

Uji Ketahanan Anggrek Hibrida *Phalaenopsis* terhadap Penyakit Busuk Lunak yang Disebabkan oleh *Dickeya dadantii*

Resistancy Test to Soft Rot Disease caused by Dickeya dadantii on Phalaenopsis Hybrids

Refa Firgiyanto^{1,2}, Sandra Arifin Aziz^{3*}, Dewi Sukma³, dan Giyanto⁴

¹Program Studi Agronomi dan Hortikultura, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Program Studi Produksi Pangan dan Hortikultura, Politeknik Pertanian dan Peternakan Mapena Tuban
Jl. Raya Bojonegoro-Lasem Km 32 Desa Lajo Lor, Singgahan, Tuban 62361, Indonesia

³Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

⁴Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 22 Mei 2015/Disetujui 21 September 2015

ABSTRACT

One of the most popular orchids and cultivated by Indonesia and other countries is *Phalaenopsis*. The main disease of *Phalaenopsis* orchids in Indonesia is soft rot caused by bacteria *Dickeya dadantii*. The purpose of this study was to know the resistancy of *Phalaenopsis* hybrid to soft rot disease. The experiment was conducted at the Bacterial Plant Laboratory, Department of Plant Protection, the Greenhouse of Leuwikopo, Bogor Agricultural University, and the plastic house of Alam Sinar Sari Dramaga, Bogor from June 2014 to February 2015. The experimental design was randomized block design with three replications. Five genotypes of hybrid *Phalaenopsis* were tested, namely *Phal. KHM 205*, *Phal. KHM 1126*, *Phal. KHM 1318*, *Phal. AMP 17*, and *Phal. KHM 2249*. *Phal. amabilis*, *Phal. esmeralda*, *Phal. amboinensis*, and *Phal. cornu-cervi* were used as controls. The resistance testing was performed by inoculating bacteria *D. dadantii* on leaves of the orchids. The results showed all *Phalaenopsis* hybrid showed disease symptoms after inoculation. *Phal. KHM 2249* had the lowest number of fallen leaves and the highest number of survive plants compared to the other hybrid *Phalaenopsis*. Survival rate was likely related to peroxidase activity and leaf thickness.

Keywords: fallen leaves, leaf thickness, peroxidase, *Phalaenopsis*

ABSTRAK

Anggrek *Phalaenopsis* adalah anggrek paling populer dan banyak dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia maupun negara lainnya. Penyakit utama pada *Phalaenopsis* di antaranya penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *Dickeya dadantii*. Tujuan penelitian ini yaitu mempelajari ketahanan *Phalaenopsis* terhadap penyakit busuk lunak. Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Bakteri Tanaman, Departemen Proteksi Tanaman dan Rumah Kaca Leuwikopo, Institut Pertanian Bogor serta Rumah plastik Alam Sinar Sari Dramaga dari bulan Juni 2014 sampai Februari 2015. Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dengan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah lima genotipe *Phalaenopsis* hibrida yaitu *Phal. KHM 205*, *Phal. KHM 1126*, *Phal. KHM 1318*, *Phal. AMP 17*, dan *Phal. KHM 2249*. Anggrek pembanding sebagai kontrol menggunakan *Phal. amabilis*, *Phal. esmeralda*, *Phal. amboinensis* dan *Phal. cornu-cervi*. Pengujian ketahanan dilakukan dengan menginokulasi bakteri *D. dadantii* pada daun anggrek. Hasil penelitian menunjukkan adanya gejala penyakit setelah diinokulasi pada seluruh *Phalaenopsis* hibrida. *Phal. KHM 2249* memiliki jumlah daun gugur lebih sedikit dan jumlah tanaman hidup yang lebih banyak dibandingkan dengan *Phalaenopsis* hibrida lainnya yang didukung oleh aktivitas peroksidase yang tinggi dan daun yang tipis.

Kata kunci: daun gugur, ketebalan daun, peroksidase, *Phalaenopsis*

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: sandraaziz@yahoo.com

PENDAHULUAN

Phalaenopsis adalah anggrek yang paling populer dan banyak dibudidayakan di daerah tropis maupun subtropis. *Phalaenopsis* merupakan tanaman berbunga yang paling penting di dunia (Chang *et al.*, 2013). *Phalaenopsis* di Indonesia telah ditetapkan menjadi bunga nasional. Kelebihan *Phalaenopsis* dibandingkan anggrek yang lainnya yaitu relatif cepat berbunga, warna dan bentuknya menarik, penampilannya bervariasi, dan waktu mekar bunga yang lebih lama. Tanaman anggrek *Phalaenopsis* juga memiliki ketahanan dan kemampuan untuk berbunga dibawah kondisi yang kurang baik (Chang dan Susilo, 2014).

