

**PENGARUH FLAMERING DAN DESINFEKTAN TERHADAP
PERTUMBUHAN JAMUR KONTAMINAN PADA
TRANSPLANTASI BIBIT ANGGREK**

(Orchidaceae)



**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**



Majukan pada semester IV sebagai syarat untuk menyelesaikan Penelitian Proposita Satu Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

Asri Maria Widiastuti
NIM. 971510401147

Ass :	Harish	5
REVISI :	05 SEP 2002	635.9
No. INDE :	1536	WID
KLASIFIKASI :		P. e. 1

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2002

Pembimbing:

Ir. V. Supartini, MS (DPU)

Ir. Hartadi, MS (DPA)

LEMBAR PENGESAHAN

Diterima oleh:

Fakultas Pertanian Universitas Jember

Sebagai karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan Pada

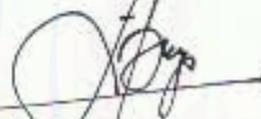
Hari : Selasa

Tanggal : 25 Juni 2002

Tempat : Fakultas Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua



Ir. V. Supartini, MS

NIP. 130 516 236

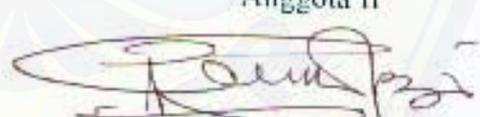
Anggota I



Ir. Hartadi, MS

NIP. 130 683 192

Anggota II



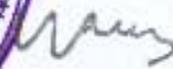
Ir. Paniman A. Mihardja, MP

NIP. 130 812 643



Mengesahkan

Dekan



Ir. Aric Mudjiharjati, MS

NIP. 130 609 808



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan YME atas pimpinan dan berkatNya yang diberikan, sehingga penulisan skripsi dengan judul **Pengaruh Flamering dan Desinfektan terhadap Pertumbuhan Jamur Kontaminan pada Transplantasi Bibit Anggrek (*Orchidaceae*)** dapat terselesaikan.

Hasil dari skripsi ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh flamering dan penggunaan beberapa macam desinfektan untuk mencegah timbulnya kontaminasi pada pembibitan anggrek secara in-vitro bagi para penggemar anggrek. Penyusunan skripsi ini merupakan rangkaian terakhir untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak yang memberikan kemudahan baik secara langsung maupun tidak, oleh karenanya penulis mengucapkan terimakasih kepada:

