

**UJI KETAHANAN PENYAKIT LAYU FUSARIUM PLANLET ANGGREK BULAN
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] HASIL INDUKSI ASAM SALISILAT SECARA IN
VITRO**

**INDUCED RESISTANCE OF FUSARIUM WILT DISEASE PLANLET MOON ORCHID
[*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume] RESULT OF INDUCTION OF SALICYLIC ACID IN
VITRO**

Meilyana Santa Maria¹, Endang Nurcahyani^{1,2}, Tundjung Tripeni Handayani¹, Yulianty¹

¹Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung

²Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung

ABSTRACT

The purpose of this study was to find out effective concentration of salicylic acid in planlet *P. amabilis* that is tolerant to *Fusarium Wilt* disease and to know the stomata index on the planlet *P. amabilis* that is tolerant to *F. oxysporum* resulting from salicylic acid induction and determine the criteria for the resistance of planlet *P. amabilis* to *Fo* the result of induction salicylic acid. This study used a Complete Random Design with one factor, namely the addition of salicylic acid concentrations divided into 5 levels, namely 0 ppm, 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm, and 115 ppm. Data analysis using the Levene Test at a level of 5% and continued with the Anova One Way Test at the level of 5%, if the data shows a real difference then followed by the Honest Real Difference Test (BNJ) at the level of 5%. The results showed that salicylic acid concentrations of 115 ppm were more effective at suppressing fungal development than concentrations of 85 ppm, 95 ppm and 105 ppm and were able to suppress disease intensity by 25% and increase resistance criteria from moderate to resistant. The character of the specific expression on the planlet *P. amabilis* affected by salicylic acid is that the increasing concentration of salicylic acid, the more the value of the stomata index of *P. amabilis* leaves.

Key-words : *Phalaenopsis amabilis*, salicylic acid, *Fusarium oxysporum*, in vitro, resistance

INTISARI

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi asam salisilat yang efektif pada planlet *P. amabilis* yang toleran terhadap penyakit 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 dan 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, *Fusarium oxysporum*, in vitro, ketahanan

¹ Alamat penulis untuk korespondensi: Endang Nurcahyani. Program Studi Biologi Terapan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung. Email: endang.nurcahyani@fmipa.unila.ac.id

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan suku tumbuhan berbunga yang paling beragam. Saat ini ada sekitar 300 spesies anggrek di Indonesia. Salah satunya adalah Anggrek Bulan yang merupakan salah satu dari tiga bunga nasional di Indonesia (Prayogo, 2020). 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 (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume sebagai puspa pesona (Puspitaningtyas dan Mursidawati, 2010).

Perkembangan budidaya anggrek tidak terlepas dari masalah hama dan penyakit. Infeksi penyakit dan serangan hama sedikit pun pada tanaman anggrek tidak boleh diremehkan karena persyaratan pembeli untuk kualitas tanaman. Anggrek untuk dijual atau dipajang adalah keindahannya. Dengan sedikit serangan penyakit dan serangan hama, keindahan akan berubah dan tentunya harga jual akan turun (Wahyuni, 2015).

Penyebaran anggrek bulan berkurang karena serangan jamur patogen. *Fusarium sp.* adalah patogen yang peling umum mempengaruhi anggrek *P. amabilis* dibandingkan dengan jamur lainnya (Chung *et al.*, 2011). Menurut penelitian sebelumnya Khaterine (2014) penyakit busuk pucuk disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*.

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 miselium 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).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui 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.

MATERI DAN METODE

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.

Alat-alat yang digunakan yaitu 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, mikroskop, mikropipet, tabung reaksi, timbangan analitik *Ohaus*, ose jamur, *hotplate*, vortex, jarum suntik, dan *object glass*. Bahan-

bahan yang digunakan yaitu planlet *Phalaenopsis amabilis* steril dalam botol kultur berumur 4 bulan dan inokulum *Fusarium oxysporum* yang diperoleh dari koleksi pribadi Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si, asam salisilat (AS), alkohol 70%, akuades, sukrosa, Plant Preservative Mixture (PPM), Kalium Hidroksida (KOH), Asam Chlorida (HCl) serta bahan kimia medium VW (*Vacin & Went*) padat.