Penyakit tanaman merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap kualitas anggrek *Phalaenopsis*. Perkembangan penyakit di Indonesia didukung oleh agroklimat yang memiliki iklim tropis basah. Hal tersebut menyebabkan kondisi suhu dan kelembaban yang fluktuatif sehingga membantu penyebaran penyakit, selain itu faktor perubahan iklim juga berpengaruh terhadap perkembangan penyakit (Garret *et al.*, 2006). Bakteri *Dickeya dadantii* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada anggrek termasuk *Phalaenopsis* (Fu dan Huang, 2011; Muharam *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2011; Joko *et al.*, 2014). *D. dadantii* dapat menyerang ke seluruh bagian tanaman. Serangan dapat meluas dengan cepat dalam beberapa hari di pembibitan anggrek pada fase vegetatif apabila kondisi mendukung sehingga menyebabkan kematian.

Pencegahan penyakit *D. dadantii* pada umumnya mengandalkan penyemprotan pestisida yang diaplikasikan secara intensif, namun pengendalian dengan cara tersebut membutuhkan biaya yang mahal dan dapat menyebabkan penurunan kualitas secara keseluruhan karena residu dari penyemprotan pestisida menempel pada permukaan daun maupun bunga (Handayati *et al.*, 2004). Berdasarkan pertimbangan tersebut perlu dikembangkan alternatif pengendalian yang lebih murah, efisien, ramah lingkungan, dan tidak mengganggu kualitas tanaman. Penggunaan varietas tahan merupakan salah satu alternatif pengendalian yang dapat diperoleh melalui seleksi pada saat pembibitan. Peroksidase pada tanaman yang tahan umumnya meningkat aktivitasnya apabila ada serangan patogen. Peroksidase adalah enzim yang berperan dalam mengkatalis reaksi akhir dari pembentukan lignin dan fenol lainnya yang berkaitan dengan pertahanan tanaman untuk memperkuat dinding sel. Nilai aktivitas peroksidase berbeda-beda pada setiap tanaman, pada tanaman padi nilai aktivitas peroksidase berkisar $1.05 \times 10^{-3} \Delta 420 \text{ menit}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ protein tanpa diinokulasi dengan *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*, sedangkan setelah diinokulasikan dengan *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* aktivitas peroksidase mengalami peningkatan sebesar $1.80 \times 10^{-3} \Delta 420 \text{ menit}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ protein (Agustiyansyah *et al.*, 2013).

Seleksi anggrek *Phalaenopsis* untuk perbaikan sifat ketahanan dilakukan baik terhadap kultivar lokal, spesies liar, maupun hibrid-hibrid yang berasal dari persilangan antara spesies (Rianawati, 2010). Tujuan dari penelitian ini yaitu menguji dan menganalisis tingkat ketahanan beberapa

anggrek hibrida *Phalaenopsis*, karena informasi karakter yang mendukung sifat ketahanan terhadap *D. dadantii* belum banyak dilaporkan.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Bakteri Tanaman, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB, untuk penyiapan media dan isolasi bakteri. Pengujian ketahanan selanjutnya dilakukan di Rumah Kaca Leuwikopo, Institut Pertanian Bogor, dan Rumah Plastik Alam Sinar Sari Dramaga, dari bulan Juni 2014 sampai Februari 2015. Anggrek hibrida *Phalaenopsis* yang digunakan berasal dari perbanyakan klonal yang terdiri atas lima genotipe yaitu, *Phal.* KHM 205 (*Dtps.* Ihsin new girls KH5250), *Phal.* KHM 1126 (*Dtps.* Ihsin fireball KH6586#1), *Phal.* KHM 1318 (*Phal.* Sogo yukidian), *Phal.* AMP 17 dan *Phal.* KHM 2249 (*Phal.* Salu peoker x *Dtps* Ihsin cappriccico), sedangkan kontrol yang digunakan sebagai pembanding adalah *Phal. amabilis*, *Phal. esmeralda*, *Phal. amboinensis*, dan *Phal. cornu-cervi*. *Phal. amboinensis*, dan *Phal. cornu-cervi* merupakan anggrek *Phalaenopsis* yang bersifat tahan terhadap serangan penyakit busuk lunak (Handayati *et al.*, 2004).

