



Mekanisme

Induced Resistance pada Anggrek



Dr. Drs. R. Soelistijono MP
Ir. Daryanti MP



PENERBIT CV. SARNU UNTUNG

Mekanisme *Induced Resistance* Pada Anggrek

**Dr. Drs. R. Soelistijono MP
Ir. Daryanti MP**



CV. SARNU UNTUNG Penerbit CV. SARNU UNTUNG

Mekanisme Induced Resistance Pada Angrek

Penulis:

Dr. Drs. R. Soelistijono MP
Ir. Daryanti MP

ISBN : 978-602-61658-2-4

Desain sampul dan tata letak:

Yahya Abdulloh

Ukuran Buku 14,8x 21 cm

Penerbit:

CV. Sarnu Untung

Redaksi:

Jalan R. Suprpto, Gg. Pringgondani, RT 07, RW 21,

Purwodadi-Grobogan, Jawa Tengah, 58111

No. HP 085726280111

Email: ntoeng87@yahoo.co.id

Anggota IKAPI (No. 146/JTE/2015)

Cetakan pertama, Mei 2017

Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara

Apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit

~ ii ~

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga buku Ketahanan Terimbas (*Induced Resistance*) Pada Anggrek dapat disusun dan Insya Allah bermanfaat bagi petani anggrek di Indonesia.

Buku ini menjabarkan potensi *Rhizoctonia* mikoriza sebagai agens pengimbas ketahanan (*inducer*) anggrek terhadap patogen jamur *R. solani*. Didalam buku ini mekanisme ketahanan akan dijabarkan secara struktural baik berupa pembentukan lignifikasi maupun kimiawi berupa pembentukan fenol total dan peroksidase yang terjadi pada anggrek *Spathoglottis plicata* yang diimbas.

Dalam kesempatan ini kami mengucapkan banyak terima kasih kepada Kementrian Ristek Dikti yang telah membiayai penelitian tentang ketahanan terimbas (*Induced Resistance*) pada anggrek dengan surat perjanjian No 007/K6/KM/SP2H/PENELITIAN/2017 tanggal 21 April 2017 sehingga kami dapat membuat buku ini sebagai salah satu luarannya. Kami menyadari buku ini banyak sekali kekurangannya, namun kami berharap buku ini dapat digunakan sebagai pegangan bagi mahasiswa didalam mengikuti perkuliahan Ilmu Penyakit Tanaman.

Surakarta, Mei 2017

Penulis

~ iii ~

DAFTAR ISI

Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
BAB I Pendahuluan	1
BAB II Anggrek	6
BAB III <i>RHIZOCTONIA SOLANI</i>	13
BAB IV <i>RHIZOCTONIA MIKORIZA</i>	17
BAB V KETAHANAN TERIMBAS (<i>INDUCED RESISTANCE</i>)..	23
BAB VI MEDIA PENGIMBASAN SECARA <i>IN VITRO</i> ..	43
BAB VII KESIMPULAN	53
DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN	63

BAB I. PENDAHULUAN

Anggrek merupakan salah satu jenis tanaman hias yang memiliki bentuk dan warna bunga yang menarik, tahan lama, dan mempunyai nilai jual yang tinggi sehingga banyak disukai oleh masyarakat luas. Secara alami anggrek berkembang biak dengan biji atau anakan. Biji anggrek kebanyakan tidak memiliki cadangan makanan (endosperm) sehingga membutuhkan asosiasi dengan jamur mikoriza dalam siklus hidupnya. Hal ini disebabkan karena biji anggrek membutuhkan suplai unsur hara dari lingkungannya, yang dapat dipenuhi oleh jamur mikoriza (Smith & Read, 2008).

Berdasarkan tempat hidupnya, anggrek dibagi menjadi 4 kelompok yaitu epifit (yang tumbuh menempel di pohon), saprofit (hidup di sampah/humus), litofit (hidup di batuan), dan terestrial (yang tumbuh di tanah). Anggrek terestrial lebih dikenal sebagai anggrek tanah. Salah satu anggrek tanah yang banyak dibudidayakan di daerah tropis adalah *Spathoglottis* sp. Anggrek *Spathoglottis* yang sudah lama dikenal di Indonesia adalah *Spathoglottis plicata* Blume yang berbunga ungu, ada pula yang berbunga putih dan jarang dibudidayakan sebagai tanaman penghias taman (Anonim., 2006).

Sebagai komoditas ekspor, perkembangan industri anggrek di Indonesia mengalami peningkatan meskipun pada tahun 1998-2000 mengalami penurunan (BPS, 2011). Seiring dengan membaiknya perekonomian pada tahun 2000-an, industri anggrek mulai menunjukkan peningkatan, namun mulai tahun 2007 mulai menurun kembali (Lampiran 1). Peningkatan impor anggrek terjadi pada tahun 2003-2006 dan menurun pada tahun 2007-2008. Ekspor dan impor anggrek Indonesia terdiri atas tiga segmen yaitu, bibit, tanaman, dan bunga potong (Widiastuti, 2010).

Pengembangan potensi anggrek sebagai komoditas ekspor nonmigas sudah banyak dilakukan baik oleh pemerintah maupun swasta. Tetapi usaha ini belum berhasil, diharapkan ekspor anggrek dapat meningkatkan pendapatan petani dan sebagai sumber devisa negara (Widiastuti, 2010). Salah satu kendala dalam budidaya anggrek adalah penyakit yang disebabkan antara lain oleh jamur, bakteri, dan virus (Light, 2004). Patogen tersebut menyerang bagian

tanaman antara lain batang, daun, atau akar.

Jamur patogen yang menginfeksi anggrek adalah *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Fusarium* sp. (Bottom, 2011), *Colletotrichum gloeosporioides*, *Sclerotium rolfsii*, *Cercospora* sp., *Curvularia* sp., dan *Pestalotia* sp. (Anonim., 2008a). Diantara beberapa anggrek, anggrek tanah merupakan anggrek yang mudah terserang patogen. Hal tersebut disebabkan anggrek tanah memiliki perakaran yang langsung bersinggungan dengan tanah sehingga mudah terinfeksi jamur patogen pada saat akar anggrek mulai tumbuh (Arditti, 1992). Beberapa jamur patogen yang sering menyerang akar anggrek tanah adalah *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora palmivora*, dan *S. rolfsii* (Anonim., 2008a) yang sering disebut juga sebagai patogen terbawa tanah (PTT).

Dan diantara berbagai macam jamur patogen terbawa tanah tersebut, *R. solani* merupakan jamur patogen yang paling banyak dikenal menginfeksi anggrek tanah (Light, 2004). Selain menyerang anggrek tanah, *R. solani* juga merupakan patogen yang banyak menyerang anggrek epifit seperti *Phalaenopsis* sp. (anggrek bulan), *Dendrobium* sp. dan *Vanda* sp. Kerusakannya pada anggrek epifit tampak pada akar, daun, dan batang (*pseudobulb*).

Pengendalian penyakit pada anggrek sulit untuk dilakukan. Berbagai cara dapat dilakukan antara lain dengan memotong bagian tanaman yang sakit seperti daun, batang atau akar, kemudian dibuang dan bekas luka potongan disemprot dengan fungisida (Anonim., 2008a). Akan tetapi cara ini kurang efektif, karena dapat menghambat pertumbuhan jamur mikoriza yang mampu berasosiasi dengan akar. Oleh karena itu diperlukan cara pengendalian yang lain, salah satunya dengan pengendalian secara biologi. Pengendalian yang sudah dilakukan, yaitu dengan memotong bagian tanaman yang sakit dan bekas potongan disemprot dengan fungisida belum member hasil yang maksimal. Metode yang efektif, aman, dan efisien belum ditemukan.

Salah satu cara pengendalian terhadap patogen terbawa tanah adalah menggunakan pengendalian hayati, seperti mekanisme pengimbasan ketahanan. Pengimbasan ketahanan (*Induced resistance*) adalah mekanisme ketahanan dengan cara inokulasi tanaman menggunakan berbagai agens hayati yang dapat

menyebabkan terjadinya peningkatan ketahanan terhadap inokulasi berikutnya oleh patogen utama (Agrios, 2005). Pengendalian penyakit dengan pengimbasan ketahanan memiliki kelebihan yaitu bersifat ramah lingkungan dan sifat ketahanannya bersifat sistemik. Salah satu cara mekanisme pengimbasan ketahanan yang memberikan prospek yang baik adalah penggunaan jamur mikoriza, seperti *Rhizoctonia* mikoriza.

Rhizoctonia mikoriza dapat digunakan untuk pengimbasan ketahanan karena selain merupakan salah satu anggota kelompok *Rhizoctonia* spp. yang mampu berasosiasi dengan akar anggrek, juga karena memiliki kemampuan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap *R. solani* (Cardoso & Echandi, 1987). Secara umum *Rhizoctonia* spp. dapat dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan jumlah inti selnya yaitu: uninukleat, binukleat, dan multinukleat (Otero et al., 2002).

Pada umumnya *R. solani* bersifat endemik dan menyebabkan tanaman menjadi kerdil, dan mati. Sampai saat ini belum ada laporan yang secara pasti menyebutkan penggunaan *Rhizoctonia* mikoriza dalam pengimbasan ketahanan tanaman pada anggrek terhadap penyakit busuk akar yang disebabkan oleh *R. solani* secara *in vitro*. Oleh karena itu, dianggap perlu untuk mengkaji tentang peranan *Rhizoctonia* mikoriza sebagai pengimbas ketahanan secara *in vitro*.

BAB II. ANGGREK

Anggrek merupakan salah satu jenis tanaman hias yang memiliki bentuk dan warna bunga yang menarik serta tahan lama sehingga banyak disenangi oleh masyarakat luas. Indonesia menduduki tempat kedua setelah Brasil, sebagai sumber anggrek spesies. Dari sekitar 26.000 spesies anggrek di dunia, sekitar 5000 hingga 6000 jenis anggrek diantaranya terdapat di Indonesia. Sebagian besar diantaranya merupakan jenis anggrek endemik di Indonesia seperti *Vanda* sp., *Phalaenopsis* sp., *Coelogyne* sp., dan *Phapiopedilum* sp.

Sebagai tanaman hias, anggrek sangat disukai karena bunganya yang indah dan tahan lama, sehingga bunga anggrek mempunyai nilai ekonomi yang tinggi. Beberapa anggrek yang disukai karena bunganya yang indah antara lain anggrek bulan (*Phalaenopsis* sp.), anggrek vanda (*Vanda* sp.), anggrek dendrobium (*Dendrobium* sp.), dan anggrek *Spathoglottis* sp.

Selain warna bunga yang menarik, anggrek juga disukai karena mempunyai nilai jual yang tinggi. Secara alami anggrek berkembang biak dengan biji atau anakan. Negara yang paling banyak memproduksi anggrek adalah Thailand. Beberapa anggrek yang banyak dibudidayakan di Thailand berasal dari Indonesia, akan tetapi di Indonesia sendiri beberapa spesies anggrek tersebut bersifat langka. Sebagai contoh varietas *Vanda* dan *Mokara* dari Thailand, induknya adalah *Vanda tricolor* yang berasal dari Indonesia.

Anggrek epifit adalah anggrek yang tumbuh menempel pada pohon lain/media tertentu tanpa merugikan tanaman inangnya. Salah satu anggrek epifit yang merupakan sumber plasma nutfah di Indonesia adalah *Vanda* (*Vanda* sp.) yang berasal dari lereng gunung Merapi. Sebagai salah satu anggrek spesies yang asli dari Indonesia adalah *Vanda* sp. Anggrek *V. tricolor* yang merupakan anggrek endemik di lereng gunung Merapi, sampai sekarang sangat sulit ditemukan di habitatnya lagi. Oleh Departemen Perdagangan, anggrek *V. tricolor* dikategorikan kedalam tanaman yang termasuk Apendik 2 yaitu tanaman yang bersifat langka dan tidak dapat diperdagangkan kecuali hasil budidaya. *Vanda* sp. merupakan salah satu anggrek yang tergolong tipe anggrek monopodial yang dicirikan oleh adanya titik tumbuh diujung batang, pertumbuhan lurus ke atas pada satu batang, bunga keluar dari sisi batang diantara dua ketiak daun. Salah satu spesies anggrek *Vanda* sp. yang merupakan anggrek endemik di Indonesia adalah

Vanda tricolor yang ditemukan oleh Lindley seorang ahli botani berkebangsaan Inggris pada tahun 1848.