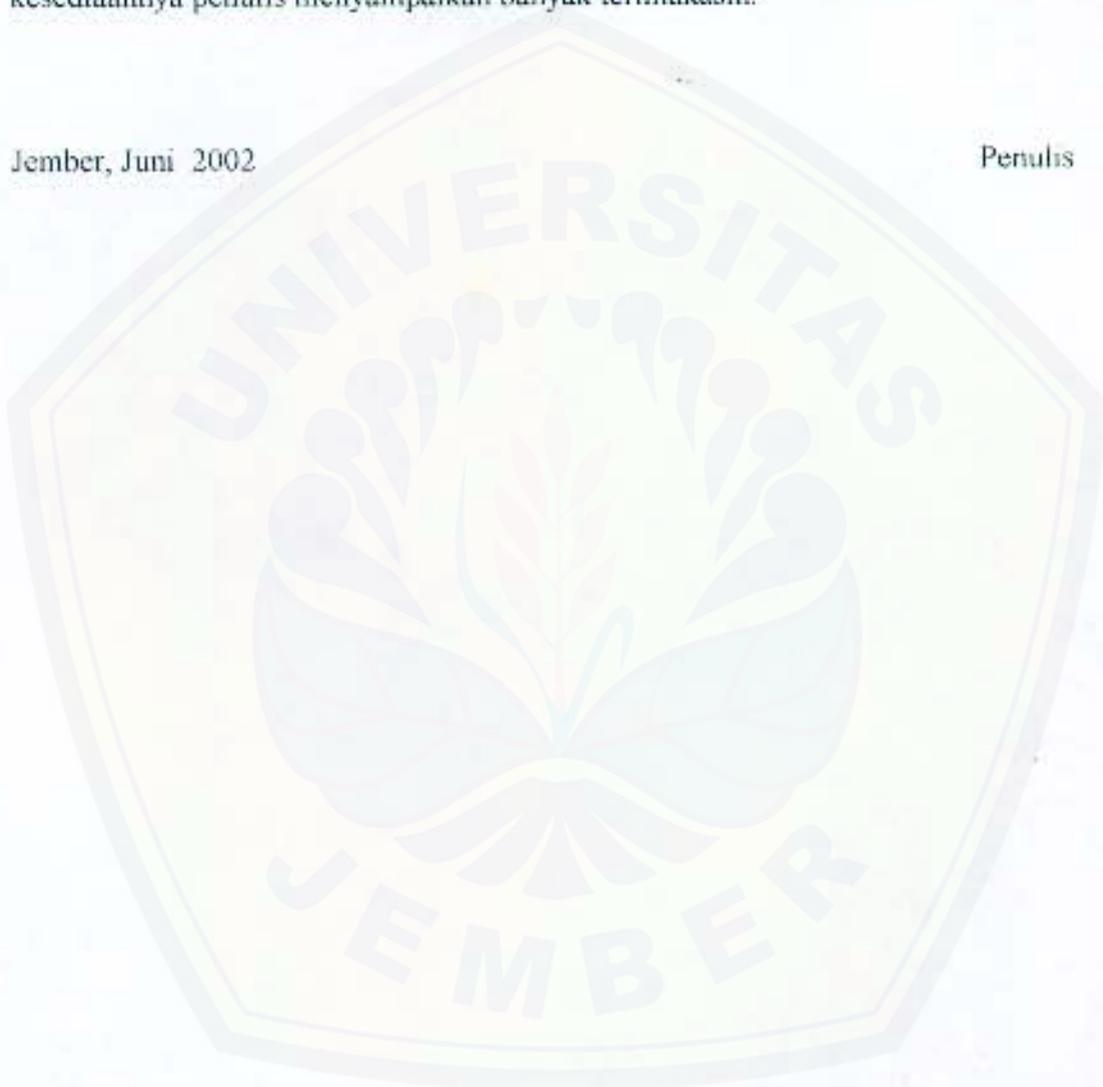
1. Ir. Sutjipto, MS., selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan
2. Ir. V. Supartini, MS., selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Hartadi, MS, selaku Dosen Pembimbing Anggota I dan Ir. Paniman Ashna Mihardja, MP, selaku Dosen Pembimbing Anggota II, yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dengan sabar.
3. Ayahanda Aroeman dan Ibunda Sri Utami yang dengan penuh kasih dan tidak henti-hentinya memberi doa, dorongan dan semangat kepada penulis.
4. Kakak-kakakku beserta keluarga yang dengan setia memberi dorongan dan dukungan kepada penulis.
5. Teman-teman seperjuangan khususnya HPT 1997 (Tya, Bonty, Wiex, Siwi, Yuni, Uthe, Ajrenk, Mijil, Rudi, Wien dll).
6. Sahabat-sahabatku di Jakapatiga (Majra, mbak R-na, mbak Mira, Minul, Menyok, Pipiet dll) yang telah mewarnai hari-hariku dengan canda tawa.
7. Ir. Budi Sugiarto, selaku pengelola Budi's Orchid dan segenap karyawan, yang telah menyediakan tempat dan memberi kemudahan fasilitas bagi penulis

8. Semua pihak yang telah membantu terselesainya penyusunan karya ilmiah tertulis ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan masukan yang berupa saran dan kritik yang sifatnya dapat membangun kesempurnaan skripsi ini, atas kesediaannya penulis menyampaikan banyak terimakasih.

Jember, Juni 2002

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	1
HALAMAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
INTISARI	ix
RINGKASAN	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Sejarah dan Daerah Penyebaran Anggrek.....	4
2.2 Habitat dan Media Tumbuh Anggrek.....	5
2.3 Kontaminasi Jamur pada Pembibitan Anggrek.....	7
2.4 Teknik Pencegahan jamur Kontaminan.....	9
2.5 Hipotesis.....	11
III. BAHAN DAN METODE	12
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
3.2 Bahan dan Alat.....	12
3.2.1 Bahan.....	12
3.2.2 Alat.....	12
3.3 Metode Penelitian.....	12
3.4 Pengamatan.....	14

