

Pengujian Ketahanan Anggrek *Phalainopsis* terhadap Penyakit Busuk Lunak yang Disebabkan oleh *Erwinia carotovora* Secara *In Vitro*

Resistance Test of *Phalainopsis* Orchid for Soft Rot Disease by *Erwinia carotovora* in Vitro

Hardiyanto¹, Agus Purwito², Sri Rianawati³

¹Mahasiswa PS Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih, Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB

²Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB

³Staf Ahli Penelitian Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi)

Abstract

In vitro resistance test is metod to study stability on population selection. The object of this reserch was to get *Phalainopsis* orchid clons that put up with soft rot disease (*Erwinia carotovora*). This research was conducted at the Plant Biotechnology laboratory, Departement of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultura Universitys. Since Agustus until September 2008. This researt was designby Completely Randomize Design use tree factor. The first factor was population 508, 529, 655, and 688, the second factor was 10⁹cfu/ml and 10¹⁰cfu/ml inoculum concentration, and the third factor was injury and non injury inoculation metod on leafes. The result showed that population 508 is more resistance than population 529, 655 and 688 for soft rot disease (*Erwinia carotovora*). There are found some resistance plant ; on 10⁹cfu/ml inoculum concentration, was found one imune plant and two resistance plants on 655 population, and one imune plant and one resistance plant on 688 population. While on 10¹⁰cfu/ml inoculum concentration, was found one resistance plant on 529 population and one resistance plant on 688 population.

Key word : in vitro selection, soft rot disease, population

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Anggrek merupakan salah satu tanaman hias yang banyak digemari masyarakat Indonesia maupun mancanegara karena keindahan bunganya. Menurut Dinas Tanaman Hias Departemen Pertanian (2009), komoditas ekspor bunga potong anggrek menunjukkan penurunan, baik dari segi volume maupun nilai ekspor setiap tahunnya. Tahun 2007 ekspor bunga potong anggrek mencapai sekitar 10.398 kg senilai 231.416 US \$, dan pada tahun 2008 ekspornya menurun hingga 3.140 kg senilai 8.796 US \$. Impor bunga potong anggrek juga mengalami penurunan. Tahun 2006, Indonesia mengimpor 231.993 kg senilai 171.798 US \$ dan tahun 2007 impor bunga potong anggrek menurun menjadi 1.617 kg senilai 8.394 US \$. Menurut Hendaryono (2007), Indonesia baru mampu mengekspor 25% dari anggrek yang tersedia di seluruh pelosok nusantara. Kondisi ini menunjukkan bahwa produksi anggrek dalam negeri masih belum dapat memenuhi kebutuhan pasar.

Rendahnya produksi anggrek di Indonesia salah satunya disebabkan oleh kualitas tanaman anggrek terhadap kekebalan terhadap hama dan penyakit masih rendah. Pemuliaan tanaman untuk karakter resisten terhadap penyakit merupakan salah satu cara efektif untuk melindungi tanaman dari mikroorganisme pathogen. Pemuliaan tanaman untuk sifat resistensi terhadap penyakit dapat menggunakan seleksi *in vitro* dengan menggunakan agens penyeleksi (Yusnita 2005). Salah satu penyakit penting yang menjadi masalah pada budidaya anggrek adalah penyakit busuk lunak (*soft rot*) yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia carotovora* (*E. Carotovora*) (Agrios 1996). Penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan hingga 90%, terutama pada saat dipembibitan.

Tujuan

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat ketahanan anggrek *Phalainopsis* terhadap busuk lunak yang disebabkan bakteri *E. carotovora* secara *in vitro*.

Hipotesis

Terdapat *Phalainopsis* yang tahan terhadap busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *E. carotovora* pada tingkat serangan tertentu.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan Departemen Agronomi dan Hortikultur IPB. Dari bulan Agustus sampai September 2008.