Anggrek *V. tricolor* bersifat langka karena produktivitasnya yang rendah, hal ini disebabkan fase pembungaanya yang relatif lama, dan faktor lingkungan yang tidak menguntungkan seperti cekaman air yang rendah serta adanya erupsi gunung Merapi, sehingga menyebabkan fase pembungaannya (fase generatif) terhambat. Dari berbagai faktor tersebut, yang paling utama adalah terjangan awan panas erupsi Merapi pada tahun 1994 menghanguskan habitat asli anggrek tersebut, terutama di kawasan hutan lindung dan cagar budaya Plawangan, Turgo, juga kebakaran pada tahun 2002, dan awan panas erupsi pada tahun 2006 serta terakhir tahun 2010. *V. tricolor* sering dijadikan induk silangan untuk menghasilkan form spot-spot ungu, warna ungu kemerahan pada *labellum*, tandan bunga yang panjang serta jumlah kuntum yang banyak pada *hybrid* keturunannya. Tandan bunga panjangnya 25-40 cm menyangga 12-15 kuntum bunga yang muncul dari ketiak daun. Masing-masing bunganya dapat mencapai garis tengah 9 cm. Dasar bunganya putih keunguan dengan bercak-bercak ungu kemerahan (Gambar 1).



Gambar 1. Bunga anggrek *Vanda tricolor*

Ciri khas *V. tricolor* yang membedakan dengan jenis anggrek lainnya adalah mengeluarkan bau semerbak pada malam hari. Biasanya tanaman itu mekar pada bulan Maret sampai Juni dan bearoma harum. Aroma harum ini nampaknya dipengaruhi pula oleh ketinggian dimana anggrek ini dipelihara. Didataran rendah 200-300 m dpl, aroma harumnya tidak terasa kuat, berbeda dengan didataran tinggi yang aromanya dapat tercium kuat. Dari pengamatan yang dilakukan, ternyata pada kondisi yang optimum, *V. tricolor* dapat berbunga terus menerus sepanjang tahun dengan masa mekar yang cukup lama yaitu 20-24 hari.

Salah satu anggrek epifit lain yang merupakan sumber plasma nutfah di Indonesia adalah *Dendrobium macrophyllum* berasal dari lereng gunung Merbabu yang ditemukan oleh Lindley seorang ahli botani berkebangsaan Inggris pada tahun 1848. *D. macrophyllum* merupakan salah satu anggrek yang tergolong tipe anggrek simpodial yang dicirikan oleh adanya bulbus dipangkal batang, pertumbuhan lurus ke atas pada berbagai batang, bunga keluar dari sisi batang diantara dua ketiak daun. Anggrek *D. macrophyllum* tumbuh baik pada ketinggian 800-1700 m diatas permukaan laut, pada hutan-hutan yang agak terbuka dan mampu beradaptasi dengan baik di dataran rendah 200-300 m dpl, dan dapat berbunga dengan sempurna. *D. macrophyllum* memiliki batang berbentuk bundar, panjang dan kokoh, tingginya dapat mencapai 30 cm. Daunnya berbentuk pita agak melengkung dengan ujung daun bersudut tajam.

D. macrophyllum sering dijadikan induk silangan untuk menghasilkan form hijau, warna hijau kemerahan pada *labellum* sehingga sering disebut anggrek Jamrud, tandan bunga yang panjang serta jumlah kuntum yang banyak pada *hybrid* keturunannya. Tandan bunga panjangnya 25-40 cm menyangga 12-15 kuntum bunga yang muncul dari ketiak daun. Masing-masing bunganya dapat mencapai garis tengah 9 cm. Dasar bunganya hijau kekuningan dengan bercak-bercak coklat kemerahan (Gambar 2).



Gambar 2. Bunga anggrek *Dendrobium macrophyllum*

Anggrek terrestrial adalah anggrek yang tumbuh di permukaan tanah dan dikenal sebagai anggrek tanah. Salah satu anggrek tanah yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah *Spathoglottis* sp. *Spathoglottis* tersusun atas 2 kata, yaitu spathe dari bahasa Yunani yang berarti “pedang” dan glottis yang berarti “lidah” (Wuryaningsih, 2008). Anggrek ini diberi nama *Spathoglottis* karena bunga anggrek ini mempunyai labellum (bibir) berbentuk seperti pedang (Gambar 1). Di antara berbagai spesies

Spathoglottis, *S. plicata* merupakan anggrek yang banyak dijumpai di Pulau Jawa dan umum digunakan sebagai tanaman taman atau sebagai tanaman pot (Anonim., 2008b). Disebut *S. plicata* karena memiliki daun yang bergelombang (plicate leaf) (Dressler, 1990). Di Indonesia *S. plicata* dikenal dengan nama anggrek antel-antelan (Sastrapradja et al., 1980).

Ciri khas anggrek *S. plicata* antara lain: berumbi semu kecil, memiliki 4-8 daun yang berlipat membujur (konvulata), bunga tandan menancap pada sisi samping umbi atau pangkal umbi, dan bertangkai panjang. Bunga berwarna ungu dan putih dengan jumlah banyak, jarang sampai agak rapat, berukuran sedang sampai besar, mahkota membuka lebar. Pada waktu muda bunga memiliki daun pelindung yang tampak jelas, daun kelopak dan daun mahkota lebih kurang sama. Bibir bertaju tiga, berkuku dan pada pangkal kuku terdapat penebalan berupa dua tonjolan. Taju samping tegak dan taju tengah berbentuk colet (Dressler, 1990). Anggrek *S. plicata* rentan terhadap *R. solani* (Anonim, 2008b) dan cocok digunakan sebagai model didalam mekanisme pengimbasan ketahanan karena memiliki ciri-ciriantara lain: (1) mudah dibudidayakan, (2) mudah didapat, dan (3) dapat tumbuh dengan cepat.

BAB III. RHIZOCTONIA SOLANI

Penyakit anggrek di Indonesia yang disebabkan oleh jamur patogen antara lain busuk pada akar yang disebabkan oleh *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp., busuk hitam pada akar yang disebabkan oleh *Pythium* sp. dan *Phytophthora* sp., serta layu pada daun yang disebabkan oleh *Fusarium* sp. (Bottom, 2011). Selain itu juga penyakit bercak bulat pada daun atau umbi yang disebabkan oleh *Colletotrichum* sp., bercak cokelat pada daun yang disebabkan oleh *Cercospora* sp., *Colletotrichum* sp., *Septoria* sp., *Phyllosticta* sp., dan bercak cokelat kekuningan yang disebabkan *Pestalotia* sp. (Light, 2004). Di antara berbagai jamur patogen tersebut, yang paling banyak menyerang perakaran anggrek adalah *Rhizoctonia* sp.

R. solani merupakan anggota *Rhizoctonia* spp. yang mampu menginfeksi anggrek dan menyebabkan penyakit busuk pada akar. Gejalanya berupa leher akar membusuk mencapai rimpang dan umbi batang, daun menguning, berkeriput, tipis dan bengkok. Pada umumnya *R. solani* akan menyebabkan tanaman menjadi kerdil dan akhirnya tanaman mati (Anonim., 2008a). Kerusakan oleh *R. solani* terhadap *S. plicata* berupa busuk pada akar dan akhirnya tanaman akan mati dapat dilihat pada Gambar 3 .



Gambar 3. Kerusakan pada akar anggrek tanah yang disebabkan *Rhizoctonia solani*

Menurut Dodman & Flentje (cit. Parmeter, 1970) penetrasi miselium *R. solani* ke dalam tanaman melalui lentisel atau penetrasi miselium menembus lamela tengah di antara sel-sel penyusun jaringan epidermis dan selanjutnya menginfeksi sel di sebelahnya melalui plasmodesma. Pada bagian akar tanaman penetrasi *R. solani* dapat terjadi melalui celah yang terbentuk pada saat pembentukan percabangan akar (Agrios, 2005).

R. solani merupakan jamur kelas Deuteromycetes (Fungi Imperfecti) dalam

kelompok *Mycelia Sterilia* yang meliputi genus *Rhizoctonia* dan *Sclerotium* (Alexopoulos & Mims, 1996). Genus *Rhizoctonia* berdasarkan stadium sempurnanya (teleomorf) dikelompokkan menjadi *Thanatephorus*, *Tulasnella*, dan *Ceratobasidium*. Sistem pengelompokan yang umum digunakan adalah berdasarkan anastomosis group (AG) yang mengelompokkan *R. solani* menjadi 13 kelompok (Carling et al., 2002).

Menurut Barnett & Hunter (1972), Semangun (1996), dan Agrios (2005), *R. solani* memiliki sklerotium berwarna cokelat, bentuknya tidak teratur, miselium lonjong, biasanya terletak pada permukaan tumbuhan inang dan dihubungkan oleh benang-benang miselium bewarna cokelat dengan percabangan membentuk sudut siku-siku dan umum terdapat dalam tanah (Gambar 4).



Gambar 4. Miselium dan sklerotium *Rhizoctonia solani*.

- a: kumpulan sklerotium *Rhizoctonia solani* berwarna kecokelatan,
- b: bentuk sklerotium, (Soelistijono, 2011)

Carling et al. (1999) melaporkan bahwa 23 isolat *R. solani* yang dikoleksi dari tanaman *Pterostylis acuminata*, 20 di antaranya dikelompokkan dalam AG-12 (kelompok anastomosis group pada anggrek) dan sisanya dikelompokkan dalam AG-6. Pada medium kultur, sklerotium AG-12 berwarna cokelat tua. Pengujian kemampuan virulensi pada semai tomat dan gandum akan menyebabkan kerusakan ringan pada bagian akar, tetapi pengujian pada akar lobak (*Raphanus sativus*) dan kubis (*Brassica oleracea*) akan menyebabkan kerusakan yang cukup parah (Carling et al., 1999). Pingqu et al. (2008) melaporkan bahwa 50 isolat yang diperoleh dari 16 lokasi di Jepang merupakan *Thanatephorus cucumeris* (anamorf: *R. solani*) bersifat multinukleat.

BAB IV. RHIZOCTONIA MIKORIZA

Beberapa jenis anggrek tanah mempunyai hubungan yang erat dengan jamur mikoriza (*orchid mycorrhiza*) dalam siklus hidupnya. Hal ini disebabkan karena biji anggrek tanah membutuhkan mikoriza dalam penyediaan unsur hara dari lingkungan untuk perkecambahannya (Smith & Read, 2008). Jamur mikoriza pada anggrek memiliki kemampuan untuk penetrasi hingga ke jaringan korteks akar, mirip dengan kemampuan jamur mikoriza arbuskular (Dressler, 1990). Salah satu jamur mikoriza yang mampu berasosiasi dengan anggrek tanah adalah *Rhizoctonia* mikoriza (Athipunyakom & Manoch, 2008). Selain *Rhizoctonia*, jamur lainnya yang dapat bersimbiosis dengan anggrek tanah adalah genus *Epulorrhiza*, *Moniliopsis*, dan *Ceratorhiza* (Smith & Read, 2008).



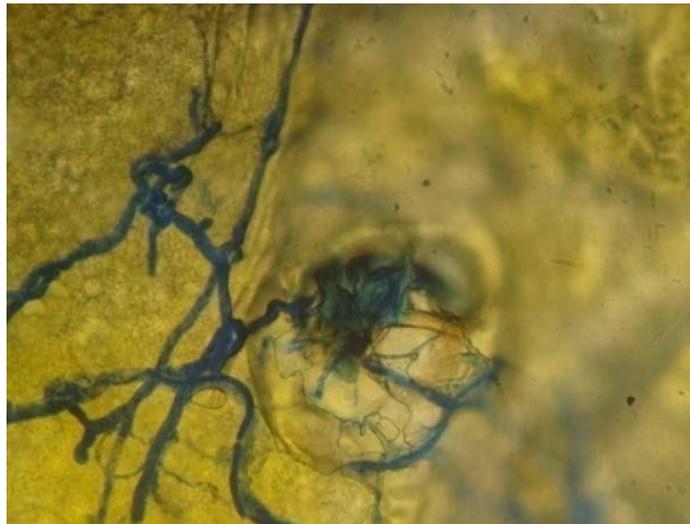
Gambar 5. Koloni, hifa dan sklerotium *Rhizoctonia* mikoriza (Soelistijono,2011)

Anggrek mempunyai tingkat heterotrofik yang bervariasi. Anggrek yang tingkat heterotrofiknya rendah sangat membutuhkan keberadaan mikoriza dalam memperoleh karbohidrat dan nutrisi organik lainnya terutama pada saat persemaian anggrek (Irawati, 2007). Asosiasi *Rhizoctonia* mikoriza dengan *protocorm* anggrek terjadi beberapa hari setelah infeksi (Arditti, 1992). Secara alami beberapa spesies anggrek dapat mengalami suatu mekanisme yang menyebabkan tertundanya perkecambahan bahkan kematian (Smith & Read, 2008). Keberadaan miselium mikoriza yang kompatibel dapat meningkatkan perkecambahan anggrek secara signifikan. Penyebab utamanya belum teridentifikasi, tetapi suatu komponen tambahan, seperti etilen dan berbagai vitamin, diketahui dapat menstimulasi perkecambahan benih anggrek (Rasmussen, 2002).

