L) Terhadap Layu Fusarium Secara *In-Vitro* dan Kaitannya dengan Asam Salisilat. *Ilmu Pertanian* Vol. 15: 1-18.

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

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