3.5 Pelaksanaan Penelitian	14
3.5.1 Persiapan Perlakuan	14
3.5.2 Perlakuan Penelitian	14
3.5.3 Identifikasi Jamur	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Pengaruh Flaming dan Penggunaan Beberapa Macam Desinfektan	17
4.2 Identifikasi Jamur Penyebab Kontaminasi Pada Pembibitan Angrek	25
4.2.1 Jamur <i>Aspergillus sp</i>	25
4.2.2 Jamur <i>Penicillium sp</i>	27
4.2.3 Jamur <i>Fusarium sp</i>	28
V. KESIMPULAN DAN SARAN	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	34

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1	Transplantasi bibit anggrek di ruangan entkas	19
2	Kontaminasi pada perlakuan flamering 3x2 menit dan menggunakan desinfektan Irgasan DP 300	20
3	Kontaminasi pada perlakuan tanpa flamering dan menggunakan desinfektan etil alkohol 62%	21
4	Kontaminasi pada perlakuan tanpa flamering dan tanpa desinfektan	22
5	Kontaminasi pada perlakuan flamering 1x2 menit dan menggunakan desinfektan etil alkohol 62%	23
6	Kontaminasi oleh bakteri	23
7	Bibit anggrek yang sehat	24
8	Koloni jamur <i>Aspergillus sp</i> dan Jamur <i>Aspergillus sp</i>	26
9	Koloni jamur <i>Penicillium sp</i> dan Jamur <i>Penicillium sp</i>	28
10	Koloni jamur <i>Fusarium sp</i> dan Jamur <i>Fusarium sp</i>	29

Intisari

Kontaminasi oleh jamur yang terjadi pada pembibitan anggrek dapat disebabkan oleh banyak hal, diantaranya adalah alat-alat yang digunakan untuk transplantasi kurang steril dan cara kerja yang kurang aseptis. Adanya kontaminasi oleh jamur dapat menyebabkan rusaknya bibit anggrek dan juga dapat mengurangi nilai ekonomisnya, sehingga diperlukan upaya pengendalian yang efektif dan aman. Salah satu upaya tersebut adalah dengan cara flamering dan pemberian desinfektan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh flamering dan desinfektan yang diaplikasikan secara tunggal maupun bersamaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi flamering dan desinfektan berbeda tidak nyata hal ini menunjukkan bahwa aplikasi flamering dan desinfektan ternyata tidak berpengaruh terhadap timbulnya kontaminasi.

Kata kunci : *flamering, desinfektan, kontaminasi, pembibitan anggrek*

RINGKASAN

Asri Maria W. (971510401147) Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. **Pengaruh Flamering dan Desinfektan terhadap Pertumbuhan Jamur Kontaminan pada Transplantasi Bibit Anggrek (*Orchidaceae*)**

Dosen Pembimbing : Ir. V. Supartini, MS (DPU) dan Ir. Hartadi, MS (DPA).

Saat ini perbanyakan anggrek secara vegetatif banyak dilakukan oleh penggemar anggrek. Tujuan memperbanyak tanaman anggrek secara vegetatif adalah untuk mendapatkan tanaman anggrek yang mempunyai sifat yang sama dengan induknya. Perbanyakan anggrek juga dapat dilakukan dengan cara generatif selain dilakukan dengan cara vegetatif. Cara generatif adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan biji/benih dari tanaman. Pembiasaan tanaman anggrek secara generatif saat ini banyak dilakukan dengan cara pembibitan dalam botol.

Pembiasaan anggrek dalam botol dengan menggunakan biji dari hasil persilangan seringkali menampakkan adanya kontaminasi oleh spora dari jamur. Spesies *Penicillium* merupakan jamur yang paling banyak menyerang bibit anggrek pada kondisi di bawah normal. Jika kontaminasi oleh jamur ini sangat besar biji tidak akan bisa tumbuh dan perkembangan anggrek dapat terhambat oleh toksin yang dihasilkan oleh jamur tersebut.

Identifikasi jamur yang menyebabkan penyakit pada tanaman anggrek diperlukan dua macam informasi. Informasi pertama yaitu informasi makroskopis yang mencakup gejala-gejala yang timbul pada tanaman inang dan pertumbuhan miselium serta tubuh buah yang dapat diamati dengan mata atau dengan bantuan lensa tangan. Informasi kedua yaitu informasi mikroskopis untuk menentukan sifat-sifat khas tanaman (diagnostik) yang dapat mencirikan jenis jamur dengan menggunakan berbagai mikroskop dan perbesaran.