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.

Persiapan medium tanam. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vacint & Went* (VW) padat dengan penambahan agar-agar sebanyak 7 g/l, sukrosa 30 g/l, dan PPM 0,5 ml/l. Larutan medium yang sudah jadi dipanaskan untuk melarutkan agar-agar kemudian larutan dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 20 ml/botol. Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi, 121 °C selama 15 menit.

Persiapan medium seleksi. Medium *Vacint & Went* yang sudah disterilkan, ditambah asam salisilat dengan konsentrasi 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm, 115 ppm serta kontrol. Sebelum digunakan, medium diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar (25 °C). Apabila dalam waktu 7 hari tidak terjadi kontaminasi pada medium, maka medium dapat digunakan.

Penanaman planlet dalam medium seleksi asam salisilat. Planlet-planlet dari botol kultur dikeluarkan dengan *scalpel* steril satu-persatu dan planlet dipilah satu-satu. Planlet dicuci dengan alkohol dan dibilas dengan akuades

steril pada cawan petri berdiameter 10 cm. Planlet 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.

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 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

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 2.

Tabel 2. Tingkat Ketahanan tanaman menurut Wibowo (2002)

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

Keterangan : IP = Intensitas Penyakit

Analisis 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. Tiap sel epidermis (E) ditandai (x), stomata (S) ditandai dengan (O). Indeks stomata dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

(Mahesha, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengimbasan asam salisilat telah dilakukan pada *P. amabilis* secara *in vitro* dengan menanam planlet anggrek bulan yang sudah diinduksi dengan asam salisilat konsentrasi 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm, 115 ppm, dan kontrol pada medium VW selama tiga minggu. Planlet yang berwarna hijau dan hijau cokelat dikategorikan sebagai planlet yang hidup, dan planlet yang berwarna cokelat dikategorikan sebagai planlet yang telah mati. Berdasarkan Tabel 3 persentase jumlah planlet hidup pada konsentrasi 0 ppm, 85 ppm, 95 ppm, 105 ppm dan 115 ppm adalah 100 % hidup. Hal ini menunjukkan bahwa planlet anggrek bulan tahan terhadap asam salisilat. Selama masa pengimbasan, dilakukan pengamatan visualisasi planlet yaitu pengamatan pada warna planlet (hijau, hijau cokelat, atau cokelat). Pengamatan terhadap persentase visualisasi planlet anggrek bulan yang diseleksi dengan asam salisilat pada masing-masing konsentrasi disajikan pada Tabel 4. Berdasarkan Tabel 4 diketahui bahwa selama masa inkubasi tiga minggu, sebagian planlet mengalami perubahan warna dari warna hijau menjadi hijau cokelat karena pengaruh dari asam salisilat, namun tidak ada planlet yang berwarna cokelat yang dikategorikan mati.

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

Konsentrasi asam salisilat (ppm)	Persentase Planlet pada Minggu (%)		
	I	II	III
0	100	100	100
85	100	100	100
95	100	100	100
105	100	100	100
115	100	100	100

Tabel 4. Visualisasi planlet *P. amabilis* dalam medium VW hasil pengimbasan AS secara *in Vitro*

Konsentrasi asam salisilat (ppm)	Persentase dan Visualisasi Planlet pada Minggu (%)		
	I	II	III
0	H : 100	H : 100	H : 100
85	H : 100	H : 100	H : 80 HC : 20
95	H : 100	H : 80 HC : 20	H : 80 HC : 20
105	H : 100	H : 80 HC : 20	H : 60 HC : 40
115	H : 100	H : 60 HC : 40	H : 60 HC : 40