Menurut Rasmussen (2002, cit. Dearnaley, 2007), jamur mikoriza pada anggrek terdiri atas kelompok *Tulasnellaceae*, *Ceratobasidiaceae*, dan

Sebacinaceae yang termasuk kelompok *Rhizoctonia* spp. Selain kelompok *Rhizoctonia* spp. jamur mikoriza pada anggrek juga meliputi *Thelephoraceae*, *Hymenogasteraceae*, *Pyrenomataceae*, dan *Tuberaceae* (Dearnaley, 2007).

Rhizoctonia mikoriza mampu bersimbiosis dengan jaringan akar anggrek dan membentuk lilitan hifa yang menggumpal pada jaringan korteks akar. Struktur lilitan hifa yang menggumpal disebut peloton (Smith & Read, 2008). Menurut George (2008), peloton adalah hifa intraseluler yang menggumpal dalam jaringan korteks akar dan biasanya hanya ada pada periode tertentu sebelum kemudian mengalami lisis (Gambar 6). Menurut Dressler (1990), peloton merupakan akumulasi bahan-bahan organik meliputi protein, glikogen dan lemak, yang merupakan hasil penyerapan unsur hara dari tanah. Pada saat dibutuhkan, embrio anggrek akan menyerap bahan-bahan organik tersebut untuk pertumbuhannya sehingga peloton akan mengalami lisis.



Gambar 6. Asosiasi *Rhizoctonia* mikoriza dengan akar anggrek.
a: miselium *Rhizoctonia* mikoriza,
b: struktur peloton (Soelistijono, 2011)

Studi anastomosis group (AG) oleh Ogoshi et al. (1983) menunjukkan bahwa kelompok *Rhizoctonia* mikoriza binukleat seperti kelompok AG-A sampai AG-O di Jepang ataupun kelompok CAG-1 sampai CAG-7 di Amerika Utara memiliki kesamaan morfologi. Baik kelompok *Rhizoctonia* mikoriza yang di Jepang maupun di Amerika Utara tersebut dimasukkan ke dalam genus *Ceratobasidium*.

Penelitian yang dilakukan oleh Hyakumachi et al. (2005) menunjukkan bahwa

Rhizoctonia mikoriza yang diisolasi dari bunga mawar di berbagai tempat di Jepang termasuk dalam kelompok binukleat. Berdasarkan anastomosis grupnya Rhizoctonia mikoriza ini dikelompokkan dalam kelompok anastomosis grup (AG) yang baru, yaitu AG-T dan AG-U. Demikian juga penelitian yang dilakukan oleh Manoch et al. (2008) menunjukkan adanya asosiasi antara akar beberapa anggrek tanah dengan *Rhizoctonia* spp. yang diisolasi dari berbagai tempat di Thailand dan semua isolat tersebut termasuk dalam kelompok binukleat.

Perbedaan Rhizoctonia mikoriza dengan *R. solani* antara lain, sebagian besar *Rhizoctonia* mikoriza dimasukkan ke dalam kelompok binukleat (Otero et al., 2002), sedangkan *R. solani* dimasukkan ke dalam kelompok multinukleat, walaupun beberapa ada yang bersifat uninukleat (Cubeta & Vilgalys, 1997). Hal lain yang membedakan antara *Rhizoctonia* mikoriza dengan *R. solani* adalah hifa *Rhizoctonia* mikoriza dapat berasosiasi dengan akar anggrek di jaringan korteks akar dan membentuk struktur peloton (Dressler, 1990), sedangkan hifa *R. solani* pada saat menginfeksi tanaman akan merusak epidermis akar (Agrios, 2005).

Interaksi antara *Rhizoctonia* mikoriza dengan biji anggrek dapat menyebabkan beberapa kemungkinan, yaitu: (1) membentuk peloton dan simbiosis antara keduanya bersifat mutualisme, (2) menyebabkan kematian biji anggrek karena adanya infeksi hifa *Rhizoctonia* mikoriza dan simbiosisnya bersifat parasitik, atau (3) tidak saling merugikan karena mikoriza terletak di ruang antarsel jaringan biji anggrek (Smith & Read, 2008).

Asosiasi *Rhizoctonia* mikoriza dan tanaman anggrek terjadi pada tahapan perkembangan embrio, selanjutnya terjadi pembentukan tunas dan akar yang dikenal dengan tahapan pembentukan *protocorm*. Pada medium kultur jaringan *protocorm* akan berkembang menjadi tanaman sempurna yang dikenal sebagai plantlet, dan jaringan hifa *Rhizoctonia* mikoriza akan tetap berada di bagian kortek akar anggrek dan membentuk struktur peloton (Senthilkumar et al., 2001).

Penelitian oleh Athipunyakom & Manoch (2008) memperlihatkan bahwa kelompok *Rhizoctonia* spp. mampu berasosiasi dengan perakaran anggrek *S. plicata* yang dikoleksi dari berbagai tempat di Thailand dan mampu membentuk struktur peloton. Penelitian yang dilakukan oleh Ma et al. (cit. Dearnaley, 2007)

di Malaysia menunjukkan bahwa kelompok *Rhizoctonia* spp. yang mampu bersimbiosis dengan *S. plicata* adalah dari famili *Tulasnellaceae*.

Hasil pengamatan yang dilakukan Senthilkumar et al. (2000) dengan menggunakan mikroskop fluoresen pada akar anggrek *S. plicata* yang ditumbuhkan di dalam pot dan diberi inokulum *Rhizoctonia* spp. (teleomorf: *Eupholorhiza repens*), menunjukkan adanya kemampuan *E. repens* untuk membentuk struktur peloton yang kemudian mengalami lisis.

BAB V. KETAHANAN TERIMBAS (*INDUCED RESISTANCE*)

Pengendalian patogen terbawa tanah dengan inokulasi pada tanaman menggunakan berbagai agens hayati dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ketahanan terhadap inokulasi berikutnya oleh patogen utama. Salah satu pengendalian hayati patogen terbawa tanah adalah menggunakan mekanisme ketahanan terimbas atau induced resistance (Agrios, 2005).

Mekanisme ketahanan terimbas merupakan mekanisme yang sangat kompleks, meliputi pengenalan tanaman terhadap patogen (recognition), lignifikasi, reaksi hipersensitif, serta produksi fitoaleksin dan PR-protein (*pathogenesis-related protein*) (Agrawal et al., 1999). Menurut Agrios (2005), ketahanan terimbas bersifat tidak spesifik terhadap jenis patogen. Pengimbasan ketahanan pada tanaman akan menyebabkan terjadinya lignifikasi, suberin, kutin, dan papilla pada struktur jaringan tanaman. Selain terjadinya perubahan struktur jaringan tanaman, juga akan terjadi perubahan ketahanan secara kimia meliputi pembentukan senyawa fenol, fitoaleksin yaitu senyawa yang dibentuk oleh tanaman tahan sebagai tanggapan terhadap infeksi patogen, dan PR-protein yaitu protein yang dikeluarkan oleh tanaman terhadap infeksi patogen (Vidhyasekaran, 1997).

Dressler (1990) menyatakan bahwa *Rhizoctonia* mikoriza pada anggrek mempunyai fungsi yang sama dengan mikoriza arbuskula. Penelitian oleh Pozo dan Aguilar (2007) menunjukkan adanya mikoriza arbuskula dapat mengurangi keparahan penyakit yang disebabkan oleh jamur patogen terbawa tanah pada akar seperti *Rhizoctonia*, *Fusarium*, dan *Verticillium*, sehingga berdasarkan penggolongan Dressler (1990), *Rhizoctonia* mikoriza diduga memiliki kemampuan mengurangi indeks keparahan penyakit seperti halnya mikoriza arbuskula.

Rhizoctonia spp. binukleat (BNR/BN *Rhizoctonia*) tidak mempunyai kemampuan penghambatan secara antagonis terhadap *R. solani* dengan metode *dual culture* pada medium agar. Perlakuan prainokulasi BNR pada semai buncis dapat menghambat infeksi berikutnya oleh *R. solani*. Hasil tersebut diduga bahwa prainokulasi BNR dapat mengimbas ketahanan semai buncis terhadap *R. solani* di bagian yang terinfeksi (Cardoso & Echandi, 1987). Isolat *Rhizoctonia* spp. binukleat juga dapat menghambat gejala rebah semai pada tanaman cabai (*Capsicum annum*) yang disebabkan oleh *R. solani* kelompok AG 4

dan AG 8 (Harris et al., 1993). Penelitian yang dilakukan oleh Hare & Neate (2008) di rumah kaca menunjukkan bahwa beberapa isolat *Rhizoctonia* spp. nonpatogenik (np-R) mampu mengurangi penyakit rebah semai pada kapas, dan semai kapas yang diinokulasi *Rhizoctonia* spp. nonpatogen (np-R) mampu tumbuh lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diinokulasi. Akan tetapi sampai saat ini belum diketahui mekanisme ketahanan yang terjadi didalam proses penghambatan infeksi oleh *R. solani*.

Salah satu parameter terjadinya mekanisme ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen adalah peningkatan senyawa fenol (Vidhyasekaran, 1997). Penelitian yang dilakukan Hunter (cit. Vidhyasekaran, 1997) menunjukkan bahwa peningkatan fenol pada semai kapas yang diinokulasi *R. solani* dan konsentrasi fenol tertinggi terjadi pada hari ke-6 sesudah inokulasi. Peningkatan senyawa fenol seperti asam sinamat, asam kumarat, asam kafeat, asam ferulat, asam sinapat dan monomer fenol pembentuk lignin (alkohol sinapil, koniferil, dan p -kumaril) selanjutnya diikuti oleh pembentukan enzim peroksidase yang dapat dijadikan indikasi terjadinya lignifikasi (Lea & Leegood, 1999).

Selain peningkatan senyawa fenol, mekanisme ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen yang lainnya adalah peningkatan enzim peroksidase (termasuk kelompok PR-protein). Linthors (cit. Vidhyasekaran, 1997) menyebutkan PR-protein adalah protein yang dikeluarkan oleh tanaman sebagai tanggapan terhadap beberapa senyawa pengimbas (inducer). Infeksi tanaman oleh berbagai patogen seperti jamur, bakteri, virus, dan viroid juga dapat menyebabkan terbentuknya PR-protein.

Secara umum PR-protein dikelompokkan menjadi 14 kelompok berdasarkan senyawa penyusunnya (Vidhyasekaran, 1997). Pengelompokan PR-protein meliputi:

1. PR1, terdiri atas 3 polipeptida yang dikenal dengan PR1a, PR1b, PR1c.
2. PR2 yaitu β -1,3-glukanase, yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu (a) enzim-enzim yang terdapat dalam vakuola, (b) PR-2, PR-N dan PR-O yang terdapat dalam jaringan eksternal daun, dan (c) enzim PR-Q yang terdapat dalam jaringan apoplas.
3. PR3 yaitu kitinase, ditemukan pertama kali pada ekstrak biji kacang almond,

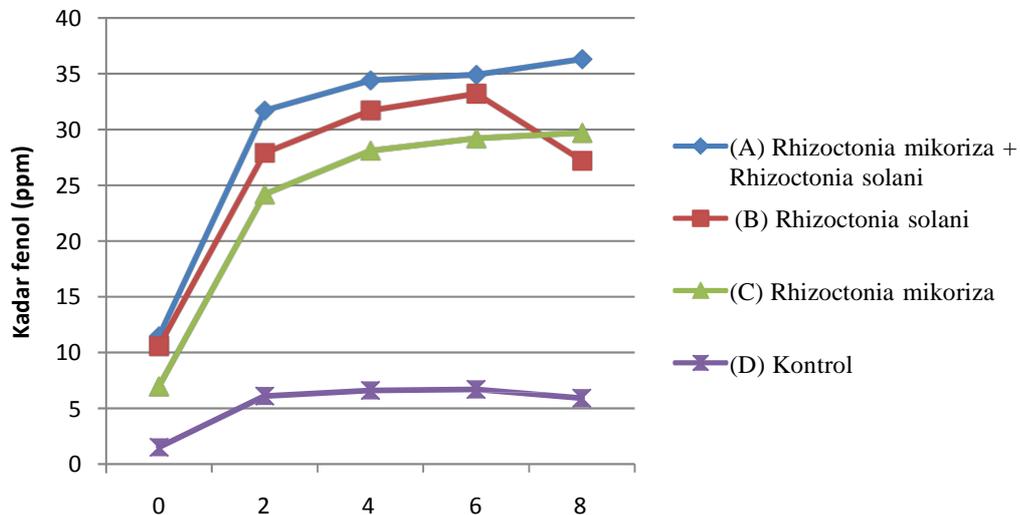
kemudian juga ditemukan pada buncis, gandum, pepaya, karet, kapri, dan tomat. Berdasarkan struktur penyusunnya dapat dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kitinase I, II, III, dan IV.