Bahan

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah empat populasi hasil persilangan *Phalaenopsis* yaitu ; 1) populasi 508 (hasil selfing *Phalainopsis Taisuco Kochdian*), 2) populasi 529 (hasil persilangan *Phalainopsis Brother Sara Gold x Saga*), 3) populasi 655 (hasil persilangan *Phalainopsis Taisuco Kochdian/Yukimai x Phalainopsis Thaisuco Kochdian*), 4) populasi 688 (hasil persilangan *Phalainopsis Mary Strip/Modern Beauty x (Dor Pulcharrima x Formosa Rose/Taisuco Rosucheny)*) dan bakteri *E. Carotovora* yang berasal dari kentang yang terkena busuk lunak. Bahan yang digunakan antara lain spirtus, alkohol 70%, dan kertas koran. Peralatan yang digunakan adalah laminar air flow cabinet, rak kultur, jarum, pipet, bunsen, erlemeyer, korek api, tissue dan gelas ukur.

Metode

Penelitian ini adalah penelitian Faktorial dengan tiga faktor yaitu Populasi, Konsentrasi Bakteri *E. carotovora* dan Cara Inokulasi yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor populasi anggrek terdiri atas empat taraf yaitu populasi “508, 529, 655, dan 688”. Faktor konsentrasi bakteri *E. Carotovora* terdiri atas dua taraf yaitu 10⁹ cfu/ml dan 10¹⁰ cfu/ml (*cfu : colony forming units*). Sedangkan faktor cara inokulasi terdiri atas dua taraf yaitu dengan pelukaan dan tanpa pelukaan pada daun. Jadi jumlah perlakuan terdiri dari 16 kombinasi dan diulang 10 kali dimana setiap ulangan terdiri dari 5 tanaman. Model rancangannya adalah

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\tau)_{ik} + (\beta\tau)_{jk} + \epsilon_{ijkl}$$

Persiapan Tanaman

Tanaman *Phalainopsis in vitro* yang digunakan adalah yang telah berumur delapan bulan, minimal memiliki satu daun panjang sekitar 1,5 cm yang telah membuka sempurna dan dalam kondisi sehat. Setiap botol dipilih 3-7 tanaman (tergantung jumlah tanaman).

Perlakuan

Anggrek tersebut kemudian diberi perlakuan inokulasi bakteri *E. carotovora* dengan cara 1) melukai bagian daun (setiap helai daun ditusuk sebanyak tiga tusukan) menggunakan jarum yang telah dicelupkan pada bakteri *E. carotovora* dan 2) menyemprotkan bakteri *E. carotovora* pada daun anggrek dengan menggunakan pipet, kedua perlakuan ini dilakukan di dalam kotak tanam.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap hari setelah inokulasi selama 10 hari. Anggrek yang telah diinokulasi diamati perkembangan serangan bakteri pada daun dengan mengamati gejalanya (busuk lunak yang berwarna coklat kehitaman dan agak basah/agak berlendir pada daun yang terserang). Peubah yang diamati meliputi masa inkubasi, diameter/lebar serangan dan persentase tanaman anggrek yang terserang *E. Carotovora*. Intensitas serangan penyakit busuk lunak dihitung dengan rumus yang dikemukakan oleh Norman *et al.* (1997) dalam Balithi (2006) :

I = Σ(n x v) / Z x N

- Dimana ;
- I : Intensitas serangan
 - N : Jumlah daun total
 - n : Jumlah daun terserang pada tiap nilai sekala
 - v : nilai skala untuk setiap daun
 - Z : Nilai skala tertinggi.

Penentuan nilai sekala sebagai berikut ;

- Nilai ;
- 0 : Tanpa gejala
 - 1 : Bercak kecil pada luasan 1% dari luas daun
 - 3 : Bercak 2 - 10 % dari luas daun
 - 5 : Bercak agak meluas 11 - 25 % dari luas daun
 - 7 : Bercak meluas 26 - 50 % dari luas daun
 - 9 : Bercak melebar > 50% dari luas daun

Selanjutnya berdasarkan intensitas serangan tersebut, tingkat ketahanan *Phalainopsis* terhadap penyakit busuk lunak ditentukan berdasarkan kriteria yang dikemukakan oleh Handayanti (2004) dalam Balithi (2006) sebagai berikut :