Uji sterilisasi sangat diperlukan untuk mencegah timbulnya kontaminasi, sterilisasi yang biasa dilakukan adalah dengan flamering dan penggunaan desinfektan. Flamering dilakukan dalam tiga taraf yaitu 2x1 menit, 2x2 menit dan 2x3 menit, sedangkan desinfektan yang digunakan adalah H₂O₂, NaClO, Etil

Alkohol 62% dan Irgasan DP 300. Perlakuan ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun berdasarkan pola faktorial 4×5 terdiri dari dua faktor perlakuan dengan tiga ulangan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pelaksanaan flaming, penggunaan desinfektan dan kombinasi kedua perlakuan tersebut tidak berpengaruh terhadap timbulnya kontaminasi pada pembibitan anggrek. Kombinasi perlakuan menunjukkan ada 12 botol yang terkontaminasi, kontaminasi tersebut disebabkan oleh bakteri dan jamur. Perlakuan tersebut dianalisa dengan menggunakan sidik ragam dan menunjukkan hasil berbeda tidak nyata.

Jenis jamur yang mengkontaminasi pembibitan anggrek ada 3 jenis yaitu jamur *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* dan *Fusarium sp*. Jamur yang paling banyak mengkontaminasi pembibitan anggrek adalah jamur *Aspergillus sp*, hal ini dapat disebabkan jamur *Aspergillus sp* banyak tersebar di udara dan mempunyai daya adaptif yang tinggi. Jumlah koloni dan variasi jenis jamur kontaminan yang tumbuh pada media PDA memiliki perbedaan, hal ini disebabkan adanya spesifikasi masing-masing jenis jamur itu sendiri yang lebih adaptif terhadap lingkungan sekitar.



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Persilangan anggrek merupakan salah satu upaya untuk memperkaya jenis anggrek di Indonesia, hasil persilangan antara anggrek-anggrek di Indonesia sendiri sudah menghasilkan bunga-bunga yang indah. Persilangan antara *Paphiopedilum praestan* yang berasal dari Irian Jaya dengan *Paphiopedilum glaucophyllum* yang banyak terdapat di Jawa Tengah dapat menghasilkan *Paphiopedilum yogya*. Anggrek *Paphiopedilum yogya* ini sangat disenangi oleh penggemar anggrek di Eropa. Anggrek jenis *Dendrobium* yang banyak terdapat di Jawa yaitu *Dendrobium macrophyllum* apabila disilangkan dengan anggrek jenis *Dendrobium phalaenopsis* yang berasal dari Maluku maka akan menghasilkan suatu hibrid yang diberi nama *Dendrobium java glory* (Soeryowinoto, 1974).

Saat ini perbanyakan anggrek secara vegetatif banyak dilakukan oleh penggemar anggrek. Tujuan memperbanyak tanaman anggrek secara vegetatif adalah untuk mendapatkan tanaman anggrek yang mempunyai sifat yang sama dengan induknya. Perbanyakan anggrek juga dapat dilakukan dengan cara generatif selain dilakukan dengan cara vegetatif. Cara generatif adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan biji/benih dari tanaman. Pembiakan tanaman anggrek secara generatif saat ini banyak dilakukan dengan cara pembibitan dalam botol (Lestari, 1985).

Hendaryono (2000) berpendapat bahwa metode pembibitan anggrek dalam botol merupakan satu-satunya cara komersial untuk memproduksi tanaman anggrek dari setiap biji yang ditebarkan pada media agar. Dalam waktu sembulan sampai sepuluh bulan tergantung pada jenis bibit anggrek yang ditebarkan, setiap biji akan membentuk daun dan akar. Pada tahap ini tunas dapat dipindahkan untuk ditanam dalam kompos konvensional di tempat khusus, seperti dalam rumah kaca. Tunas-tunas ini memerlukan perawatan secara terus-menerus agar tunas mampu terus tumbuh hingga menjadi tanaman dewasa.

Pembiakan anggrek dalam botol dengan menggunakan biji dari hasil persilangan seringkali menampilkan adanya kontaminasi oleh spora dari jamur.