Penyediaan Isolat *D. dadantii*

Bakteri diisolasi dari tanaman yang menunjukkan gejala busuk lunak, lalu ditumbuhkan pada media CPG (*Casamino Acid Peptone Glucose Agar*). Bakteri hasil isolasi kemudian diuji melalui beberapa tahapan pengujian. Pengujian reaksi hipersensitif dilakukan dengan menginokulasikan suspensi bakteri yang ditumbuhkan pada media LB menggunakan jarum suntik ke tanaman tembakau varietas *White barley*. Reaksi hipersensitif ditunjukkan dengan reaksi nekrotik yang terlokalisir dalam waktu 24 jam setelah inokulasi, yang menunjukkan bahwa bakteri dari isolasi merupakan patogen. Uji patogenesitas berdasarkan metode Muharam *et al.* (2012) dengan menginokulasikan bakteri pada tanaman anggrek *Phalaenopsis*. Hal tersebut dilakukan untuk melihat apakah bakteri tersebut mampu menimbulkan penyakit atau tidak, sesuai dengan gejala awal. Pengamatan terhadap karakter morfologi bakteri *D. dadantii* meliputi bentuk koloni, warna koloni, bentuk pinggir, dan elevasi, kemudian dibandingkan dengan literatur untuk mengetahui persamaan karakter morfologinya. Pengujian KOH dilakukan dengan meneteskan 2 tetes KOH 3% ke koloni bakteri, kemudian hasil percampuran tersebut diangkat ke atas dengan menggunakan jarum loop. Bakteri gram-negatif akan membentuk benang berlendir setelah pencampuran.

Pengujian selanjutnya yaitu pengujian DNA bakteri dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan Sekuensing. Pengujian ini dimulai dengan ekstraksi DNA menggunakan protokol kit ekstraksi DNA (*GeneJET Genomic DNA Purification Kit # K0722*). DNA kemudian diamplifikasi pada 16S rRNA dengan PCR pada mesin Gene Amp PCR System 9700. Amplifikasi gen 16S rRNA bakteri dilakukan menggunakan sepasang primer general untuk kelompok

prokariotik (bakteri), yaitu 27F dan 1492R (Lane, 1991). DNA hasil PCR selanjutnya dielektroforesis pada gel agarose 1% dalam 2X TAE buffer, pada 75 volt selama 35 menit, kemudian divisualisasi pada transiluminator UV untuk mengamati pita DNA yang terbentuk. Proses perurutan basa (DNA sekuensing) dilakukan oleh perusahaan jasa 1st Base Malaysia. Data sekuen gen 16S-rRNA yang diperoleh kemudian diolah menggunakan Bioedit dan dimasukkan dalam program BLAST dari *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) untuk mencari padanan sekuen yang homolog dari sekuen gen bakteri lain yang terdapat dalam *Genbank*, untuk memastikan spesies bakteri dari isolat.

Uji Ketahanan Berbagai Jenis Anggrek terhadap Penyakit Busuk Lunak

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok dengan tiga ulangan. Perlakuan yang diterapkan adalah lima anggrek hibrida *Phalaenopsis*, yaitu terdiri dari *Phal.* KHM 205, *Phal.* KHM 1126, *Phal.* KHM 1318, *Phal.* AMP 17 dan *Phal.* KHM 2249, dengan setiap unit percobaan berjumlah lima tanaman untuk masing-masing genotipe. Kontrol yang digunakan yaitu *Phal. amabilis*, *Phal. esmeralda*, *Phal. amboinensis*, dan *Phal. cornu-cervi*, masing-masing genotipe pembanding berjumlah dua tanaman tanpa ulangan. Tanaman yang digunakan berada pada fase vegetatif, berumur 18 bulan setelah aklimatisasi, dengan jumlah daun sebanyak tiga daun per tanaman. Tanaman ditumbuhkan pada media *sphagnum moss* untuk anggrek hibrida *Phalaenopsis* dan media pakis untuk genotipe pembanding. Pemeliharaan yang dilakukan meliputi penyiraman dan pemupukan NPK (32-10-10) yang dilakukan setiap satu minggu sekali.

Inokulasi bakteri dilakukan dengan cara menusuk daun ke-dua bagian atas pada tanaman anggrek dengan tusuk gigi yang mengandung koloni bakteri *D. dadantii* sementara bagian bawah daun ditekan dengan jari. Peubah yang diamati yaitu masa inkubasi (waktu yang dibutuhkan dari inokulasi sampai muncul gejala awal penyakit), luas gejala serangan untuk melihat perkembangan serangan patogen *D. dadantii* dengan rumus πr^2 . Aktivitas enzim peroksidase dianalisis pada saat sebelum inokulasi, dua hari setelah inokulasi dan dua bulan setelah inokulasi dengan metode Kar dan Mishra (1976); Pudjihartati *et al.* (2006); Sukma *et al.* (2008), yaitu 100 mg ekstrak protein jaringan daun ditambahkan ke dalam larutan 2.5 ml pirogalol 0.2 M, kemudian campuran tersebut ditambah dengan H₂O₂ (1%) sebanyak 250 μ l. Nilai absorbansi larutan sesudah reaksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 420 nm setiap 30 detik dalam periode 0-240 detik. Blanko campuran menggunakan larutan yang sama tetapi tanpa ekstrak protein sehingga sebagai pengganti ekstrak protein, larutan ditambah larutan penyangga fosfat. Aktivitas peroksidase dihitung sebagai peningkatan nilai absorbansi per satuan waktu per bobot protein ($\Delta 420/\text{menit}/\text{mg protein}$) pada kondisi analisis.