Keterangan: H : Hijau

HC : Hijau dengan bagian tertentu berwarna cokelat

C : Cokelat atau *browning*

Berdasarkan pengamatan pada planlet *P. amabilis* setelah inokulasi *Fo*, gejala daun layu muncul pada hari ke-3 setelah inokulasi yaitu pada konsentrasi 0 ppm (kontrol), 85, dan 95 ppm. Pada konsentrasi 105 dan 115 ppm gejala daun layu muncul pada hari ke-6. Gejala tersebut merupakan karakteristik dari layu *Fusarium* (Nurcahyani, 2012), sehingga dapat dilakukan perhitungan persentase daun layu atau kuning. Berdasarkan Tabel 5 diketahui bahwa gejala daun layu atau kuning yang muncul pada hari ke-3 setelah inokulasi menunjukkan bahwa persentase daun layu atau kuning pada kontrol dan perlakuan 85 dan 95 ppm telah mencapai rata-rata 10 %, sedangkan pada konsentrasi 105 dan 115 ppm baru menunjukkan gejala daun layu atau kuning pada hari ke-6 dengan persentase 10 %.

Peningkatan persentase daun layu atau kuning terjadi pada kontrol, 85, dan 95 ppm di hari ke-6. Pada konsentrasi 105 ppm terjadi peningkatan persentase daun layu atau kuning pada hari ke-12. Pada konsentrasi 115 ppm tidak menunjukkan adanya peningkatan daun layu atau kuning sampai hari ke 15. Selanjutnya, berdasarkan skoring terhadap gejala daun layu atau kuning yang muncul dapat

diketahui persentase intensitas penyakit dan kriteria ketahanan masing-masing perlakuan.

Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui bahwa pada hari ke-15, intensitas penyakit tertinggi ditunjukkan oleh kontrol (100 %), dan konsentrasi 85 ppm memiliki nilai 45 % dan 95 ppm memiliki nilai 30 % sehingga dinyatakan moderat terhadap layu *Fusarium*. 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 %. Konsentrasi 105 ppm mampu menurunkan intensitas penyakit sebesar 15 % dan konsentrasi tertinggi (115 ppm) lebih mampu menurunkan intensitas penyakit hingga 10 %. Hal ini membuktikan bahwa asam salisilat mampu mengimbas ketahanan planlet anggrek bulan terhadap penyakit layu *Fusarium*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Nurcahyani *et al.*, (2012) yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi asam fusarat 110 ppm tertinggi mampu mengimbas ketahanan planlet vanili terhadap layu *Fusarium* dan menurunkan intensitas penyakit sebesar 25 % dan meningkatkan standar ketahanan terhadap busuk batang dari moderat ke tahan.

Tabel 5. Persentase daun layu atau kuning setelah inokulasi *Fo* pada setiap perlakuan asam salisilat

Perlakuan	Persentase daun layu atau kuning pada hari pengamatan ke:					
	0	3	6	9	12	15
0	0	10	30	60	60	100
85 ppm	0	10	15	30	45	45
95 ppm	0	10	15	15	30	30
105 ppm	0	0	10	10	15	15
115 ppm	0	0	10	10	10	10

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

Perlakuan	Hari Pengamatan									
	3		6		9		12		15	
	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan	IP (%)	Kriteria Ketahanan
0	10	Tahan	30	Moderat	60	Rentan	60	Rentan	100	Rentan
85 ppm	10	Tahan	15	Tahan	30	Moderat	45	Moderat	45	Moderat
95 ppm	10	Tahan	15	Tahan	15	Tahan	30	Moderat	30	Moderat
105 ppm	0	Tahan	10	Tahan	10	Tahan	15	Tahan	15	Tahan
115 ppm	0	Tahan	10	Tahan	10	Tahan	10	Tahan	10	Tahan

Hasil penelitian ini juga didukung pernyataan Agrios (2005) yang menyatakan bahwa ekspresi dari pengimbasan ketahanan adalah dengan menurunnya intensitas penyakit.

Pengaruh pengimbasan asam salisilat terhadap planlet anggrek bulan dapat diketahui melalui analisis stomata. Jumlah stomata tanaman tidak berubah, tetapi indeks stomata tanaman dapat berubah dengan suatu perlakuan seperti pengimbasan asam salisilat (Susilowati, 2015). Berdasarkan Tabel 7 menunjukkan bahwa hasil indeks stomata daun planlet *P. amabilis* dengan penanaman pada medium VW yang ditambahkan asam salisilat dengan berbagai konsentrasi menunjukkan hasil yang semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asam salisilat. Perubahan indeks stomata daun diduga karena pengaruh kondisi lingkungan tanaman.