4. PR4, merupakan protein yang memiliki struktur mirip dengan kelompok kitinase IV.
5. PR5, merupakan protein dengan kandungan sistein 8%, berat molekul dan fungsi imunologi yang mirip dengan thaumatin (TL-protein).
6. PR6, protein yang memiliki struktur dan serologi mirip dengan protein PR5 (TL- protein) tetapi memiliki fungsi seperti β -1,3-glukanase dan kitinase.
7. PR7, yaitu protein yang terdapat di jaringan intraseluler biji.
8. PR8, protein dengan berat molekul rendah dan memiliki kandungan sistein yang tinggi.
9. PR9, protein dengan kandungan glisin yang tinggi.
10. PR10, yang diidentifikasi sebagai proteinase, berupa enzim dengan berat molekul tinggi yang ditemukan di vakuola dan ruang interseluler daun tomat yang terinfeksi *Fulvia fulva* (*Cladosporium fulvum*) (Vidhyasekaran, 1997).
11. PR11, diidentifikasi sebagai protein antijamur pada gandum, mentimun, dan tomat yang terinfeksi *Fusarium oxysporum*.
12. PR12, diidentifikasi sebagai enzim α -amilase yang ditemukan pada daun tembakau yang terinfeksi virus TMV.
13. PR13, diidentifikasi sebagai enzim peroksidase yang mampu mengubah alkohol sinapil, koniferil, dan kumaril menjadi lignin, ditemukan pada kentang, tomat, tembakau, dan kacang tanah.
14. 1,3;1-4- β -glukanase, dikenal sebagai PR-protein pada tanaman monokotil.

Salah satu indikator adanya mekanisme ketahanan pada anggrek hasil pengimbasan adalah terjadinya peningkatan senyawa fenol pada akar yang diinokulasi dengan *R. solani*. Sebelum dilakukan pengamatan analisis senyawa fenol total pada akar anggrek (*S. plicata*) untuk masing-masing perlakuan, dilakukan pengukuran kurva standar terlebih dahulu menggunakan asam galat.

Garis regresi dari asam galat sebagai kurva standar memiliki nilai korelasi $R^2 = 0,994$ yang menunjukkan persamaan tersebut bersifat linier antara konsentrasi

ppm dengan absorbansi. Berdasarkan kurva standar asam galat tersebut maka dapat diketahui kandungan fenol total dari masing-masing perlakuan berdasarkan garis regresinya (Gambar 7).



Gambar 7. Kadar senyawa fenol total pada akar *Spathoglottis plicata* yang tidak dimbas dan diimbas oleh *Rhizoctonia mikoriza*.

Keterangan: (A) Peningkatan fenol total 32-37 ppm, (B) Peningkatan fenol total 27-34 ppm, (C) Peningkatan fenol total 24-30 ppm, dan (D) Peningkatan fenol total 6-7 ppm

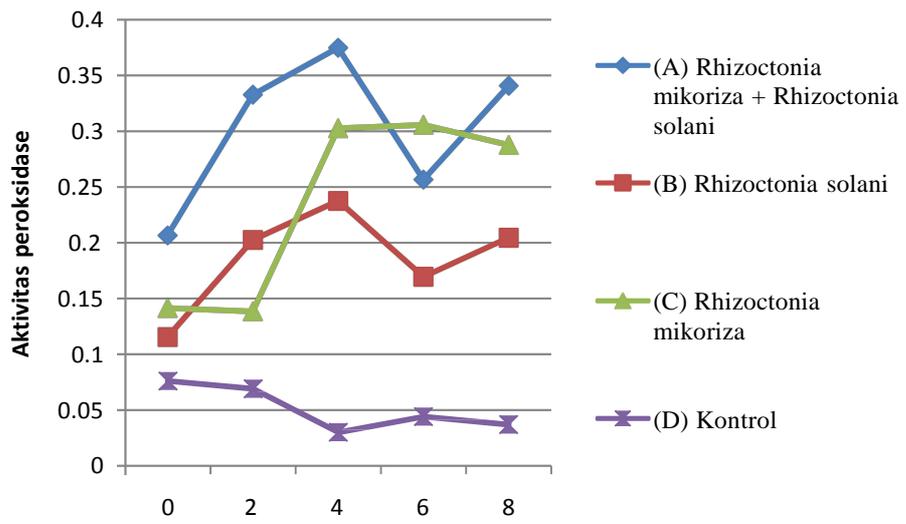
Berdasarkan Gambar 7 terlihat bahwa perlakuan A yaitu *S. plicata* yang diimbas oleh *Rhizoctonia mikoriza* mengalami peningkatan kandungan fenol total di dalam akar *Spathoglottis plicata* pada 2, 4, 6 dan 8 hari sesudah diinokulasi dengan *R. solani*. Kandungan fenol total tertinggi terjadi pada hari ke-8 sesudah diinokulasi dengan *R. solani* yaitu berkisar 36,3 ppm. Dari data tersebut terlihat bahwa preinokulasi *Rhizoctonia mikoriza* ke bagian akar *S. plicata* mampu mengimbas akar di dalam peningkatan senyawa fenol total. Peningkatan senyawa fenol total oleh *S. plicata* merupakan bagian dari peningkatan ketahanan tanaman dalam menahan laju infeksi *R. solani*. Vidhyasekaran (1997) menyatakan bahwa salah satu parameter terjadinya peningkatan ketahanan tanaman terhadap patogen adalah meningkatnya senyawa fenol total.

Pada perlakuan B yaitu *S. plicata* yang diinokulasi dengan *R. solani* tanpa diimbas oleh *Rhizoctonia mikoriza* terlebih dahulu mengalami peningkatan kandungan fenol total 2, 4 dan 6 hari sesudah inokulasi *R. solani*,

selanjutnya mengalami penurunan pada hari ke-8. Peningkatan tertinggi terjadi pada hari ke-6 sesudah inokulasi dengan *R. solani* yaitu berkisar 33,2 ppm yang selanjutnya mengalami penurunan pada hari ke-8 berkisar 27,2 ppm. Dari data tersebut terlihat bahwa tanpa adanya prainokulasi *Rhizoctonia* mikoriza terlebih dahulu, maka peningkatan kandungan fenol total tidak terlalu tinggi dibandingkan bila diinokulasi *Rhizoctonia* mikoriza terlebih dahulu sebelum diinokulasi *R. solani*, bahkan mengalami penurunan pada hari ke-8.

Hal yang berbeda terjadi pada perlakuan C yaitu *S. plicata* yang hanya diimbasi oleh *Rhizoctonia* *R. solani* mikoriza akan mengalami peningkatan kandungan fenol total 2, 4, 6 dan 8 hari sesudah diimbasi, dengan kandungan fenol total tertinggi berkisar 29,7 ppm. Nilai kandungan fenol total perlakuan C yang lebih rendah dibandingkan perlakuan B dan A menunjukkan *Rhizoctonia* mikoriza yang diprainokulasikan tidak begitu banyak berperan di dalam meningkatkan kandungan fenol total. Hal tersebut membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi senyawa fenol total pada akar *S. plicata* dapat meningkat bila tanaman terinfeksi oleh patogen. Penelitian yang dilakukan oleh Hunter (cit. Vidhyasekaran, 1997) menunjukkan hal yang sama yaitu peningkatan fenol total pada semai kapas yang diinokulasi dengan *R. solani* dan konsentrasi fenol total tertinggi terjadi pada hari ke-6 sesudah inokulasi. Hasil fenol total terendah diperoleh pada *S. plicata* yang tidak diimbasi *Rhizoctonia* mikoriza maupun diinokulasi *R. solani* dengan konsentrasi fenol sebesar 9,67 ppm.

Aktivitas peroksidase sebagai mekanisme ketahanan pada anggrek *S. plicata* terhadap *R. solani* yang diukur menggunakan metode Saravanan (2004), dapat dijadikan contoh mekanisme peroksidase ini. Anggrek diamati pada masing-masing perlakuan (A, B, C, dan D) meliputi akar sebelum diinokulasi (0 hari), 2, 4, 6 dan 8 hari setelah diinokulasi dengan *R. solani*. Pengukuran aktivitas peroksidase pada perlakuan diprainokulasi *Rhizoctonia* mikoriza dan diinokulasi dengan *R. solani* memperlihatkan terjadinya peningkatan peroksidase (Gambar 8).



Hari sesudah diinokulasi *Rhizoctonia solani*

Gambar 8. Aktivitas peroksidase *Spathoglottis plicata* yang tidak diimbas maupun diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza.

Keterangan: (A) Aktivitas peroksidase 0,21-0,37 menit/mg protein, (B) Aktivitas peroksidase 0,12-0,24 menit/mg protein, (C) Aktivitas peroksidase 0,14-0,31 menit/mg protein, dan (D) Aktivitas peroksidase 0,07 menit/mg protein

Perlakuan A yaitu *S. plicata* yang diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza mengalami peningkatan kandungan peroksidase pada 2 dan 4 hari sesudah diinokulasi dengan *R. solani*, selanjutnya mengalami penurunan kandungan peroksidase pada hari ke-6 dan meningkat lagi pada hari ke-8 (Gambar 7). Kandungan peroksidase tertinggi terjadi pada hari ke-4 yaitu sebesar 0,375 menit/mg protein, yang menunjukkan kemampuan dari *S. plicata* memproduksi peroksidase tertinggi pada hari ke-4. Hal tersebut menunjukkan bahwa akar *S. plicata* yang sudah diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza mengalami peningkatan aktivitas peroksidase tertinggi pada hari ke-4 setelah diinokulasi dengan *R. solani*, setelah itu aktivitas peroksidase mengalami penurunan pada hari ke-6 dan meningkat lagi pada hari ke-8. Peningkatan aktivitas peroksidase secara signifikan pada hari ke-2 dan ke-4 berkaitan dengan masa inkubasi *R. solani* yang berkisar 3 hingga 5 hari, sehingga pada saat terjadinya masa inkubasi *R. solani* pada *S. plicata*, tanaman akan memberikan reaksi berupa peningkatan aktivitas peroksidase yang merupakan indikator terjadinya lignifikasi sebagai salah satu mekanisme ketahanan terhadap patogen. Saravan et al. (2004) membuktikan hal yang sama pada tanaman pisang, bahwa pemberian *Pseudomonas fluorescens* pada pisang dapat mengimbas perubahan struktural akar pisang dan menghambat perkembangan penyakit yang disebabkan oleh *Fusarium*.

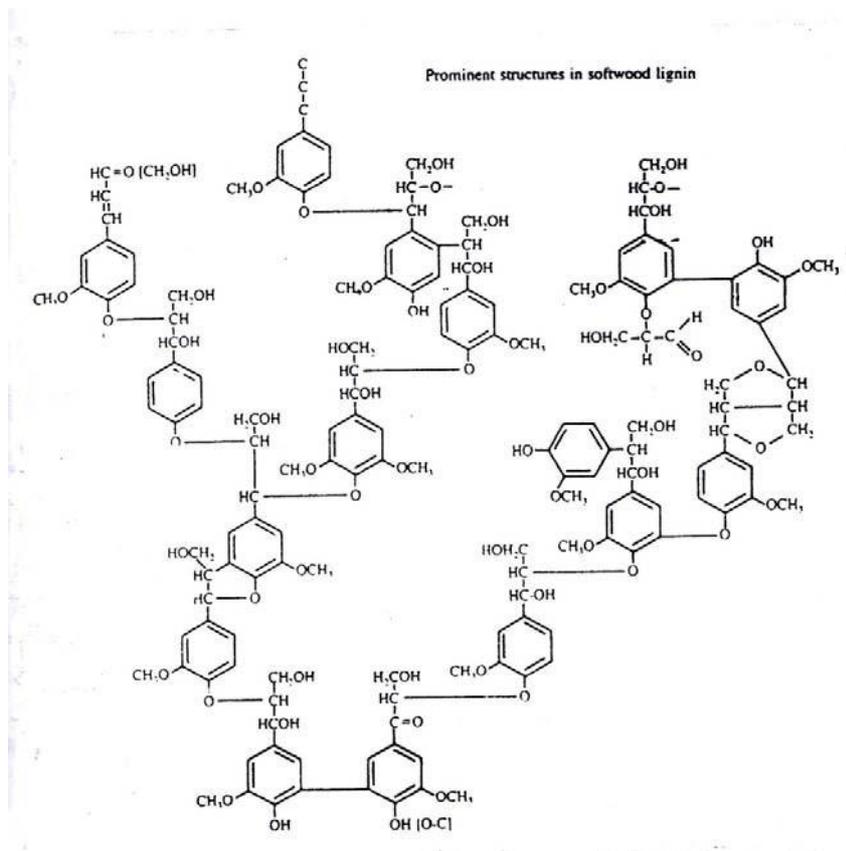
Aktivitas peroksidase pada perlakuan B yaitu *S. plicata* yang diinokulasi dengan *R. solani* tanpa diprainokulasi dengan *Rhizoctonia* mikoriza juga memperlihatkan peningkatan peroksidase. Dari pengamatan Gambar 23 tampak adanya peningkatan peroksidase pada hari ke-2 dan 4 sesudah *S. plicata* diinokulasi dengan *R. solani*, selanjutnya mengalami penurunan kandungan peroksidase pada hari ke-6 dan meningkat pada hari ke-8. Kandungan

peroksidase tertinggi terjadi pada hari ke-4 yaitu sebesar 0,238 menit/mg protein, yang menunjukkan kemampuan dari *S. plicata* memproduksi peroksidase tertinggi terjadi pada hari ke-4 sesudah diinokulasi dengan *R. solani*. Peningkatan peroksidase *S. plicata* pada perlakuan B yang tidak diimbaskan oleh *Rhizoctonia* mikoriza menunjukkan bahwa pengimbasan *Rhizoctonia* mikoriza akan mampu meningkatkan kandungan peroksidase lebih tinggi pada *S. plicata* dibandingkan yang tidak diimbaskan oleh *Rhizoctonia* mikoriza.