Peubah morfologi yang diamati yaitu ketebalan daun dengan mengamati daun anggrek yang telah dipotong

sampai tipis dengan menggunakan silet secara membujur kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya untuk diukur ketebalannya; kadar air daun dengan rumus: [(bobot basah-bobot kering)/bobot basah] x 100%; jumlah daun gugur; dan jumlah tanaman hidup pada dua minggu setelah inokulasi untuk mengetahui perkembangan penyakit. Analisis data antar karakter anggrek hibrida *Phalaenopsis* menggunakan program SAS (*Statistical Analysis System*) 9.1, pada α 0.05, dan dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan DMRT pada α 0.05. Perbandingan karakter masing-masing anggrek hibrida *Phalaenopsis* dengan karakter masing-masing genotipe pembanding sebagai kontrol dilakukan menggunakan Uji t-student's pada α 0.05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyediaan Isolat D. dadantii

Pengujian reaksi hipersensitif menunjukkan adanya reaksi nekrotik yang terlokalisir berwarna pucat atau merah perunggu yang muncul 24 jam setelah infiltrasi bakteri, tanpa terjadi penyebaran bakteri ke jaringan sekitarnya. Hasil uji patogenitas menunjukkan adanya gejala penyakit yang tidak berbeda dengan gejala pada daun anggrek sakit yang menjadi sumber isolat sebelumnya. Bakteri dari daun yang bergejala kemudian ditumbuhkan kembali pada media semi selektif CPG untuk diidentifikasi lagi. Berdasarkan karakter morfologi koloninya, terlihat warna putih atau kekuningan, koloni muda berbentuk melingkar, cembung, lembut dengan tepi yang tidak teratur tergantung pada kadar air dari media pertumbuhan. Karakter morfologi bakteri *D. dadantii* yang diperoleh pada penelitian menunjukkan karakter yang sama seperti pada penelitian Dickey (1979) dan Muharam *et al.* (2012).

Hasil uji KOH menunjukkan adanya benang berlendir berwarna kuning yang dapat terangkat oleh *loop*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri *D. dadantii* merupakan bakteri gram negatif (Dickey, 1979; Lee *et al.*, 2006; Kaneshiro *et al.*, 2008). Hasil identifikasi sekuen DNA dengan program BLAST menunjukkan bahwa bakteri hasil isolasi adalah *Dickeya dadantii* strain CFBP 1269 16S ribosomal RNA gene dengan kesamaan homolog sebesar 97%.

Tingkat Ketahanan Berbagai Jenis Anggrek terhadap D. dadantii

Waktu inkubasi terjadi dalam waktu 24 jam, ditandai dengan munculnya gejala penyakit busuk lunak yaitu adanya bercak lunak yang berair atau berlendir pada permukaan daun setelah diinokulas dan apabila ditekan dengan tangan, cairan dalam daun akan dengan mudah keluar. Cairan tersebut berisi koloni bakteri berwarna putih disertai bau yang tidak enak. Gejala berkembang dengan cepat dalam waktu tiga hari dan menyebabkan hampir seluruh permukaan daun menunjukkan gejala penyakit busuk lunak. Perkembangan gejala yang cepat juga ditemukan dalam waktu 24 jam pada penelitian Handayati *et al.* (2004) dan Rianawati (2010), serta dalam waktu 36 jam pada penelitian Fu dan Huang

(2011). Perkembangan gejala terjadi secara lebih cepat apabila ada kondisi lingkungan yang mendukung, seperti suhu hangat dengan kelembapan yang tinggi (Rianawati, 2010).

Phalaenopsis adalah tanaman yang memiliki karakter morfologi daun yang lebih lunak, ketebalan daun yang tinggi serta sukulen yang dicirikan dengan struktur dinding sel yang tipis (Wang, 2007), sehingga memudahkan penyebaran dan penetrasi dari bakteri. Dinding sel merupakan salah satu pertahanan struktural tanaman untuk dapat mencegah penyakit dan memblokir penyebaran racun dan enzim yang dikeluarkan oleh patogen (Handayati *et al.*, 2004; Rianawati, 2010). Gejala busuk lunak terjadi karena adanya penghancuran dinding sel meristematik dan sel parenkim yang terdiri dari dinding sel primer dan lamella tengah yang menyebabkan adanya pemecahan molekul menjadi unit yang sederhana yang dimanfaatkan patogen. Pemecahan molekul tersebut disebabkan karena adanya satu set enzim ekstraseluler dari bakteri seperti pektinase, selulase, dan protease sebagai perombak senyawa lamella tengah dan dinding sel, yang menyebabkan sel mengalami plasmolisis dan kematian (Grenier *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2008; Kepseu *et al.*, 2010).