Spesies *Penicillium* merupakan jamur yang paling banyak menyerang bibit anggrek pada kondisi di bawah normal. Jika kontaminasi oleh jamur ini sangat besar biji tidak akan bisa tumbuh dan perkembangan anggrek dapat terhambat oleh toksin yang dihasilkan oleh jamur tersebut. Jamur sering terlihat pada bagian kulit biji dari biji yang berkembang di agar dan berwarna putih pada tingkatan perkembangan yang cepat tetapi cepat berubah warna menjadi hijau. Dalam waktu yang singkat seluruh permukaan botol akan dipenuhi oleh koloni jamur (Withner, 1959)

Penanaman anggrek dalam botol akan berhasil dengan baik apabila syarat yang diperlukan untuk pertumbuhannya terpenuhi. Syarat-syarat tersebut meliputi pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, penggunaan medium yang cocok, keadaan aseptis dan pengaturan udara yang baik. Pada biji anggrek yang digunakan sebagai eksplan, yang perlu diperhatikan adalah waktu imbibisi, temperatur dan dormansi dari biji tersebut. Pelaksanaan teknik pembibitan secara in-vitro mampu memberikan keuntungan baik dari segi penghematan biaya, waktu dan tenaga.

Manfaat utama dari perbanyakan anggrek secara in-vitro adalah untuk mendapatkan tanaman baru dengan jumlah yang banyak dan dalam waktu yang relatif singkat, dan mempunyai sifat fisiologis dan morfologis sama persis dengan induk, selain itu diharapkan memperoleh tanaman baru yang bersifat unggul (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Biji anggrek tidak mempunyai cadangan makanan, maka dalam budidaya untuk mendapatkan hasil yang maksimum, biji-biji harus ditumbuhkan pada media yang mengandung unsur hara untuk pertumbuhan biji-biji tersebut. Penanaman biji anggrek meliputi prosedur aseptik, karena media makanan yang digunakan mengandung gula, dan unsur-unsur hara. Bahan-bahan ini merupakan media tumbuh yang baik untuk jamur dan bakteri. Jamur atau bakteri akan tumbuh lebih cepat dari biji dan dapat mematikan biji anggrek tersebut, apabila keadaannya tidak aseptik (Lestari, 1985). Hal ini sering ditemukan pada usaha-usaha pembibitan anggrek, meskipun sudah diusahakan dalam keadaan aseptik

tetapi masih bisa terkontaminasi jamur, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mencegah dan mengurangi terjadinya kontaminasi jamur.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mencegah dan mengurangi kerusakan bibit anggrek akibat dari kontaminasi jamur, yang dilakukan dengan cara flamering dan penggunaan beberapa macam jenis desinfektan.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan :

1. Menambah pengetahuan tentang teknik pencegahan kontaminasi jamur pada pembibitan anggrek secara in-vitro.
2. Bahan informasi bagi masyarakat, khususnya petani anggrek dalam usaha pencegahan kerusakan bibit anggrek akibat kontaminasi jamur

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sejarah dan Daerah Penyebaran Anggrek

Revolusi budidaya anggrek dimulai semenjak tahun 1922. Pelopornya adalah Lewis Knudson dari Universitas Cornell. Pakar tersebut berhasil menanam biji anggrek di dalam botol dengan media buatan yang mengandung larutan hara. Kemajuan teknik yang sudah dicapai adalah keberhasilan menanam satu ujung tunas anggrek dalam media buatan secara *in-vitro* menjadi tanaman yang tidak terhingga jumlahnya. Persiapan media harus dilakukan dengan teliti dan hati-hati, kebersihan alat-alat harus dijaga dan diusahakan bekerja di ruang terkendali dan aseptik (Ashari, 1995).

Salah satu jenis tanaman hias penting di dunia adalah anggrek, menurut para ahli botani di dunia terdapat lebih dari 30.000 spesies anggrek yang mencakup 660 genera, dengan 75.000 hibrida terdaftar. Adapun potensi plasma nutfah anggrek di Indonesia diperkirakan lebih dari 5000 jenis. Keanekaragaman jenis anggrek yang tinggi memberikan kemungkinan bagi pengembangan aneka jenis anggrek, baik sebagai bunga potong maupun sebagai tanaman hias berbunga (Rukmana, 2000).