Aktivitas peroksidase pada perlakuan C yaitu *S. plicata* yang hanya diimbaskan oleh *Rhizoctonia* mikoriza juga memperlihatkan peningkatan peroksidase pada hari ke-2, 4 dan 6, serta mengalami penurunan pada hari ke-8. Kandungan peroksidase tertinggi terjadi pada hari ke-6 yaitu sebesar 0,306 menit/mg protein, yang menunjukkan kemampuan dari *S. plicata* memproduksi peroksidase tertinggi pada hari ke-6. Walaupun demikian nilai peroksidase pada perlakuan C masih lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan A karena pada perlakuan A, *S. plicata* sudah diprainokulasi *Rhizoctonia* mikoriza terlebih dahulu baru diinokulasi dengan *R. solani* sehingga dapat menyebabkan akar *S. plicata* memproduksi peroksidase yang tinggi untuk memacu terbentuknya lignifikasi pada epidermis akar.

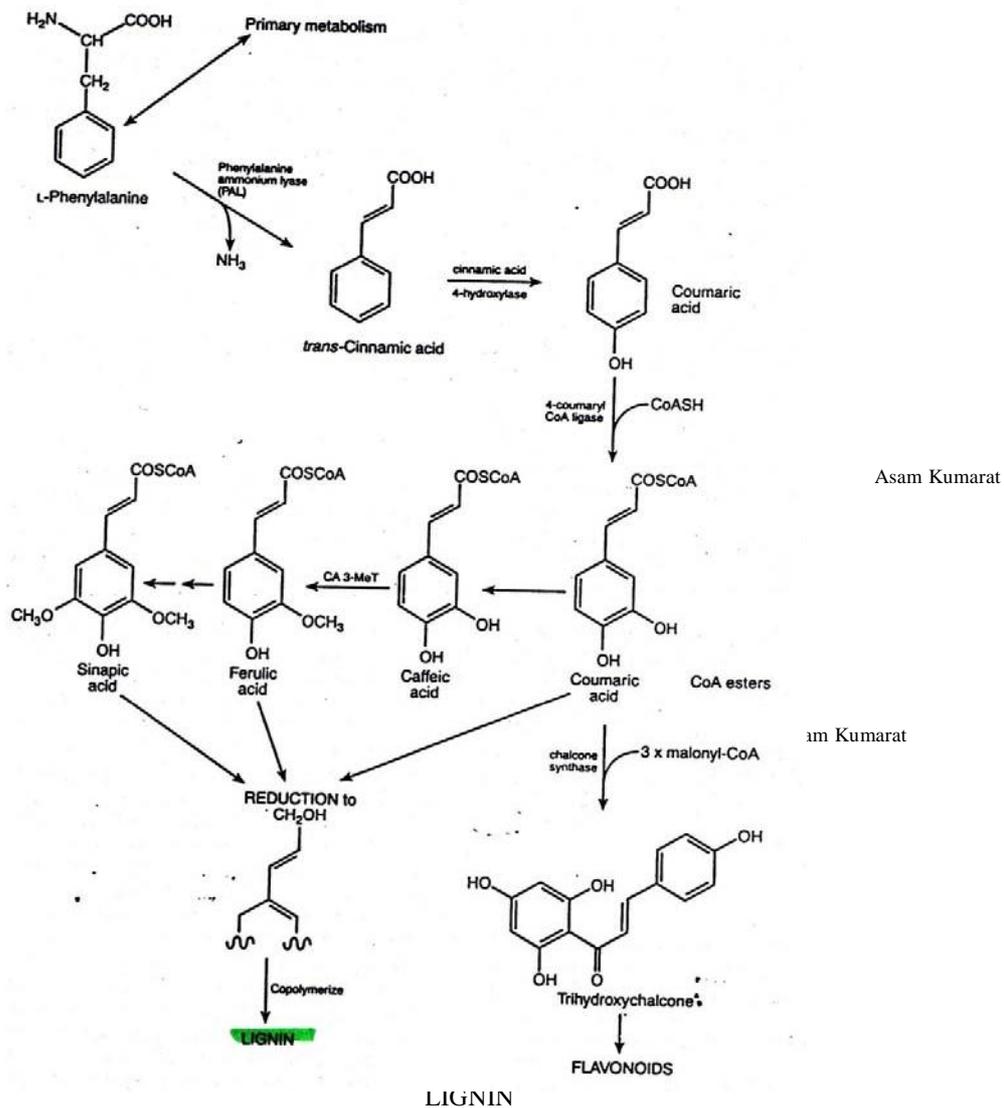
Aktivitas peroksidase pada perlakuan D (kontrol) tidak memperlihatkan terjadinya peningkatan peroksidase. Hal ini disebabkan pada perlakuan D (kontrol), yaitu *S. plicata* yang tidak diimbaskan oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan tidak diinokulasi dengan *R. solani*, sehingga tidak terjadi pengimbasan ketahanan pada akar *S. plicata* karena tidak ada patogen yang menginfeksi tanaman.

Menurut Agrawal et al. (1999), beberapa PR-protein seperti β -1,3-glukanase (PR2) dan kitinase (PR3) bersifat antijamur secara in vitro. PR-protein13 dikenal sebagai enzim peroksidase, mampu mengkatalisis reaksi senyawa fenolik menjadi senyawa kuinon dengan menghasilkan H₂O₂ yang bersifat toksik bagi patogen. Selain sebagai senyawa yang bersifat toksik bagi patogen, enzim peroksidase juga dapat menjadi katalisator pembentukan lignin (Patel et al., 2007). Pembentukan enzim peroksidase akan mendorong terbentuknya lignifikasi melalui jalur fenilpropanoid dan merupakan mekanisme ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen lainnya (Lea & Leegood, 1999).



Gambar 9. Struktur 4 kimia lignin (Goodman et al., 1986)

Lignin adalah polimer fenol yang berantai panjang (Gambar 9) dan terbentuk di tempat terjadinya infeksi serta sukar terdegradasi oleh mikroorganisme (Goodman et al., 1986). Dengan terjadinya lignifikasi, patogen tidak dapat berkembang. Pada jaringan tanaman, lignin akan terbentuk pada lamela tengah dan pada saat pembentukan dinding sel sekunder (Fahn et al., 1991).



Gambar 10. Biosintesis lignin pada tumbuhan melalui jalur fenilpropanoid (Lea & Leegood, 1999)

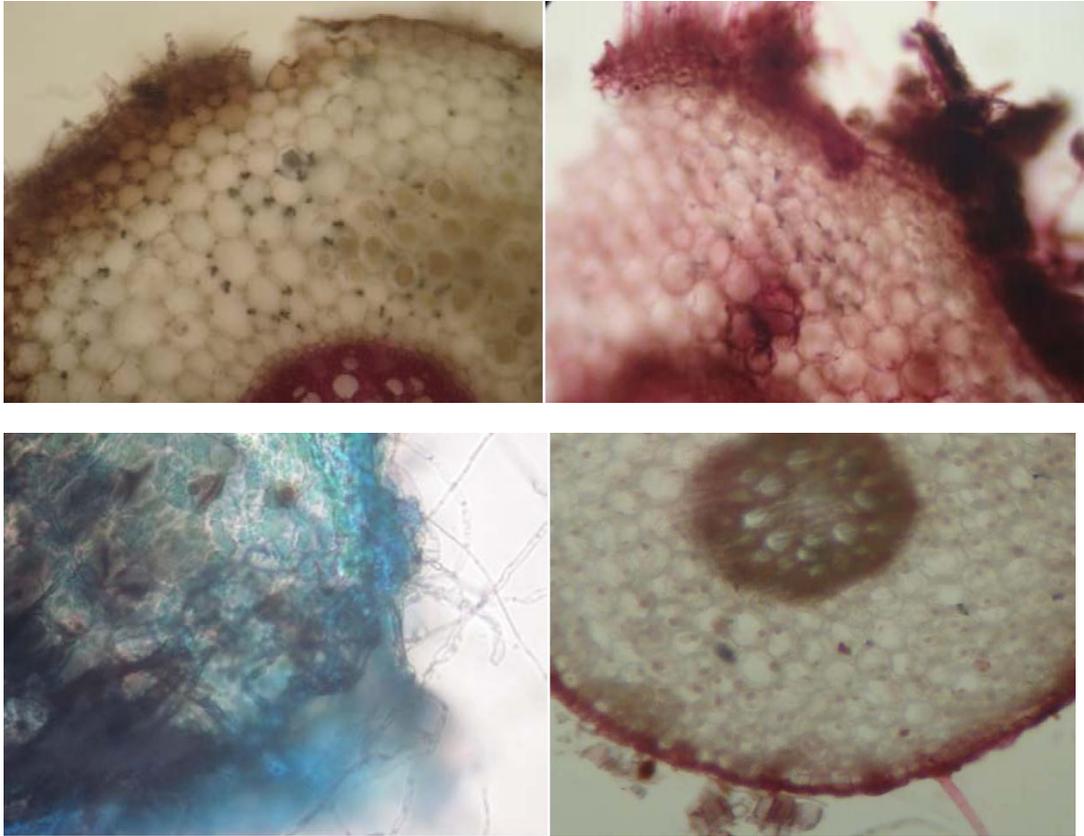
Menurut Lea & Leegood (1999), pembentukan lignin terjadi melalui jalur fenilpropanoid (Gambar 10). Fenilalanin akan dikatalis menjadi asam sinamat oleh fenilalanin amonia liase (PAL). Asam sinamat dihidrolisis oleh enzim sinamat4-hidrolase menjadi asam kumarat. Asam kumarat dengan penambahan gugus koenzim-ASH oleh enzim 4-komaril CoA ligase diubah menjadi asam kafeat. Kemudian asam kafeat diubah menjadi asam ferulat oleh enzim CA3-metil transferase. Asam ferulat diubah menjadi asam sinapat oleh enzim hidrosiferulat. Selanjutnya asam sinapat teroksidasi menjadi alkohol sinapil, asam ferulat

menjadi alkohol koniferil dan asam kumarat menjadi alkohol kumaril. Ketiga prekursor lignin tersebut diubah menjadi lignin oleh enzim peroksidase (Lea & Leegood, 1999).

Pada fase awal infeksi patogen pada tanaman tahan, lignin atau bahan fenolik lain akan terkumpul pada bagian dinding sel tanaman yang bersinggungan (kontak) dengan patogen. Menurut Stein (cit. Agrawal et al., 1999), lignin akan terbentuk dalam jumlah besar dan menghambat perkembangan hifa patogen. Jika proses lignifikasi terjadi sesudah patogen melakukan penetrasi pada dinding sel tanaman, lignifikasi akan menyebabkan lignin melapisi seluruh ruangan sel tanaman sehingga patogen yang berada di dalam sel akan terperangkap dalam bentuk "*lignified chamber*" (Agrawal et al., 1999).

Lignifikasi merupakan salah satu mekanisme ketahanan pada tanaman (Bhuiyan et al., 2009). Selama terjadinya proses ketahanan tanaman, lignin atau senyawa-senyawa fenol penyusun lignin akan terkumpul di jaringan epidermis. Penelitian yang dilakukan oleh Bhuiyan et al. (2007) memperlihatkan bahwa, terjadi biosintesis monolignol dalam dinding sel tanaman yang tahan terhadap jamur bulai (*Blumeria graminis* f. sp. *Tritici* (Bgt) yang menyerang biji tanaman gandum. Gen monolignol yang disisipkan kedalam tanaman rentan memperlihatkan terjadinya lignifikasi pada dinding sel. Hal tersebut memperlihatkan terjadinya hubungan antara infeksi patogen dengan tanaman. Mekanisme peningkatan lignin oleh senyawa elisitor memperlihatkan penebalan lignin yang berbeda di beberapa tempat, dan diperkirakan biosintesa lignin melalui berbagai jalur (Bhuiyan et al. 2009).