Gejala serangan yang disebabkan oleh *D. dadantii* pada seluruh anggrek hibrida *Phalaenopsis* menunjukkan adanya luasan yang tidak berbeda nyata satu sama lain (Tabel 1). *Phal.* KHM 2249 menunjukkan adanya kecenderungan luas gejala yang cukup rendah sebesar 0.66 cm sampai 4.73 cm dan 5.36 cm sampai 8.21 cm dibandingkan anggrek hibrida *Phalaenopsis* lainnya pada 2 dan 3 hari setelah inokulasi. Luas gejala serangan pada anggrek hibrida *Phalaenopsis* dibandingkan dengan anggrek pembanding sebagai kontrol menunjukkan adanya luas gejala serangan yang lebih rendah pada *Phal.* KHM 2249 dibandingkan anggrek hibrida

Phalaenopsis lainnya. Luas gejala serangan pada *Phal.* KHM 2249 tidak berbeda nyata dengan dua jenis anggrek pembanding yaitu pada *Phal. amabilis* dan *Phal. esmeralda*. *Phal. amboinensis* dan *Phal. cornu-cervi* menunjukkan tidak adanya gejala serangan busuk lunak setelah diinokulasi. Hasil serupa juga ditemukan pada penelitian Handayati *et al.* (2004) yang menyatakan kedua jenis anggrek ini bersifat tahan terhadap penyakit busuk lunak.

Berdasarkan hasil percobaan pada anggrek hibrida *Phalaenopsis*, sebelum inokulasi dan dua bulan setelah inokulasi, tidak terdeteksi adanya aktivitas peroksidase, namun pada dua hari setelah inokulasi ada peningkatan aktivitas. *Phal.* KHM 2249 menunjukkan adanya aktivitas peroksidase yang lebih tinggi 66.5% sampai 100% dibandingkan *Phal.* KHM 205, *Phal.* KHM 1126 dan *Phal.* KHM 1318, namun tidak berbeda dengan *Phal.* AMP 17 (Tabel 2). Aktivitas peroksidase pada *Phal.* KHM 2249 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan anggrek *Phal. amboinensis* dan *Phal. cornu-cervi* namun tidak berbeda dengan *Phal. amabilis* dan *Phal. esmeralda* dengan aktivitasnya sebesar 200×10^{-6} ($\Delta 420 \text{ menit}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$) (Tabel 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas peroksidase meningkat ketika ada serangan patogen. Peroksidase merupakan suatu kelompok PR-protein yang terakumulasi pada saat tanaman sakit dan ekspresinya dapat diakibatkan karena terinfeksi patogen atau lingkungan yang kurang menguntungkan (Gulen *et al.*, 2008; Almagro *et al.*, 2009). Pudjihartati *et al.* (2006) melaporkan adanya peningkatan aktivitas peroksidase yang memiliki kemungkinan untuk meningkatkan daya tahan tanaman kacang terhadap infeksi *S. rolfisii*. Daun yang menunjukkan reaksi hipersensitif diduga mengalami penurunan aktivitas peroksidasanya dua hari setelah inokulasi, karena tanaman sudah mampu mengendalikan patogen sehingga cekaman

Tabel 1. Luas gejala serangan yang disebabkan oleh *D. dadantii* pada *Phalaenopsis* hibrida setelah diinokulasi dan dibandingkan dengan genotipe pembanding

Genotipe	Luas gejala serangan (cm ²)		
	1 HSI	2 HSI	3 HSI
Genotipe uji			
<i>Phal.</i> KHM 205	1.74	11.40BCD	24.45BCD
<i>Phal.</i> KHM 1126	0.99	9.63CD	22.19BCD
<i>Phal.</i> KHM 1318	1.87	11.71BCD	23.36BCD
<i>Phal.</i> AMP 17	2.39	13.70BCD	25.04BCD
<i>Phal.</i> KHM 2249	1.95	8.97CD	16.83CD
Pr>F	0.14tn	0.45tn	0.42tn
Genotipe pembanding			
<i>Phal. amabilis</i> (A)	0.90	8.54	22.25
<i>Phal. esmeralda</i> (B)	2.61	7.66	11.03
<i>Phal. amboinensis</i> (C)	0.00	0.00	0.00
<i>Phal. cornu-cervi</i> (D)	0.00	0.00	0.00