Vanda berasal dari bahasa sansekerta yang menggambarkan habitat dan kebiasaan tanaman tersebut tumbuh, yaitu yang diberikan untuk nama tanaman anggrek dari Bengal, India. Sekarang *Vanda* digunakan sebagai nama marga (genera) dari anggrek yang memiliki sekitar 50 spesies alami yang tersebar di kawasan Asia tropis. Tanaman *Vanda* pertama kali dilihat oleh seorang ahli botani Dr. William Roxburg pada tahun 1814 di Calcuta Botanic Garden. Pada tahun 1819 Dr Robert Brown menemukan tumbuhan *Vanda* yang sedang berbunga disalah satu rumah kaca di London, *Vanda* tersebut diberi nama *Vanda Roxburghis*.

Daerah penyebaran anggrek *Vanda* mulai dari Himalaya dan Cina kemudian menyeberang ke Srilanka, Asia Tenggara (Malaysia, Thailand, Filipina dan Indonesia) sampai ke Papua New Guinea dan Australia Utara. Di Indonesia daerah penyebaran anggrek *Vanda* meliputi hutan-hutan tropis di Pulau Jawa dan

Bali, Sumatera, Kalimantan, Maluku dan Irian Jaya (Arifin dan Sulistyantara, 1990).

Di Indonesia lebih kurang diperkirakan 6000 jenis anggrek ditemukan di Kepulauan Nusantara ini, dan terus bertambah dengan penemuan-penemuan baru di hutan-hutan maupun dari hasil persilangan. Lebih dari 500 jenis anggrek mempunyai nilai hortikultura dan banyak dipelihara orang di luar negeri sebagai bunga kebanggaan (Gunawan, 1984).

2.2 Habitat dan Media Tumbuh Anggrek

Tanaman anggrek tergolong tanaman yang liar dan dirancang sedemikian rupa oleh alam selama berjuta-juta tahun sehingga mampu bertahan hidup di berbagai tempat yang berbeda. Sebagian besar tanaman anggrek dibudidayakan secara khusus dan semuanya memerlukan penelitian yang cermat agar bibit tanaman anggrek bisa tumbuh subur sesuai dengan laju pertumbuhan di tempat asalnya (Brian dan Rittershausen, 1986).

Di alam bebas anggrek kebanyakan bersifat epifit, hidup menempel pada tanaman lain tanpa merugikan tanaman yang ditumpanginya. Anggrek tidak menghisap makanan dari tanaman induknya, tetapi hanya numpang menempel saja. Berdasarkan sifat anggrek ini maka pengusahaan anggrek kebanyakan berupa tanaman pot, hanya beberapa jenis *Vanda arachnitis* dan *Aranda* yang ditumbuhkan di tanah (Lestari, 1985).

Penggemar anggrek berusaha untuk menemukan jenis anggrek baru dengan mengadakan persilangan antara dua jenis anggrek yang berbeda. Tujuan persilangan atau hibridisasi adalah untuk mengumpulkan dua sifat baik dari kedua tanaman tersebut untuk memperoleh kombinasi warna, bentuk, ukuran atau jumlah bunga yang kita inginkan. Hibridisasi juga dikerjakan untuk menambah kuat pertumbuhan tanaman yang lemah atau membuat spesies yang jarang berbunga menjadi sering berbunga, dengan jalan menyilangkan tumbuhan tersebut dengan tumbuhan yang lain yang lebih kuat atau dengan spesies lain yang sering berbunga (Soeryowinoto, 1974).

Menurut Rukmana (2000) untuk membudidayakan tanaman Anggrek Bulan di luar habitat aslinya perlu memodifikasi tempat atau medium tumbuh terlebih dahulu. Syarat tempat atau medium tumbuh yang baik bagi Anggrek Bulan adalah:

1. Tidak lekas lapuk
2. Mampu mengikat air dan hara secara baik
3. Tidak menjadi sumber penyakit
4. Mempunyai aerasi yang baik
5. Mudah didapat dalam jumlah yang dibutuhkan
6. Harganya relatif murah
7. Dapat menjadi tempat yang baik bagi akar untuk melekat (menempel).