Lestari (2011) melaporkan bahwa indeks stomata yang lebih tinggi dalam kondisi lingkungan yang penuh tekanan akan menyebabkan tanaman mudah layu karena peningkatan jumlah stomata di organ daun dan peningkatan laju transpirasi. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Andari (2016) bahwa analisis stomata daun planlet *Spathoglottis plicata* yang di tanam pada medium VW pada konsentrasi asam fusarat 10, 20, 30, dan 40 ppm mampu memberikan pengaruh dalam meningkatkan indeks stomata dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan indeks stomata sejalan dengan semakin meningkatnya cekaman AF. Hasil penelitian Nurcahyani (2013), planlet vanili yang diberi perlakuan asam fusarat dan tahan terhadap *Fusarium oxysporum* mempunyai indeks stomata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 7. Indeks Stomata Daun Planlet *P. Amabilis*

Konsentrasi Asam Salisilat (ppm)	Indeks Stomata (%)
0	1,745 ± 0,089 ^a
85	2,239 ± 0,195 ^a
95	2,418 ± 0,394 ^a
105	2,707 ± 0,353 ^a
115	3,205 ± 0,195 ^b

Keterangan : Nilai-nilai yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf nyata 5 %

KESIMPULAN

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 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si selaku pembimbing karya tulis ilmiah yang memberikan arahan dan masukan serta telah mendukung dan memfasilitasi penelitian ini hingga selesai. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dra. Tundjung Tripeni Handayani., M.S. dan Ibu Dra. Yulianty, M.Si. yang telah memberikan bimbingan dalam menulis karya tulis ini.

DAFTAR PUSTAKA

Agrios GN. 2005. *Plant Pathology, 5th ed.* Elsevier Academic Press. California.

Andari G, Endang N, dan Rochmah A. 2016. Analisis Lignin dan Indeks Stomata Anggrek Tanah (*Spathoglottis plicata*) Hasil *Induced Resistance* terhadap *Fusarium oxysporum* Secara *In Vitro*. Prosiding SEMIRATA Bidang MIPA.

Chung JW, LW Chen, JH Huang, HC Huang. 2011. A new 'forma specialis' of *Fusarium solani*

causing leaf yellowing of *Phalaenopsis*. *Plant Pathology*. Vol. 60: 244-252.

Hadisutrisno B. 1995. Pengendalian Hayati Penyakit Busuk Batang Vanili. *Buletin Azolla*. Vol. 2: 15-21.

He CY, Hsiang T, and Wolyn DJ. 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.

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

Khaterine dan Kasiandari RS. 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.

Lestari EG. 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.

Nurcahyani E, Issirep S, Bambang H, dan E Suharyanto 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. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilia planifolia* Andrews) Hasil Seleksi *In*

Vitro dengan Asam Fusarat Terhadap *Fusarium oxysporum f.sp. vanillae*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Desertasi (Tidak dipublikasikan)

Prayogo DM, Kartika G, dan Endang S. 2020. Pengenalan Jenis Bunga Anggrek Menggunakan Metode Color Local Binary Pattern dan Support Vector Machine. *Jurnal Infra*. Vol 8(1).

Puspitaningtyas DM dan Mursidawati. 2010. *Koleksi Anggrek Kebun Raya Bogor*. UPT Balai Pengembangan Kebun Raya-LIPI. Bogor. Vol. 1(2).

Suryanti C, YD, 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. 2015. Seleksi Planlet Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume) Dengan Asam Salisilat Secara *In Vitro* Terhadap Aktivitas Enzim Peroksidase dan Kandungan Klorofil. *Skripsi*. Universitas Lampung.

Wahyuni RE. 2015. Perancangan Sistem Pakar Identifikasi Penyakit dan Hama Tanaman Anggrek dengan Metode Certainty Factor.

Wibowo A. 2002. Pengendalian Penyakit Layu Fusarium pada Pisang dengan Menggunakan Isolate Non Patogenik *Fusarium* sp. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Vol. 6: 65-70.