Untuk mengetahui terjadinya ketahanan secara struktural pada akar *S. plicata* dilakukan dengan mengamati terjadinya lignifikasi pada perlakuan *S. plicata* yang diimbis oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan diinokulasi dengan *R. solani* (A), *S. plicata* hanya diinokulasi dengan *R. solani* (B), *S. plicata* hanya diimbis oleh *Rhizoctonia* mikoriza (C) dan *S. plicata* tanpa diberi perlakuan (kontrol) (D) (Gambar 11).



Gambar 11. Lignifikasi pada akar *Spathoglottis plicata*.

(A) Akar yang diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan diinokulasi *R. solani*,

(B) Akar yang diinokulasi *R. solani*,

(C) Akar yang diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza, (D) Kontrol.

Keterangan: a=kerusakan sel epidermis, b=lignifikasi, c=peloton dan d=hifa *R. solani*. Skala : 100µm

Dari Gambar 11A terlihat terjadi lignifikasi di epidermis (b) yang berada di dekat kerusakan sel karena infeksi *R. solani* (a) pada bagian epidermis akar *S. plicata*. Proses lignifikasi terjadi sebagai respons ketahanan tanaman secara struktural terhadap infeksi *R. solani*. Lignin merupakan senyawa polimer yang sulit ditembus oleh hifa jamur patogen karena tersusun dari beberapa monomer senyawa fenol yaitu alkohol koniferil, kumaril dan sinapil yang dibentuk dari asam kumarat melalui jalur fenilpropanoid (Lea & Leegood, 1999).

Pada fase awal infeksi patogen pada tanaman tahan, lignin atau bahan fenolik

lain akan terkumpul pada bagian dinding sel tanaman yang berhubungan (kontak) dengan patogen. Lignin akan terbentuk dalam jumlah besar dan menghambat perkembangan hifa patogen (Stein et al. 1993, cit Agrawal et al. 1999). Kemampuan anggrek pada proses terjadinya lignifikasi disebabkan oleh asosiasinya dengan *Rhizoctonia* mikoriza yang ditunjukkan oleh adanya struktur peloton (Gambar 10C). Walaupun demikian adanya lignifikasi tidak menunjukkan terjadinya ketahanan tanaman terhadap *R. solani* secara struktural secara sempurna karena hifa *R. solani* sudah melakukan penetrasi lebih ke dalam jaringan korteks akar sebelum terjadi lignifikasi di jaringan epidermis (d). Menurut Bhuiyan (2009), terjadinya lignifikasi di dalam jaringan epidermis tanaman berbeda-beda, tergantung jalur pembentukannya. Gen monolignol pada tanaman akan terimbas selama infeksi jamur patogen (Bgt) pada tanaman yang bersifat rentan maupun yang tahan. Pada tanaman yang bersifat tahan, ekspresi gen monolignol akan terjadi 24 jam setelah tanaman diinokulasi dengan patogen.

Inokulasi *R. solani* pada akar *S. plicata* yang tidak diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza dapat menyebabkan terjadinya kerusakan yang parah pada jaringan epidermis akar (Gambar 11B). Dari gambar tersebut terlihat kerusakan jaringan epidermis akar *S. plicata* yang diinokulasi *R. solani* (a) dan terjadinya penetrasi *R. solani* hingga bagian korteks akar *S. plicata* (d). Masa inkubasi *R. solani* berlangsung selama 3 hari. Dengan masa inkubasi yang berlangsung 3 hari, maka saat pengamatan dilakukan 6 hari setelah inokulasi *R. solani*, hifa sudah berkembang di jaringan korteks akar *S. plicata*. Setelah hifa berkembang di jaringan korteks, hifa tersebut akan merusak/mendegradasi jaringan sel akar dan menyebabkan jaringan akar menjadi busuk.

Pada perlakuan C yaitu *S. plicata* diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza tanpa diinokulasi dengan *R. solani* menunjukkan hal yang berbeda dengan terbentuknya struktur peloton (Gambar 11C). Dari hasil pengamatan pada gambar tersebut terlihat struktur lilitan hifa *Rhizoctonia* mikoriza di bagian korteks akar *S. plicata* yang dikenal dengan sebutan peloton (c). Peloton adalah hifa intraseluler dalam jaringan korteks akar dan biasanya hanya ada pada periode tertentu sebelum kemudian mengalami lisis (Irawati, 2007). Hal tersebut yang membedakan *Rhizoctonia* mikoriza dengan *R. solani* yaitu bila hifa *Rhizoctonia* mikoriza

berasosiasi dengan akar anggrek, berada pada jaringan korteks akar dan membentuk struktur peloton (Dressler, 1990), sedangkan hifa *R. solani* pada saat menginfeksi tanaman akan berada di bagian epidermis akar (Agrios, 2005).

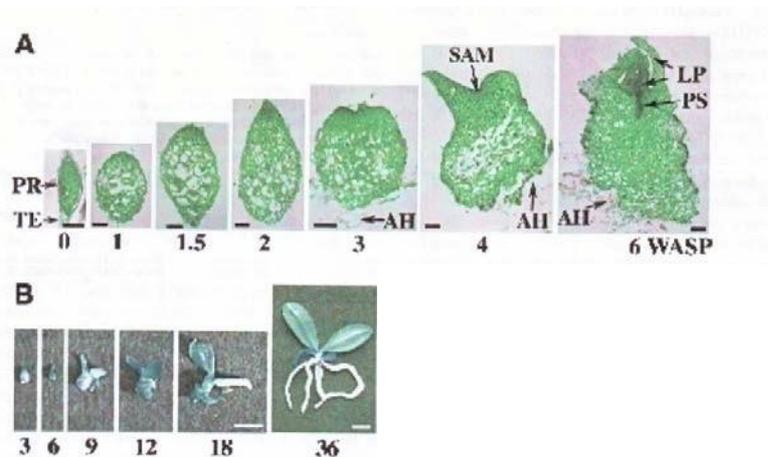
Dressler (1990) menyatakan bahwa pada peloton terdapat akumulasi bahan-bahan organik yang meliputi protein, glikogen dan lemak, dan hasil penyerapan unsur hara dari tanah. Pada saat tertentu, embrio anggrek akan menyerap bahan-bahan organik tersebut untuk pertumbuhannya sehingga peloton akan mengalami lisis. Bilamana dibutuhkan untuk mensuplai unsur hara, maka struktur peloton akan terbentuk lagi di dalam korteks akar. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa keberadaan peloton merupakan petunjuk terjadinya asosiasi *Rhizoctonia* mikoriza dengan anggrek.

Anggrek *S. plicata* sebagai tanaman kontrol yang tidak diimbasi oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan diinokulasi dengan *R. solani* tidak menunjukkan terbentuknya struktur peloton maupun infeksi di jaringan akar (Gambar 10D). Dari hasil pengamatan pada gambar tersebut, terlihat bahwa pada jaringan akar *S. plicata* tidak terdapat struktur peloton ataupun tidak mengalami kerusakan. Hal tersebut dikarenakan tanaman kontrol (perlakuan D) tidak diimbasi oleh *Rhizoctonia* mikoriza sehingga tidak terbentuk struktur peloton dan tidak diinokulasi dengan *R. solani* sehingga tidak terjadi kerusakan pada jaringan epidermis.

BAB VI. MEDIA PENGIMBASAN SECARA *IN VITRO*

Medium yang baik untuk perkembangbiakan biji angrek *S. plicata* adalah medium Vacin & Went (VW) (Arditti, 1992). Medium VW terdiri atas makroelemen, mikroelemen, sukrosa, dan bahan tambahan (Lampiran 1). Biji angrek *S. plicata* yang disebar di atas medium VW steril secara *in vitro* dengan pH 5,0-5,2 akan membentuk protocorm, selanjutnya protocorm angrek *S. plicata* akan berkembang membentuk plantlet. Kemudian plantlet diaklimatisasi di rumah kaca selama 2 bulan, dan sudah memiliki 2-3 daun siap ditanam di pot.

Penelitian yang dilakukan oleh Semiarti et al. (2007) pada *Phalaenopsis amabilis*, perkecambahan biji angrek menjadi tanaman dewasa melalui berbagai tahapan, yaitu: (1) embrio, (2) perkembangan embrio (*protocorm*), (3) plantlet, dan (4) tanaman dewasa (Gambar 12).



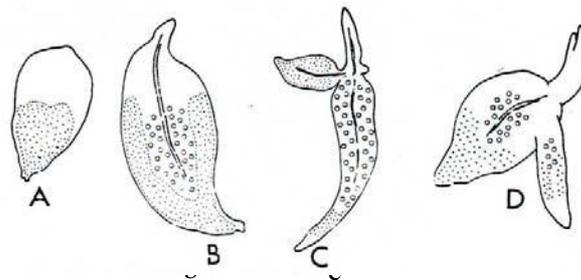
Gambar 12. Perkembangan tunas *Phalaenopsis amabilis*.

Keterangan: (A) Perkembangan embrio angrek 0-6 minggu sesudah biji ditabur (weeks after seed planting / WASP) secara *in vitro*. PR (placental ridge): daerah embrio; TE: testa; AH (absorbing hair): rambut akar untuk absorpsi; SAM (shoot apical meristem): tunas meristem apikal; LP (leaf primordium): primordial daun; PS (procambial strand): calon batang; (B) Tahapan protocorm dan plantlet (3-36 WASP)(Semiarti et al., 2007)

Tahapan-tahapan asosiasi antara mikoriza dengan biji angrek di alam terjadi pada stadium awal perkembangan protocorm. Menurut Hayakawa et al.

(1999), secara alami pertumbuhan biji anggrek menjadi *protocorm* memiliki ketergantungan pada mikoriza untuk ketersediaan nutrisi pertumbuhannya sampai tanaman tumbuh dewasa.

Asosiasi hifa mikoriza dengan protocorm pada awalnya terjadi di jaringan pangkal akar protocorm. Selanjutnya *protocorm* akan berkembang menjadi plantlet yang mengandung kloroplas dan melakukan proses fotosintesis. Kemampuan anggrek melakukan fotosintesis akan mengubah sifat heterotrof karena dari yang tidak memiliki cadangan makanan (endosperm) menjadi bersifat autotrof (Arditti, 1992). Menurut Arditti (1992), asosiasi mikoriza dengan protocorm anggrek dapat terjadi di alam maupun secara in vitro (Gambar 13).



Gambar 13. Asosiasi orchid mycorrhiza dengan protocorm anggrek.

- (a) Pertumbuhan protocorm secara in vitro, 21 hari sesudah infeksi,
- (b) Pertumbuhan protocorm di lapangan, berumur beberapa minggu,
- (c) Plantlet di lapangan, dengan pembentukan akar dan tunas,
- (d) Pertumbuhan plantlet secara in vitro, dengan pembentukan tunas dan akar (Arditti, 1992)

Tan et al. (1998) menunjukkan bahwa inokulasi *Rhizoctonia* mikoriza (isolat AM 9) pada biji anggrek *S. plicata* yang dibungkus kitosan-alginat atau gelatin-alginat mempunyai persentasi keberhasilan tumbuh sekitar 84% lebih tinggi bila dibandingkan dengan yang tidak dibungkus.

Inokulasi anggrek dengan *Rhizoctonia* spp. secara in vitro mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan metode in situ, di antaranya adalah asosiasi *Rhizoctonia* spp. dengan anggrek secara in vitro terjadi secara lebih intensif. Hal ini dibuktikan oleh Masuhara & Katsuya (1994), yang melaporkan bahwa dengan metode in situ selama 8 minggu, hanya 67 sampel dari 210 sampel *protocorm* yang diinokulasi mikoriza *Rhizoctonia* spp. mengalami perkembangan menjadi plantlet. Dengan metode in vitro, hampir semua sampel protocorm yang diinokulasi dengan *Rhizoctonia* spp. dapat berkembang menjadi

plantlet.

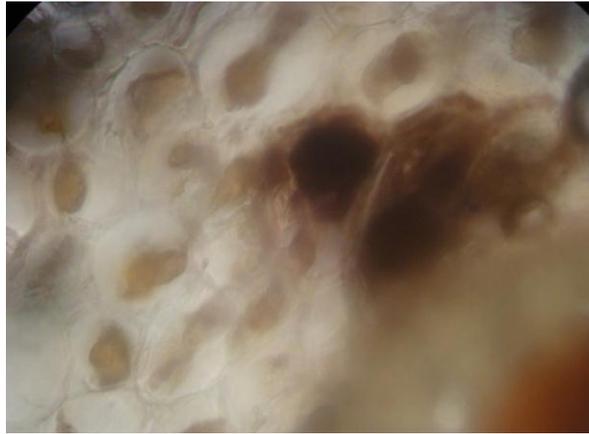
Pengimbasan ketahanan *S. plicata* dilakukan pada plantlet berumur 4 bulan (Gambar 19). Hal tersebut dikarenakan pada umur tersebut plantlet sudah memiliki perakaran yang kuat bila dibandingkan dengan biji *S. plicata* sehingga tanaman tidak sakit bila diprainokulasi dengan *Rhizoctonia* mikoriza (M3) berumur 3 hari karena menurut Smith dan Read (2008), interaksi antara *Rhizoctonia* mikoriza dengan biji angrek dapat menyebabkan beberapa kemungkinan, yaitu: (1) membentuk peloton dan simbiosis antara keduanya bersifat mutualisme, (2) menyebabkan kematian biji angrek karena adanya infeksi hifa *Rhizoctonia* mikoriza dan simbiosisnya bersifat parasitik, atau (3) tidak saling merugikan karena mikoriza terletak di ruang antar sel jaringan biji angrek.