- Intensitas serangan ;
- 0 % = imun
 - 0 % < x ≤ 10 % = resisten
 - 10 % < x ≤ 20 % = agak resisten
 - 20 % < x ≤ 40 % = agak rentan
 - 40 % < x ≤ 60 % = rentan
 - 60 % < x = sangat rentan

Setiap tanaman yang telah diseleksi diidentifikasi berdasarkan tingkat ketahanannya, yang kemudian ditanam dan dikembangkan sebagai kandidat/harapan tanaman unggul baru dengan spesifikasi tahan terhadap bakteri *E. ceratovora*. Kriteria tanaman yang dikembangkan lebih lanjut adalah tanaman yang masuk kriteria imun dan resisten. Anggrek *Phalainopsis* ang terpilih kemudian diaklimatisasi ke dalam pot dengan media pakis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum

Tanaman *Phalainopsis* pada setiap botol tidak digunakan seluruhnya, hanya 3-7 tanaman (disesuaikan dengan keadaan tanaman). Hal ini disebabkan oleh pertumbuhan tanaman yang tidak merata, banyaknya tanaman yang masih terlalu kecil dan adanya kontaminasi.

Kontaminasi cendawan dan bakteri pada tanaman sebelum seleksi (inokulasi bakteri *E. carotovora*) diduga disebabkan oleh alat-alat yang digunakan tidak steril dan perlakuan lingkungan dan peneliti kurang bersih (Yusnita 2003). Bakteri phatogen yang dipakai adalah bakteri *Erwinia* yang telah

teridentifikasi (dalam laboratorium) baik jenis yaitu *Erwinia carotovora*, maupun jumlahnya dan telah teruji dapat menginfeksi (*virulen*) dan menyebabkan penyakit busuk lunak (*soft-rot*) pada umbi kentang. Bakteri *E. carotovora* memiliki aktivitas pektolitik yang kuat dan dapat menyebabkan penyakit busuk lunak (Agrios 1996).

Hasil pengamatan terhadap tingkat serangan daun pada empat populasi *Phalaenopsis* setelah diinokulasi dengan bakteri pathogen *E. carotovora* dapat dilihat pada (Tabel 2).

Tabel 1 Hasil analisis sidik ragam perlakuan terhadap intensitas serangan

Peubah	Intensitas Serangan (%)
Jenis Populasi	**
Konsentrasi Bakteri	tn
Cara Inokulasi	**
Jenis Populasi x Konsentrasi Bakteri	**
Jenis Populasi x Cara Inokulasi	**
Konsentrasi Bakteri x Cara Inokulasi	tn
Jenis Populasi x Konsentrasi Bakteri x Cara Inokulasi	tn

Keterangan : ** = sangat nyata, tn = tidak nyata pada α = 5 %

Hasil analisis ragam pada peubah intensitas serangan bakteri *E. carotovora* pada daun, menunjukan perbedaan yang sangat nyata pada perlakuan populasi, cara inokulasi, interaksi populasi x konsentrasi bakteri, dan populasi x cara inokulasi saat dilakukan uji F pada taraf α = 0,05. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi bakteri, interaksi konsentrasi bakteri x cara inokulasi, dan interaksi populasi x konsentrasi bakteri x cara inokulasi menunjukan perbedaan yang tidak nyata pada taraf α = 0,05 (Table 1).

Pengaruh Populasi Terhadap Intensitas Serangan

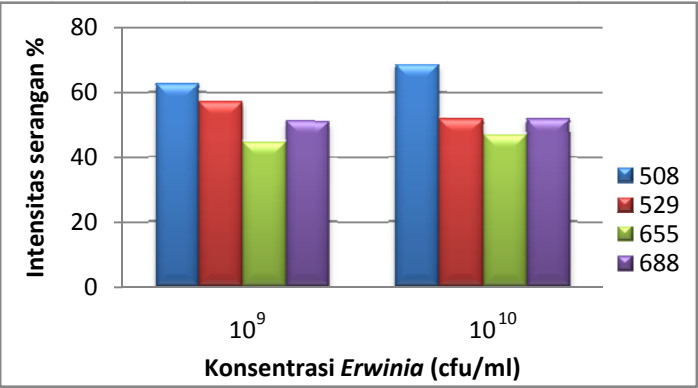
Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukan bahwa populasi berpengaruh nyata terhadap intensitas kerusakan. Populasi “508” merupakan populasi paling rentan dibandingkan dengan populasi “529, 655 dan 688” (Tabel 2). Resistensi tanaman terhadap phatogen dapat diwujudkan dalam berbagai mekanisme, misalnya modifikasi dinding sel, induksi sintesis enzim yang terlibat dalam biosintesis fitoaleksin, sintesis enzim hidrolitik dan sintesis inhibitor bermacam-macam proteinase (Yuwono 2006).