Keterangan: tn = tidak berbeda nyata berdasarkan uji F pada $\alpha = 5\%$, A = berbeda nyata dengan *Phal. amabilis* pada uji t-student $\alpha = 5\%$, B = berbeda nyata dengan *Phal. esmeralda* pada uji t-student $\alpha = 5\%$, C = berbeda nyata dengan *Phal. amboinensis* pada uji t-student $\alpha = 5\%$, D = berbeda nyata dengan *Phal. cornu-cervi* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, HSI = Hari setelah inokulasi

Tabel 2. Aktivitas peroksidase dan kadar air pada genotipe *Phalaenopsis* hibrida dibandingkan dengan genotipe pembanding

Genotipe	Aktivitas Peroksidase 2 Hsi ($\Delta 420$ menit ⁻¹ mg ⁻¹ protein)	Kadar air (%)
Genotipe uji		
<i>Phal.</i> KHM 205	67 x 10 ⁻⁶ bCD	94.77bABCD
<i>Phal.</i> KHM 1126	0cCD	94.99bABCD
<i>Phal.</i> KHM 1318	0cCD	95.73aABCD
<i>Phal.</i> AMP 17	72 x 10 ⁻⁶ abCD	94.77bABCD
<i>Phal.</i> KHM 2249	200 x 10 ⁻⁶ aCD	94.75bABCD
Pr>F	0.0448*	0.0283*
Genotipe pembanding		
<i>Phal. amabilis</i>	200 x 10 ⁻⁶	91.26
<i>Phal. esmeralda</i>	200 x 10 ⁻⁶	92.72
<i>Phal. amboinensis</i>	0	87.59
<i>Phal. cornu-cervi</i>	0	91.00

Keterangan: Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada $\alpha = 5\%$, tn= tidak berbeda nyata berdasarkan uji F pada $\alpha = 5\%$, A = berbeda nyata dengan *Phal. amabilis* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, B = berbeda nyata dengan *Phal. esmeralda* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, C = berbeda nyata dengan *Phal. amboinensis* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, D = berbeda nyata dengan *Phal. cornu-cervi* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, Hsi (Hari setelah inokulasi), 0 = tidak terdeteksi

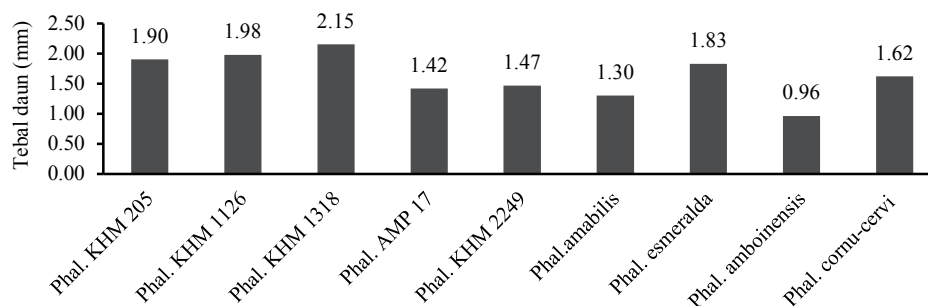
gangguan metabolisme akibat aktivitas patogen secara fisiologis lebih rendah yang berpengaruh pada penurunan aktivitas peroksidasinya (Herison *et al.*, 2007).

Ketebalan dan kadar air daun diduga berpengaruh juga terhadap luas gejala serangan patogen pada tanaman anggrek hibrida *Phalaenopsis*. *Phal.* AMP 17 dan KHM 2249 memiliki tebal lebih rendah 26 sampai 34% dibandingkan anggrek hibrida *Phalaenopsis* lainnya (Gambar 1). Ketebalan daun pada anggrek pembanding cenderung lebih rendah, kecuali pada *Phal. esmeralda* dan *Phal. cornu-cervi*, dibandingkan anggrek hibrida *Phalaenopsis* dengan kadar air yang lebih rendah pula pada seluruh anggrek pembanding (Gambar 1 dan Tabel 2). Kadar air daun yang lebih tinggi terdapat pada *Phal.* KHM 1318 dibandingkan dengan genotipe lainnya (Tabel 2). Kadar air yang tinggi menyebabkan tanaman lebih rentan terhadap serangan patogen (Rianawati, 2010). Bakteri di dalam tanaman dapat tumbuh dengan cepat mengikuti aliran air (Handayati *et al.*, 2004). Hal tersebut juga terlihat dari luas serangan yang lebih tinggi pada *Phalaenopsis*

hibrida yang memiliki daun lebih tebal dengan kadar air yang lebih tinggi. Perkembangan bakteri *D. Dadantii* pada anggrek *Phalaenopsis* dipengaruhi juga oleh kelembapan udara, ketahanan tanaman, jenis anggrek dan tekstur daun (Muharam *et al.*, 2012).