Gambar 14. Cara prainokulasi plantlet *Spathoglottis plicata* berumur 4 bulan oleh *Rhizoctonia* mikoriza (M3) berumur 3 hari.

Keterangan : (a) *Rhizoctonia* mikoriza dan (b) *Plantlet Spathoglottis plicata*

Hasil penempelan akar plantlet *S. plicata* berumur 4 bulan pada bagian tepi koloni *Rhizoctonia* mikoriza (M3) berumur 3 hari menunjukkan plantlet tetap sehat tidak mengalami sakit. Hal tersebut menunjukkan terjadinya asosiasi antara *Rhizoctonia* mikoriza (M3) sebagai agens pengimbas dengan plantlet *S. plicata*. Untuk mengetahui terjadinya asosiasi antara *Rhizoctonia* mikoriza (M3) dengan plantlet *S. plicata*, maka dilakukan pengamatan anatomi pada akar *S. plicata* (Gambar 14).



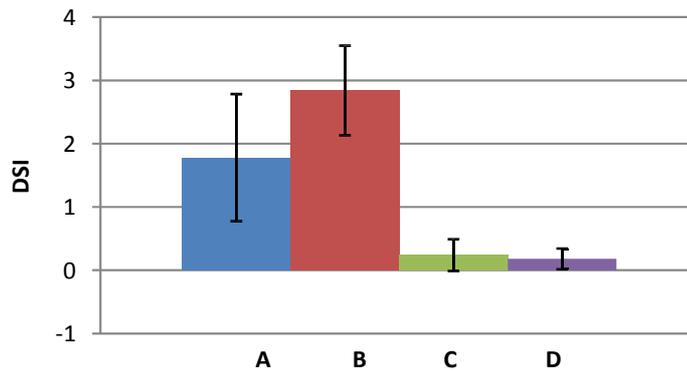
Gambar 15. Struktur peloton di kortek akar *D. macrophyllum*.

Struktur peloton tampak jelas pada akar plantlet *S. plicata* yang berasosiasi dengan *Rhizoctonia* mikoriza (Gambar 15). Arditti (1992) menyatakan bahwa asosiasi awal anggrek dengan *Rhizoctonia* mikoriza terjadi pada fase plantlet, sehingga mengacu pada pendapat Arditti (1992) tersebut, dapat dikatakan asosiasi *S. plicata* dengan *Rhizoctonia* mikoriza secara in vitro dilakukan pada fase plantlet. Bila sudah terbentuk struktur peloton pada akar, plantlet *S. plicata* disubkultur pada medium V.W. Untuk penelitian selanjutnya, *S. plicata* ditumbuhkan sampai menjadi bibit berumur 15 bulan dan akan diinokulasikan dengan *R. solani*.

Salah satu parameter terjadinya mekanisme pengimbasan dapat berupa pembentukan struktur peloton yang menunjukkan miselium *Rhizoctonia* mikoriza menembus jaringan epidermis dan menuju ke bagian korteks akar. Dibagian korteks, miselium akan masuk ke ruang sel (intraseluler) dan membentuk peloton. Di dalam peloton akan terakumulasi bahan-bahan organik meliputi protein, glikogen dan lemak, hasil penyerapan unsur hara dari tanah. Pada saat tertentu, embrio anggrek akan menyerap bahan-bahan organik tersebut untuk pertumbuhannya sehingga peloton akan mengalami lisis (Dressler, 1990).

Untuk mengetahui tingkat ketahanan *S. plicata* hasil pengimbasan setiap perlakuan dapat dihitung tingkat keparahan penyakitnya menurut Sneh et al. (2004)

(Gambar 16).



Gambar 16. Indeks keparahan penyakit (DSI) pada *Spathoglottis plicata* yang diinokulasi dengan *Rhizoctonia solani*.

Keterangan: A= diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan *Rhizoctonia solani*, nilai DSI berkisar 0,7-2,8; B= diinokulasi *Rhizoctonia solani*, nilai DSI berkisar 2,1-3,6; C= diimbas oleh *Rhizoctonia*, nilai DSI berkisar 0-0,5; D= tanpa diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan *Rhizoctonia solani* (Kontrol), nilai DSI berkisar 0-0,3

Perlakuan *S. plicata* yang sudah diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza terlebih dahulu (Gambar 16) bila diinokulasi dengan *R. solani* ternyata bersifat tahan dibandingkan dengan *S. plicata* yang tidak diimbas (bersifat moderat tahan). Hal tersebut terlihat dari nilai DSI *S. plicata* yang sudah diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza lebih rendah yaitu berkisar 1,780, sedangkan *S. plicata* tanpa diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza berkisar 2,840. Menurut Sneh et al. (2004), dengan nilai DSI 1,78 menunjukkan tanaman bersifat tahan.

Berdasarkan nilai DSI tersebut dapat disimpulkan, bahwa pengimbasan *Rhizoctonia* mikoriza secara *in vitro* dapat meningkatkan ketahanan *S. plicata* terhadap infeksi *R. solani*. Diduga pengimbasan *Rhizoctonia* mikoriza secara *in vitro* akan menyebabkan *S. plicata* mampu memproduksi metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan *R. solani*. Penelitian Cardoso & Echandi (1987) menunjukkan hal yang sama, bahwa prainokulasi Binucleate *Rhizoctonia* (BNR) mampu mengimbas semai buncis karena memproduksi metabolit yang dapat menghambat perkembangan miselium *R. solani* di bagian yang terinfeksi. Demikian juga penelitian Haris et al. (1993), yang menyatakan bahwa isolat *Rhizoctonia* spp. binukleat dapat menghambat gejala rebah semai pada tanaman

cabai yang disebabkan *R. solani*. Berdasarkan kedua penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa prainokulasi *Rhizoctonia* mikoriza secara in vitro akan menyebabkan *S. plicata* mampu menghambat pertumbuhan *R. solani*.

Masing-masing perlakuan A, B, C dan D mempunyai rentang nilai DSI yang berbeda-beda (Gambar 16). Indeks keparahan penyakit (DSI) *S. plicata* pada perlakuan A (diimbasi oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan diinokulasi dengan *R. solani*) memiliki rentang yang berbeda yaitu berkisar 0,7 hingga 2,8 sedang DSI *S. plicata* pada perlakuan B (diinokulasi dengan *R. solani*) berkisar 2,1 hingga 3,6, DSI *S. plicata* pada perlakuan C (diimbasi oleh *Rhizoctonia* mikoriza) berkisar 0 hingga 0,5 dan DSI *S. plicata* pada perlakuan D (tanpa diimbasi oleh *Rhizoctonia* mikoriza dan diinokulasi dengan *R. solani* / kontrol) berkisar 0 hingga 0,3.

Kisaran nilai DSI pada perlakuan A yang berbeda antara 0,7 hingga 2,8 menunjukkan bahwa tingkat ketahanan suatu tanaman akan berbeda tergantung dari faktor lingkungannya. Semangun (1996) menyatakan bahwa terjadinya penyakit pada suatu tanaman tergantung pada faktor tanaman, patogen dan lingkungan yang mendukung. Pada perlakuan B yang hanya diinokulasi *R. solani* tanpa diimbasi oleh *Rhizoctonia* mikoriza menunjukkan nilai DSI berkisar 2,1 hingga 3,6 sehingga dapat diperkirakan selain faktor lingkungan, patogen juga berpengaruh pada ketahanan suatu tanaman. Demikian juga nilai DSI pada perlakuan C yang berkisar 0 hingga 0,5 memperlihatkan pemberian *Rhizoctonia* mikoriza tidak menyebabkan tanaman menjadi sakit. Pada perlakuan D (kontrol) nilai DSI berkisar 0 hingga 0,3 memperlihatkan tanaman tetap sehat.

VII. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil materi yang telah diuraikan di muka, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. *Rhizoctonia* mikoriza memiliki kemampuan mengimbas ketahanan anggrek *S. plicata* terhadap penyakit busuk akar yang disebabkan oleh *R. solani*. *Rhizoctonia* mikoriza yang diisolasi dari berbagai tempat memiliki kemampuan mengimbas ketahanan anggrek terhadap penyakit busuk akar yang berbeda. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai DSI yang berbeda.
3. Asosiasi antara *Rhizoctonia* mikoriza dengan anggrek secara *in vitro* terjadi pada tahapan *plantlet*. *Rhizoctonia* mikoriza mampu berasosiasi dengan anggrek secara *in vitro* saat *plantlet* berumur 4 bulan, yang ditunjukkan dengan terbentuknya struktur peloton di bagian korteks akar.
4. Peningkatan senyawa fenol total dan terjadinya lignifikasi menunjukkan terjadinya pengimbasan ketahanan anggrek oleh *Rhizoctonia* mikoriza. Pembentukan senyawa fenol total pada anggrek yang diimbas oleh *Rhizoctonia* mikoriza terjadi pada hari ke-2 hingga ke-6 setelah diinokulasi *R. solani*. Pembentukan peroksidase juga mengalami peningkatan pada hari ke-2 hingga ke-4 setelah diinokulasi dengan *R. solani*, yang ditunjukkan dengan terjadinya lignifikasi.

B. Saran

1. Dilakukan penelitian sehingga *Rhizoctonia* mikoriza dapat diformulasikan dalam bentuk produk yang dapat diaplikasikan pada tanaman anggrek oleh para petani anggrek.
2. Perlunya dicoba metode pengimbasan ketahanan anggrek terhadap jamur patogen lainnya menggunakan *Rhizoctonia* mikoriza.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberoumand, A. and S.S. Deokule. 2008. Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. *Pakistan Journal of Nutrition* 7 : 582 – 585.
- Agrawal, A.A., S. Tuzun and E. Bent. 1999. *Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores, Biochemistry, Ecology, and Agriculture*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 390 p
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 4th ed. Academic Press. New York. 922 p.
- Agustini, V., Supeni S., and Suharno. 2009. Mycorrhiza Association of Terrestrial Orchids of Cycloops Nature Reserve, Jayapura. *Biodiversitas* 10 : 175 – 180.
- Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims. 1996. *Introductory Mycology*. 4th Edition, John Willey & Sons, Inc. New York. 869 p.
- Anonim. 2006. Varietas baru anggrek *Spathoglottis* yang menawan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* vol.28 no.3 Balai Penelitian Tanaman Hias. Cianjur. 16-17.
- Anonim. 2008a. Anggrek. *Bidang Pemberdayaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*, Jakarta. 17 h.
- . 2008b. Varietas baru anggrek *Spathoglottis* yang menawan. Balai Penelitian Tanaman Hias. Cianjur. 16-17.
- Arditti, J. 1992. *Orchid Biology*. Cornell University Press. London. 383 p
- Athipunyakom, P. and L. Manoch. 2008. Isolation and identification of mycorrhiza fungi from eleven terrestrial orchids. http://www.aseanbiodiversity.info/scripts/count_article.asp?Article_code=53004001. Diakses tanggal 13 Juni 2008.
- Barnett, H. L. and B. B. Hunter. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 3rd Edition. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota. 241p.
- Bhuiyan, N.H., G. Selvaraj, Y. Wei and J. King. 2009. Role of lignifications in plant defense. *Plant Signal Behav.* 4 (2): 158-159.
- BPS. 2009. *Ekspor dan impor tanaman hias tahun 2003-2008*. Statistik Perdagangan Luar Negeri. Badan Pusat Statistik, Jakarta.
- Bottom S. 2011. *Orchid Pests and Diseases Diagnosis, Treatment and Prevention*. Sbottom15@bellsouth.net. Diakses tanggal 8 Agustus 2011.