Tabel 2 Pengaruh populasi terhadap intensitas serangan pada daun anggrek *Phalainopsis*

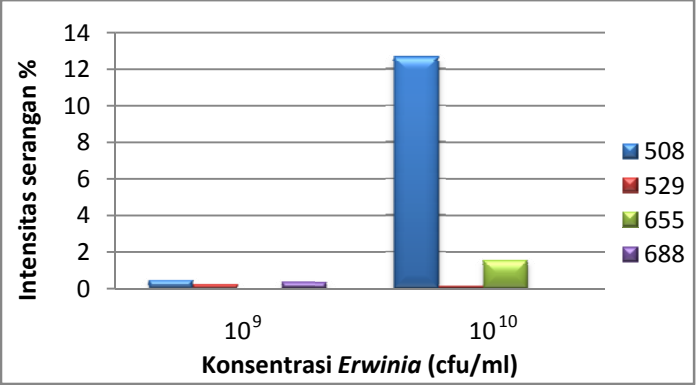
Populasi	Kejadian Penyakit 10 hsi (%)	Interval Intensitas Serangan (%)	Rata-rata Intensitas Serangan (%)	Tingkat Ketahanan
508	100	24.4 – 91.1	41.5 a	Rentan
529	100	8.9 – 77.8	27.7 b	Agak Rentan
655	99.0	0.0 – 77.8	27.4 b	Agak Rentan
688	98.3	0.0 – 77.8	26.5 b	Agak Rentan

Keterangan : Nilai pada baris perlakuan yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Ducan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5%

Gambar (1 dan 2), menunjukan perbandingan intensitas serangan pada tiap-tiap populasi terhadap pengaruh konsentrasi inokulum dan cara inokulasi. Populasi “508” menunjukan intensitas kerusakan tertinggi baik pada konsentrasi inokulum berbeda maupun cara inokulasi. Ini berarti populasi “508” merupakan populasi paling rentan dibandingkan dengan populasi “ 529, 655 dan 688”.



Gambar 1. Pengaruh populasi terhadap intensitas kerusakan pada daun *Phalainopsis* dengan pelukaan



Gambar 2. Pengaruh populasi terhadap intensitas kerusakan pada daun *Phalainopsis* dengan tanpa pelukaan

Mekanisme ketahanan yang terjadi pada tanaman yang resisten terhadap penyakit busuk lunak diduga berhubungan dengan reaksi pertahanan nekrotik yaitu phatogen mungkin mempenetrasi dinding sel, tetapi segera setelah phatogen kontak dengan protoplasma sel, reaksi hipersensitif menyebabkan hancurnya semua membran seluler dari sel-sel yang kontak dengan bakteri, dan kemudian diikuti dengan pengeringan dan nekrosis jaringan daun yang terserang bakteri tersebut. Resistensi terhadap penyakit busuk lunak diduga berhubungan dengan reaksi detoksifikasi salah satu faktor phatogenitas yaitu kutinase yang dapat merombak kutin yang merupaka komponen utama kutikula, serta pektinase yang dapat menguraikan zat pektik yang merupakan penyusun utama dinding sel dan lamella tengah pada tumbuhan (Agrios 1996).

Pengaruh konsentrasi bakteri *Erwinia carotovora* Terhadap Intensitas Serangan

Berdasarkan hasil analisis ragam terhadap intensitas serangan, perlakuan konsentrasi bakteri tidak berpengaruh nyata (kedua konsentrasi bakteri yang dipakai dalam inokulasi). Dengan kata lain penggunaan konsentrasi bakteri 10⁹ cfu/ml dan 10¹⁰ cfu/ml menunjukan hasil yang tidak berbeda terhadap tingkat intensitas serangan bakteri (Tabel 3).