Perkembangan penyakit busuk lunak ditandai dengan membusuknya seluruh daun tanaman, sehingga daun luruh atau gugur dan jumlah daun menjadi berkurang. *Phal.* KHM 2249 memiliki jumlah daun gugur lebih rendah 39% sampai 58% dibandingkan anggrek hibrida *Phalaenopsis* lainnya, namun tidak berbeda dengan *Phal. amabilis* dan *Phal. esmeralda*, bahkan dengan nilai lebih rendah 20% (Tabel 3). Jumlah daun gugur pada *Phal.* KHM 2249 masih lebih tinggi dibandingkan *Phal. amboinensis* dan *cornu-cervi* sebagai kontrol yang diduga menunjukkan reaksi hipersensitif (Tabel 3).

Jumlah tanaman hidup yang lebih tinggi berdasarkan hasil percobaan terdapat pada *Phal.* KHM 2249 dibandingkan dengan anggrek hibrida *Phalaenopsis*



Gambar 1. Ketebalan daun anggrek *Phalaenopsis* dengan menggunakan mikroskop cahaya

Tabel 3. Jumlah daun gugur dan jumlah tanaman hidup pada genotipe *Phalaenopsis* hibrida dibandingkan dengan genotipe pembanding

Genotipe uji	Jumlah daun gugur	Jumlah tanaman hidup (%)
<i>Phal.</i> KHM 205	1.33bCD	93.33ab
<i>Phal.</i> KHM 1126	1.73abABCD	73.33bcABCD
<i>Phal.</i> KHM 1318	1.93aABCD	66.66cABCD
<i>Phal.</i> AMP 17	1.33bCD	93.33ab
<i>Phal.</i> KHM 2249	0.80cCD	100.00a
Pr>F	0.065	0.0264*
<i>Phal. amabilis</i>	1	100
<i>Phal. esmeralda</i>	1	100
<i>Phal. amboinensis</i>	0	100
<i>Phal. cornu-cervi</i>	0	100

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada $\alpha = 5\%$, tn= tidak berbeda nyata berdasarkan uji F pada $\alpha = 5\%$, A = berbeda nyata dengan *Phal. amabilis* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, B = berbeda nyata dengan *Phal. esmeralda* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, C = berbeda nyata dengan *Phal. amboinensis* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, D = berbeda nyata dengan *Phal. cornu-cervi* pada Uji t-student's $\alpha = 5\%$, Hsi (Hari setelah inokulasi)

lainnya, namun tidak berbeda nyata dengan *Phal.* KHM 205 dan *Phal.* AMP 17. *Phal.* KHM 2249, *Phal.* KHM 205, dan *Phal.* AMP 17 memiliki jumlah tanaman hidup yang setara dengan genotipe pembanding (Tabel 3). Peubah jumlah tanaman hidup dipengaruhi oleh jumlah daun gugur karena daun merupakan organ fotosintetik yang memiliki peran dalam proses penangkapan cahaya matahari, biokimia pembentukan energi, respirasi, gutasi, dan transpirasi yang berpengaruh pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Hendriyani dan Setiari, 2009). Peningkatan jumlah daun gugur akan menyebabkan terganggunya pertumbuhan tanaman yang berakibat pada rendahnya jumlah tanaman hidup dari tanaman anggrek tersebut.

KESIMPULAN

Bakteri hasil isolasi berdasarkan identifikasi merupakan bakteri *D. dadantii*. Seluruh anggrek hibrida *Phalaenopsis* yang diinokulasi dengan bakteri *D. dadantii* menunjukkan gejala penyakit busuk lunak. *Phal.* KHM 2249 memiliki jumlah daun gugur yang paling rendah dan jumlah tanaman hidup terbanyak dengan aktivitas peroksidase yang lebih tinggi, dan tebal daun yang lebih tipis.

DAFTAR PUSTAKA

Agustiansyah, S. Ilyas, Sudarsono, M. Machmud. 2013. Karakterisasi rizobakteri yang berpotensi

mengendalikan bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman padi. J. HPT Trop. 13:42-51.

Almagro, L., G. Ros, B. Navarro, Bru, R. Baecelo, M.A. Pedreno. 2009. Class III Peroxidases in plant defence reactions. J. Exp Bot. 60:377-390.

Chang, Y.C.A., H. Susilo. 2014. Nitrogen source for inflorescence development in *Phalaenopsis*: Effect of reduced fertilizer level on stored nitrogen use. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 139:76-82.

Chang, Y.C.A., W.L. Lin., J.Y. Hou, W.Y. Yen, N. Lee. 2013. Concentration of 1-methylcyclopropene and the duration of its application affect anti-ethylene protection in *Phalaenopsis*. Sci. Hort. 153:117-123.