- Carling, D.E., E. J. Pope, K. A. Brainard and D. A. Carter. 1999. Characterization of mycorrhiza isolates of *Rhizoctonia solani* from an orchid, including AG-12, a new anastomosis group. *Phytopathology* 89 : 942 – 946.
- Carling, D.E., R.E. Baird, R.D. Gitaitis, K.A. Brainard and S. Kuniaga. 2002. Characteristic of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 92 : 893 – 899.
- Cardoso, J. E. and E. Echandi. 1987. Nature of protection of bean seedling from *Rhizoctonia* root rot by a binucleate *Rhizoctonia*-like fungus. *Phytopathology* 77 : 1548 – 1551.
- Cubeta, M. A. and R. Vilgalys. 1997. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. *Phytopathology* 87: 480 – 484.
- Dearnaley, J. D. W. 2007. Further advances in orchid mycorrhiza research. *Mycorrhiza* 17 : 475 – 486.
- Dressler, R. L. 1990. *The Orchids, Natural History and Classification*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 332 p.
- Fahn, A., A. Soediartha, R.M.T. Koesoemaningrat, M. Natasaputra dan H. Akmal. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Edisi Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 943 h.
- Garcia V.G., M.A. Portal Onco and V. Rubio Susan. 2006. Review. Biology and Systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 4. 55-79.
- George I. St. 2008, *Orchids and Fungi*, New Zealand, htm.N2O6. Diakses tanggal 18 September 2008.
- Goodman, R.N., Z. Kiraly, and K.R. Wood. 1986. *The Biochemistry and Physiology of Plant Disease*. University of Missouri Press. Missouri. 417 p.
- Harris, A.R., D.A. Schisler, S.M. Neate and M.H. Ryder. 1993. Suppression of damping-off caused by *Rhizoctonia solani*, and growth promotion, in bedding plants by binucleate *Rhizoctonia* spp. *Soil Biology Biochemistry* 26 : 263 – 268.
- Hare S. Jabaji and S. M. Neate. 2008. Non-pathogenic *Rhizoctonia* Species Elicit Systemic Induced Resistance to *Rhizoctonia solani* and *Alternaria macrospora* in Cotton. <http://www.nchu.edu.tw/-isr2000/totalabstract.htm#>. Diakses tanggal 5 Februari 2008.
- Hayakawa, S., Y. Uetake and A. Ogoshi. 1999. Identification of symbiotic rhizoctonias from naturally occurring protocorms and roots of

- Dactylorhiza aristata* (orchidaceae). Journal of Faculty Agriculture Hokkaido University 6 : 129 – 141.
- Hyakumachi M., A. Priyatmojo, M. Kubota and H. Fukui. 2005. New Anastomosis Group, AG-T and AG-U, of Binucleate *Rhizoctonia* spp. Causing Root and Stem Rot of Cut-Flower and Miniatur Roses. *Phytopatology* 95 : 784-792.
- Irawati, A.F.C. 2007. Karakteristik dan Uji Hipovirulensi *Rhizoctonia* sp. yang Diisolasi dari Perakaran Tanaman Vanili. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 71 h. (tidak dipublikasikan)
- Kutscha and Gray. 1972. The suitability of certain strains or studying lignification in balsam fir, *Abies balsamina* (L.) Mill. Technical bulletin 53. Life Sciences and Agricultural Experiment Station.
- Lea, P. and R.C. Leegood. 1999. *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. 2nd Edition. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. 364 p.
- Light, M.H.S. 2004. Orchid diseases: part II – problem and solutions. Ottawa Orchid Society. www.orchidsafari.org. Diakses tanggal 10 Januari 2009.
- Masuhara, G. and K. Katsuya. 1994. In situ and in vitro specificity between *Rhizoctonia* spp. and *Spiranthes sinensis* (Persoon) Ames. var. *Amoena* (M. Bieberstein) Hara (orchidaceae). *New Phytology* 127 : 711-718.
- McNish, G.C., Carling, D.E. Sweetingham and Brainard, K.A. 1994. Anastomosis group (AG) affinity of pectic enzyme (Zymogram) groups (ZG) of *Rhizoctonia solani* from Western Australia cereal belt. *Mycological Research* 98 : 1369-1375.
- Ogoshi, A., M. Oniki, T. Araki and T. Ui. 1983. Studies on the anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* and their perfect states. *Journal of Faculty Agriculture Hokkaido University* 61 : 244 – 260.
- Otero, J. T., J. D. Ackerman and P. Bayman. 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany* 89 : 1852 – 1858.
- Parmeter, J. R. Jr. 1970. *Rhizoctonia Solani, Biology and Pathology*. University of California Press. Los Angeles. 255p.
- Patel VK, RSS Yadav and KDS Yadav. 2007. Enzymatic characteristic of lignin peroxidases of indigenous lignolytic fungal strains-1. *Indian Journal of Biotechnology* 6 : 553-556.

- Pingqu, K. Yamashita, T. Toda, A. Priyatmojo, M. Kubota and M. Hyakumachi. 2008. Heterokaryon formation in *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*) AG- 1 IC. *Mycological Research* 112 : 1088 – 1100.
- Pozo, M. J., and C.A. Aguilar. 2007. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Plant Biology* 10: 393-398.
- Rasmussen, H. N. 2002. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant and Soil* 244: 149–163.
- Riedy, M.F., W.J Hamilton, and C.F. Aquadro. 1992. Excess of non parental bands in offspring from know pedigrees assayed using RAPD PCR. *Nucleid Acids Research* 20 : 918.
- Saravanan T., R. Bhaskaran and M. Muthusamy. 2004. *Pseudomonas fluorescens* Induced Enzymological Changes in Banana Roots (Cv. Rasthali) againts *Fusarium Wilt Disease*. *Plant Pathological Journal*. 3 : 72-80.
- Sastrapradja S., R. E. Nasution, Irawati, L. Soerojo, M. Imelda, S. Idris, S. Soerohaldoko dan W. Roedjito. 1980. *Anggrek Indonesia*. Lembaga Biologi Nasional. PN Balai Pustaka. Jakarta. 181 h.
- Schenk, N.C. 1982. *Methods and Principles of Mycorrhiza Research*. APS Press. St. Paul, Minnesota. 244 p.
- Semangun, H. 1991. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 850 h.
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 754 h.
- Semiarti, E., A. Indrianto, A. Purwanto, S. Isminingsih, N. Suseno, T. Ishikawa, Y. Yoshioka, Y. Machida and C. Machida. 2007. Agrobacterium-mediated transformation of the wild orchid species *Phalaenopsis amabilis*. *Plant Biotechnology* 24: 255-272.
- Senthilkumar, S., K. V. Krishnamurthy, S. J. Britto and D. I. Arockiasamy. 2000. Visualization of orchid mycorrhiza fungal structures with fluorescence dye using epifluorescence microscopy. *Current Science* 79: 1527-1528.
- Senthilkumar S., P.Saravanakumar, K.V. Krishnamurthy and S. John Britto. 2001. Morphological and Structural Featur of Mycorrhizal Roots of *Spathoglottis plicata* and *Dendrobium* species. *PHYTA* Vol. 5 (1).
- Smith, S.E. and D. J. Read. 2008. *Mycorrhiza Symbiosis*, 3rd Edition. Academic

Press. New York. 805 p.

- Sneh, B., Burpee, L. & Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. St. Paul. MN: APS Press.
- Sneh, B. & Rubio, V. 2000. Is melanin biosynthesis essential for pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. [Internet]. Third International Symposium on *Rhizoctonia*. Available from: digital.csi.es/bitstream/1026/15813/3.
- Sneh, B., E. Yamoah and A. Stewart. 2004. Hypovirulent *Rhizoctonia* spp. isolates from New Zealand soils protect radish seedlings against damping-off caused by *R. solani*. *New Zealand Plant Protection* 57 : 54 – 58.
- Soelistijono, Sumardiyono C., Priyatmojo A., Semiarti A. 2011. Karakterisasi Isolat *Rhizoctonia* spp. Patogenik dan *Rhizoctonia* Mikoriza pada Tanaman Anggrek Tanah *Spathoglottis plicata*. *Biota* Vol.16 (2): 371-380.
- Tan, T.K, W.S. Loon, E. Chor and C.S. Looh. 1998. Infection of *Spathoglottis plicata* (Orchidaceae) seeds by mycorrhizal fungus. *Plant Cells Reports*. 18 : 14-19.
- Taylor D.L., T.D. Bruns, J.R. Leake and D.J. Read. 2002. Mycorrhiza Specificity and Function in Myco-heterotrophic Plants. Springer-Verlag. Berlin. 413p.
- Vidhyasekaran, P. 1997. Fungal Pathogenesis in Plants and Crops, Molecular Biology and Host Defense Mechanism. Marcel Dekker. New York. 553 p.
- Vierheilig, H., P. Schweiger and M. Brundrett. 2005. An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhiza fungi in roots. *Physiologia Plantarum* 125 : 393-404.
- Widiastuti D., N. Solvia dan M. Soedarjo. 2010. Potensi anggrek *Dendrobium* dalam meningkatkan variasi dan kualitas anggrek bunga potong. *Jurnal Litbang Pertanian* 29, 101-106.
- Weiland, J., J. 2007. Rapid procedure for the extraction of DNA from fungal spores and mycelia. USDA-ARS, Northern Crop Science Laboratory, Sugarbeet and Potato Research Unit Fargo, N.D. 58105-5677 USA.
- Wuryaningsih, S. 2008. Koleksi dan karakteristik plasma nutfah anggrek *Spathoglottis* dan pemanfaatannya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Produksi tanaman hias di Indonesia berdasarkan Biro Pusat Statistik (BPS) tahun 2011.

Produksi Tanaman Hias di Indonesia

Tahun	Anggrek (Tangkai)	Kuping Gajah (Tangkai)	Gladiol (Tangkai)	Pisang- pisangan (Tangkai)	Krisan (Tangkai)	Mawar (Tangkai)
1997	6,502,669	4,282,433	12,504,879	1,027,474	10,062,753	123,439,324
1998	7,780,202	1,670,465	6,471,772	929,683	4,445,770	63,291,838
1999	3,206,992	404,127	2,532,171	463,890	1,468,213	33,594,352
2000	3,260,858	583,728	4,843,188	384,464	2,281,125	78,147,515
2001	4,450,787	773,299	4,448,199	448,338	7,387,737	84,951,741
2002	4,995,735	1,006,075	10,876,948	797,139	25,804,630	55,708,137
2003	6,904,109	1,263,770	7,114,382	681,920	27,406,464	50,766,656
2004	8,127,528	1,112,724	14,416,172	823,747	29,503,257	57,983,747
2005	7,902,403	2,615,999	14,512,619	1,131,568	47,465,794	60,719,517
2006	10,703,444	2,017,535	11,195,483	1,390,117	63,716,256	40,394,027
2007	9,484,393	2,198,990	11,271,385	1,427,048	66,979,260	59,492,699
2008	15,430,040	2,764,552	8,524,252	5,187,631	99,158,942	39,131,603
2009	16,205,949	3,833,100	9,775,500	4,124,174	107,847,072	60,191,362
2010	14,050,445	7,655,542	10,064,082	2,961,385	185,232,970	82,351,332
2011*)	14,410,818	5,242,772	5,262,717	2,406,017	205,880,556	74,221,125

*) Angka Sementara

Lampiran 2. Komposisi medium Vacin and Went (Arditti, 1992).

Komponen : Larutan stok Volume yang

1. Makro elemen:

$\text{KNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	52.5 g/liter	10 ml
KH_2PO_4	25 g/liter	10 ml
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	25 g/liter	10 ml
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	50 g/liter	10 ml
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	750 mg/liter	10 ml
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	200 mg	--

Semua bahan dilarutkan dalam 500 ml air suling

2. Mikro elemen:

$\text{Fe}_4(\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_5) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 28 mg

3. Sukrosa 20 g

4. Bahan tambahan:

- Ekstrak kentang 250 ml

Bahan kentang 100 gr direbus dalam 500 ml air sampai mendidih, ditunggu hingga larutan berkurang menjadi 250 ml

- Air kelapa muda 200 ml

- Pisang masak 2 potong

Potong pisang menjadi berukuran 1 cm, selanjutnya diblender sampai lembut

Cara kerja: Semua bahan tambahan ditambah 350 air suling, diblender sampai homogen selama 2 menit dan diukur pH hingga 5. Masukkan makro dan mikro elemen, sukrosa dan tambahkan air suling hingga volume total 1 liter. Setelah itu ditambah agar sebanyak 8 g dan diaduk rata sampai semua bahan terlarut. Selanjutnya medium kultur dimasukkan kedalam masing-masing botol, ditutup dan disterilisasi dengan autoklaf, setelah dingin siap untuk digunakan.

Lampiran 3. Pembuatan medium jagung giling.

1. Jagung dipipil terlebih dahulu dan dimasukkan ke dalam panci.
2. Panci diberi air dan direbus kira-kira 10 menit.
3. Sesudah 10 menit, jagung ditiris dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml.
4. Di sterilisasi menggunakan autoklaf.
5. Sesudah steril di simpan di dalam ruangan dan disimpan selama semalam.
6. Isolat *Rhizoctonia* patogen diinokulasikan ke dalam jagung giling, dan diinkubasikan selama 3 hari pada suhu 27 °C.
7. Inokulum jagung giling siap untuk digunakan.