Tabel 3 Perlakuan konsentrasi bakteri terhadap intensitas serangan pada daun *Phalainopsis*

Konsentrasi Bakteri	Intensitas serangan (%)
10 ⁹ cfu/ml	31.421 a
10 ¹⁰ cfu/ml	30.701 a

Keterangan : Nilai pada baris perlakuan yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5 %

Bakteri *E. carotovora* menghasilkan senyawa pektik dan mempunyai aktivitas pektolitik yang kuat sehingga menyebabkan busuk lunak pada tumbuhan (Agrios 1996).

Pengaruh Cara Inokulasi Terhadap Intensitas Serangan

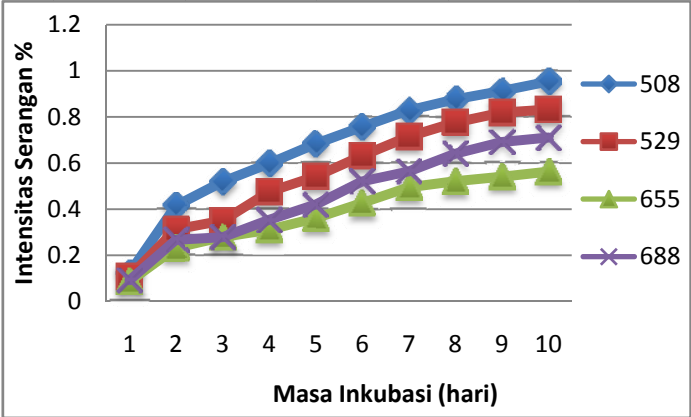
Hasil analisis ragam menunjukan bahwa cara inokulasi berpengaruh sangat nyata terhadap intensitas serangan bakteri *E. carotovora* pada daun anggrek *Phalainopsis* (Tabel 4). Pada umumnya bakteri *E. ceratovora* menyerang tubuh tanaman melalui pelukaan dan sedikit melalui lubang antar sel dan stomata (Agrios 1996).

Tabel 4 Cara Inokulasi terhadap intensitas serangan pada daun *Phalainopsis*

Cara Inokulasi	Intensetas serangan (%)
Pelukaan	54.1 a
Tanpa Pelukaan	1.9 b

Keterangan : Nilai pada baris perlakuan yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Ducan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5 %

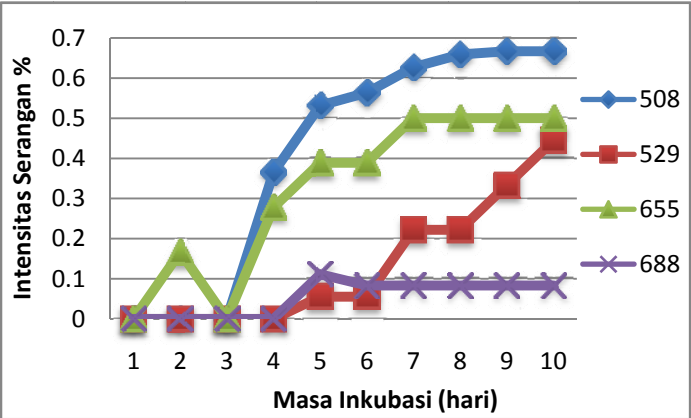
Perbandingan antara tingkat intensitas serangan bakteri dengan pelukaan pada setiap populasi yang di uji, menunjukan bahwa populasi “508” merupakan populasi yang paling rentan, kemudian populasi 529, populasi “688” dan yang paling tahan adalah populasi “655” (Gambar 3). Interaksi antara pathogen dan tanaman (inang) sangat dipengaruhi oleh masa inkubasi dan lingkungan sekitar seperti *E. carotovora* akan berkembang dengan cepat pada suhu 24-31 °C dan dalam keadaan lembab.