Dickey, R.S. 1979. *Dickeya dadantii*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. Phytopathol. 69:324-329.

Fu, F.S., H.J. Huang. 2011. Molecular Characterization of the early Response of Orchid *Phalaenopsis amabilis* to *Erwinia chrysanthemi* Infection. University Road Tainan, Taiwan.

Garret, K.A., S.P. Dendy, E.E. Fraih, M.N. Rouse, S.E. Travers. 2006. Climate change effect to plant disease: genome to ecosystem. Ann. Rev. Phytopathol. 44:489-509.

Grenier, A.M., G. Duport, S. Page's, G. Condemine, Y. Rahbe'. 2006. The phytopathogen *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi* 3937) is a pathogen of the Pea aphid. Appl. Environ. Microbio. 72:1956-1965.

Gulen, H., C. Cetinkaya, M. Kadioglu, M. Kesici, A. Cansev, A.E. Uludag. 2008. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria X ananassa*) plants under low temperature. J. Biol. Environ. Sci 2:95-100.

Handayati, W., Hanudin, S. Soedjono. 2004. Resistensi genotipe anggrek *Phalaenopsis* terhadap penyakit busuk lunak. J. Hort. (ed.khusus) 14:398-402.

Hendriyani, I.S., N. Setiari. 2009. Kandungan klorofil dan pertumbuhan kacang panjang (*Vigna sinensis*) pada tingkat penyediaan air yang berbeda. J. Sains Mat. 17:145-150.

Herison, C., Rustikawati, Sudarsono. 2007. Aktivitas peroksidase, skor ELISA dan respon ketahanan 29 genotipe cabai merah terhadap infeksi *Cucumber mosaic virus* (CMV). Akta Agrosia. 10:1-13.

- Joko, T., A. Subandi, N. Kusumandari, A. Wibowo, A. Priyatmojo A. 2014. Activities of plant cell wall-degrading enzymes by bacterial soft rot of orchid. Archives Phytopath. Plant Prot. 47:1239-1250.
- Kaneshiro, W.S., M. Burger, B.G. Vine, A.S. De Silva, A.M Alvarez. 2008. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* from a bacterial heart rot of pineapple outbreak in Hawaii. Plant Dis. 92:1444-1450.
- Kar, M., D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiol. 57:315-319.
- Kepseu, W.D., J.A. Sepulcher, S. Reverhon, W. Nasser. 2010. Toward a quantitative modeling of the synthesis of the pectate lyases, essential virulence factors in *Dickeya dadantii*. J. Biol. Chem. 285:28565-28576.
- Lane, D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. Stackebrandt, E., and Goodfellow, M., (Eds.). John Wiley and Sons. New York, US.
- Lee, Y.A., K.P. Chen, Y.W. Hsu. 2006. Characterization of *Dickeya dadantii*, the soft-rot pathogen of white-flowered calla lily, based on pathogenicity and PCR-RFLP and PFGE analyses. Plan Pathol. 55:530-536.
- Muharam, A., R. Indrasti, Hanudin. 2012. Occurrence of *Dickeya dadantii* the causal agent of bacterial soft rot on orchids in DKI Jakarta and West Java Indonesia. Crop. Env. 3:37-44.
- Pudjihartati, E., S. Ilyas, Sudarsono. 2006. Oxidative burst, peroxidase activity, and lignin content of *Sclerotium rolfsii* Infected Peanut Tissue. Hayati 13:166-172.
- Rianawati, S. 2010. Induksi variasi somaklonal dan uji *in vitro* untuk perbaikan ketahanan *Phalaenopsis* terhadap penyakit busuk lunak. Disertasi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sukma, D., R. Poerwanto, Sudarsono, N. Khumaida, I.M. Artika, S. Wiyono. 2008. Chitinase and peroxylase activities of protein extract from leaves, roots, in vitro calli and shoots of *Trichosanthes tricuspidata* Lour. Bul. Agron. 36:56-63.
- Wang, Y.T. 2007. Potassium nutrition affects *Phalaenopsis* growth and flowering. Hort. Sci. 42:1563-1567.
- Wu, P.H., D.D. Huang, D.C.N. Chang. 2011. Mycorrhizal symbiosis enhances *Phalaenopsis* orchid's growth and resistance to *Erwinia chrysanthemi*. African J. Biotech. 10:10095-10100.
- Yang, S., Q.Q. Peng, Q. Zhang, X. Yi, C.J. Choi, R.P. Reedy, A.O. Charkowski, C.H. Yang. 2008. Dynamic regulation of gaca in type iii secretion, pectinase gene expression, pellicle formation, and pathogenicity of *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi* 3937). The Amer. Phytopathol. Soc. 21:133-142.