Gambar 3. Grafik perkembangan serangan *E. carotovora* dengan pelukaan

Pada umumnya setelah satu hari setelah inokulasi, daun *Phalainopsis* yang diinokulasi dengan pelukaan menunjukan gejala serangan bakteri *E. ceratovora* dengan skala 1 (bercak kecil berwarna coklat kehitaman). Kemudian penyakit terus berkembang hingga pengamatan hari kesepuluh.

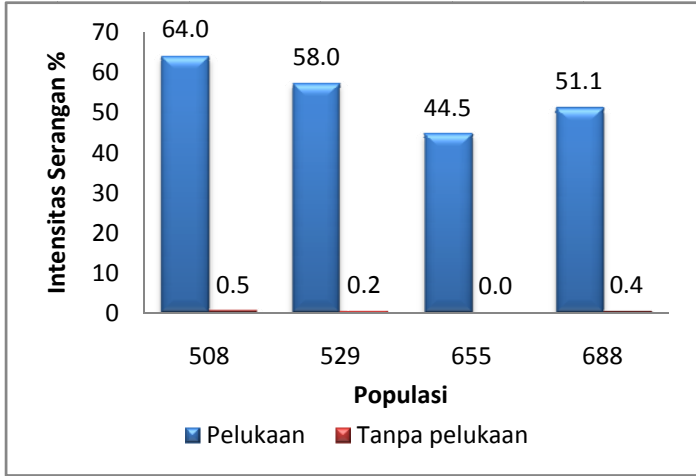
Sedangkan pada cara inokulasi tanpa pelukaan, perbandingan antara tingkat intensitas serangan bakteri *E. carotovora* menunjukan bahwa populasi 508 merupakan populasi yang paling rentan, dan yang paling tahan adalah populasi 688 pada konsentrasi *E. carotovora* 10⁹ cfu/ml (Gambar 5).



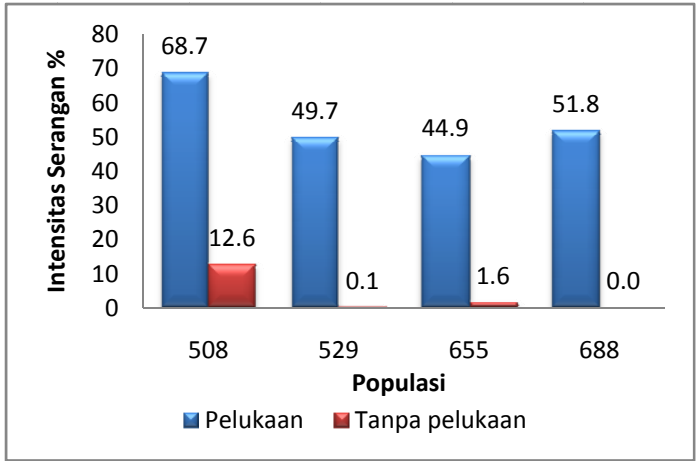
Gambar 5. Grafik perkembangan serangan *E. carotovora* tanpa pelukaan

Masuknya bakteri *E. carotovora* pada perlakuan cara inokulasi tanpa pelukaan diduga melalui lubang alami pada tubuh tanaman *Phalainopsis*. Penyakit busuk lunak dapat ditularkan melalui berbagai cara yaitu infeksi antar tanaman, air, lubang-lubang alami, peralatan yang telah terinfeksi, dan serangga. Bakteri *Erwinia carotovora* dapat bertahan dalam usus serangga selama beberapa jam, sehingga dapat dipindahkan secara mudah oleh serangga (Semangun 2007).

Tampak bahwa cara inokulasi sangat berpengaruh terhadap intensitas serangan daun *Phalainopsis* (Gambar 7 dan 8). Berdasarkan hasil penelitian menunjukan bakteri *E. ceratovora* menyerang daun *Phalainopsis* melalui pelukaan atau tanpa pelukaan, kecil kemungkinannya bakteri *E. ceratovora* dapat masuk kedalam daun *Phalainopsis* dan menyebabkan penyakit busuk lunak.



Gambar 7. Pengaruh cara inokulasi terhadap intensitas serangan daun pada konsentrasi 10⁹ cfu/ml



Gambar 8. Pengaruh cara inokulasi terhadap intensitas kerusakan daun pada konsentrasi 10¹⁰ cfu/ml

Pada tanaman anggrek, bakteri *Erwinia carotovora* pada umumnya masuk ke dalam badan tanaman melalui luka-luka dan menyebabkan busuk lunak yang berkembang dengan pesat terutama pada masa pembibitan. Gejala pada anggrek yang terserang ditandai dengan timbulnya bercak yang berwarna coklat kehitaman. Kemudian daun menjadi berair, lembek, turgornya hilang, dan mengeluarkan bau tidak enak (tanaman busuk). Pada jaringan muda yang lunak pembusukan maju dengan pesat (Agrios 1996 ; dan Semangun 2007).

Interaksi Perlakuan Terhadap Intensitas Serangan
Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukan bahwa interaksi populasi dengan konsentrasi bakteri berbeda nyata terhadap intensitas serangan. Pada interaksi populasi dengan konsentrasi bakteri populasi “508”menunjukan intensitas

serangan tertinggi, dan hasil analisis menunjukan populasi “508” berbeda nyata terhadap populasi “529, 655 dan 688” (Tabel 5).

Tabel 5 Interaksi populasi dengan konsentrasi bakteri terhadap intensitas serangann pada daun *Phalainopsis*

Konsentrasi Inokulum (cfu/ml)	Populasi			
	508	529	655	688
(intensitas serangan %)				
10 ⁹	40.5 a	29.5 b	28.0 b	25.7 b
10 ¹⁰	42.8 a	26.1 b	24.9 b	29.0 b

Keterangan : Nilai pada baris perlakuan yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5 %.

Berdasarkan hasil analisis ragam, interaksi populasi dan cara inokulasi menunjukan berbeda nyata terhadap intensitas serangan. Interaksi populasi “508” dengan cara inokulasi melalui pelukaan menunjukan intensitas serangan tertinggi (Tabel 7).

Tabel 7 Interaksi populasi dengan cara inokulasi terhadap intensitas serangan pada daun *Phalainopsis*

Cara Inokulasi (cfu/ml)	Populasi			
	508	529	655	688
(intensitas serangan %)				
Pelukaan	65.9 a	53.3 b	44.8 c	51,5 b
Tanpa Pelukaan	6.6 d	0.2 e	0,8 e	0,2 e

Keterangan : Nilai pada baris perlakuan yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5 %

Pertahanan struktural yang terdapat pada tumbuhan antara lain jumlah dan kualitas lilin dan kutikula yang menutupi sel epidermis, struktur dinding sel epidermis, ukuran, letak, dan bentuk stomata dan lentisel, dan jaringan dinding sel yang tebal. Meskipun pertahanan internal ada yang telah ada sebelumnya, tetapi sebagian besar pathogen masih mampu melakukan peleburan inangnya dan menyebabkan infeksi. Oleh sebab itu biasanya tumbuhan memberikan tanggapan dengan membentuk suatu jenis struktur atau lebih untuk mempertahankan serangan pathogen. Bentuk struktural tersebut antarlain struktur pertahanan jaringan (*histological defense structure*), struktur pertahanan sel (*cellular defense structure*), reaksi pertahanan sitoplasma (*cytoplasmic defense reaction*), nekrotik atau sistem pertahanan hipersensitif (*hypersensitive defense reaction*) (Agrios 1996).

Menurut Janse (2006) perkembangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. carotovora* tergantung pada : 1) kelembapan (air hujan, embun, air dari semprotan / penyiraman / pengairan, dan debu / tanah). 2) ketahanan varietas, umur, vigor, dan asal bunga induk. 3) kemampun perkembangan koloni bakteri. 4) bawaan dari serangga. 5) bawaan angin dari tanaman sakit / sumber penyakit. 6) suhu terutama pada tanaman muda. Dengan mengetahui sistem perkembangan penyakit dan akibat yang ditimbulkan, dapat membantu dalam memprediksi dan mengendalikan penyakit.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Untuk mengevaluasi respons ketahanan populasi *Phalaenopsis* secara *in vitro* terhadap penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia carotovora*, metode inokulasi yang paling efektif adalah dengan cara melukai daun dengan jarum yang telah dicelupkan dalam bakteri *Erwinia carotovora*.
2. Populasi 508 berdasarkan intensitas serangan tergolong populasi yang rentan sedangkan populasi 529, 655, dan 688 tergolong populasi agak rentan.

3. Terdapat dua tanaman yang imun dan lima tanaman resisten terhadap penyakit busuk lunak *Erwinia carotovora*.
4. Penggunaan konsentrasi bakteri *Erwinia carotovora* 10^9 cfu/ml dan 10^{10} cfu/ml menunjukkan respon yang tidak berbeda terhadap intensitas serangan.
5. Metode pengujian ketahanan *in vitro* pada *Phalaenopsis* terhadap penyakit busuk lunak dengan agensia penyeleksi *Erwinia carotovora* terbukti efektif.

Saran

1. Penelitian lebih lanjut untuk menguji ketahanan terhadap penyakit busuk lunak di luar kultur diperlukan untuk menguji kestabilan sifat ketahanan di alam.
2. Perlu dilakukan seleksi lebih lanjut pada tanaman-tanaman terpilih untuk mendapatkan klon yang tahan terhadap penyakit busuk lunak baik *in vitro* maupun *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 1996. Plant Pathology 3rd. Dalam Busnia, M (ed). Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Balai Penelitian Tanaman Hias. 2006. Pra-Evaluasi Ketahanan Anggrek Phalaenopsis terhadap Penyakit Busuk Lunak (*Erwinia* spp.). [http://www.balithi.litbang.deptan.go.id/siplasmaok/ PraevaluasiErwinia.2006.pdf](http://www.balithi.litbang.deptan.go.id/siplasmaok/PraevaluasiErwinia.2006.pdf). [27 November 2008].
- Dinas Tanaman Hias. 2009. Perkembangan Volume dan Nilai Ekspor Tanaman Hias Tahun 2005 – 2009. <http://dithias.hortikultura.deptan.go.id/data%20dan%20informasi/Export%20Import.pdf>. [1 Januari 2010].
- Direktorat Jendral Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2005. Pasca Panen dan Pemasaran Anggrek 2005-2010. [http://agribisnis.deptan.go.id/xplore/files/ Profilorganisasi/Rencanastrategis/LampiranRoadmap/Road%20Map%20Anggrek .pdf](http://agribisnis.deptan.go.id/xplore/files/Profilorganisasi/Rencanastrategis/LampiranRoadmap/Road%20Map%20Anggrek.pdf). [14 Januari 2010]
- Janse, J. D. 2005. Phytobacteriology Principles and Practice. CABI Publisng.London.
- Hemon, A. F. 2006. Efektivitas Seleksi In Vitro Berulang untuk Mendapatkan Plasma Nutfah Kacang Tanah Toleran terhadap Cekaman Kekeringan dan Resisten terhadap Penyakit Busuk Batang *Sclerotium rolfsii*. Disertasi, Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 183hal.
- Hendaryono, D. P. S. 2007. Anggrek dalam Botol. Kanisius. Yogyakarta. 70hal.
- Palupi, T. 2001. Evaluasi Ketahanan Populasi Kentang Hasil Fusi Protoplas terhadap Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia solanacearum* melalui Seleksi *In Vitro* dan Pengujian di Rumah Kaca. Tesis, Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 66hal.
- Purwati, R. D. 2007. Variasi Somapopulasial dan seleksi *In Vitro* Abaka (*Musa textilis Nee*) untuk Ketahanan Terhadap Layu Fusarium. Disertasi, Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 140hal.
- Semangun, H. 2007. Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Yusnita. 2005. Induksi Variasi Somapopulasial dan Teknik Seleksi *In Vitro* untuk Mendapatkan Galur Kacang Tanah (*Arachis hypogaeae* L.) Resisten Penyakit Busuk Batang Sclerotium. Disertasi, Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 160hal.
- Yuwono, Triwibowo. 2006. Bioteknologi Pertanian. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.