Memperbanyak dan memelihara tanaman secara in-vitro harus mengacu pada tuntutan kehidupan di lapang, sehingga kebutuhan nutrisi maupun lingkungan (habitat) hidup tanaman tersebut harus diperhatikan dengan baik. Pada teknik perbanyakan tanaman secara in-vitro, nutrisi yang diperlukan tanaman diberikan dalam bentuk garam-garam yang diolah menjadi media khusus bagi masing-masing jenis tanaman, misalnya media *Murashige dan Skoog* (MS), media *White*, media *Nitsch*, dan sebagainya. Masing-masing media mempunyai spesifikasi kecocokan bagi jenis tanaman tertentu. Tanaman keras biasanya sesuai jika dibudidayakan pada media WPM (*Woody Plant Medium*), tanaman hortikultura lebih baik diusahakan pada media MS, dan khusus bagi anggrek lebih baik dikulturkan pada media *Vacint and Went* (VW) (Hendaryono, 2000).

2.3 Kontaminasi Jamur pada Pembibitan Anggrek

Pada kondisi alamiah di daerah tropis anggrek dapat diserang oleh berbagai macam jenis patogen. apabila diambil dari hutan untuk dikembangkan di rumah kaca patogen ini tetap ada, oleh karena kondisi di dalam rumah kaca dapat dikendalikan atau dibuat agar tidak cocok bagi patogen maka patogen yang menyerang anggrek ini dapat dikendalikan (Withner, 1959).

Suastiko (1996) mengemukakan bahwa jamur-jamur yang bersifat patogenik pada tanaman dapat merangsang timbulnya bermacam-macam gejala

penyakit. Gejala-gejala yang diinduksi dapat berupa bercak, antraknosa, damping-off yaitu matinya bibit tanaman, busuk pada akar atau pangkal batang dan gejala yang lain.

Sterilisasi merupakan proses mematikan mikroorganisme yang tidak dikehendaki keberadaannya atau mengganggu, sterilisasi dapat dilakukan dengan bermacam-macam cara diantaranya adalah dengan flamering dan pemberian desinfektan. Pada saat transplantasi bibit anggrek diperlukan suatu kondisi yang aseptis untuk menekan timbulnya kontaminasi, hal ini sesuai dengan Arditi dan Ernst (1993) yang menyatakan bahwa flamering dapat digunakan untuk sterilisasi alat-alat yang akan digunakan untuk transplantasi, sebab dengan flamering berbagai jenis mikroorganisme penyebab kontaminasi dapat ditekan.

Schlegel dan Karin (1968) menyebutkan bahwa jamur termasuk eukariot dan memiliki sifat-sifat tertentu sama dengan tumbuh-tumbuhan, seperti memiliki dinding sel vakuola berisi getah sel dan dengan mikroskop dapat diamati aliran plasma yang baik. Jamur tumbuh pada kondisi aerob dan memperoleh energi dengan mengoksidasi bahan organik, apabila dibandingkan dengan tumbuh-tumbuhan terbagi dalam daun, batang dan akar, jamur menunjukkan diferensiasi yang sederhana dan juga hampir tidak ada pembagian kerja.

Diagnosis yang cepat dan tepat dari patogen yang menyerang tanaman anggrek sangat penting dilakukan, sebelum dilakukan tindakan pemberantasan atau suatu anjuran pencegahan. Tanaman anggrek yang terserang patogen pada biakan murni memerlukan penyelidikan yang lebih teliti dan untuk mendapatkan hasil identifikasi diperlukan waktu beberapa hari. Hal ini misalnya untuk menentukan jenis jamur yang menyerang tanaman anggrek (Rubert, 1972).

Schlegel dan Karin (1968) berpendapat bahwa suatu larutan biak steril atau yang sudah ditanami tanpa dikehendaki dicemari oleh mikroorganisme, peristiwa ini disebut kontaminasi. Mikroorganisme mempunyai kerentanan berbeda terhadap bahan-bahan yang digunakan untuk memamatkannya, tergantung dari kadar air, pH lingkungan dan umur spora. Kecepatan pengendalian terhadap mikroorganisme tidak hanya tergantung dari jenis mikroorganisme saja tetapi juga dari berbagai kondisi lingkungan. Sel-sel vegetatif dari jamur dapat dimatikan

pada suhu 60°C dalam waktu 10 menit. Semakin tinggi kontaminasi makin banyak jumlah spora yang termo resisten, sehingga diperlukan pemanasan lebih lama.

Sumber kontaminan pada kebanyakan tanaman secara kultur jaringan adalah media, tabung kultur dan peralatan lainnya, bahan tanaman yang digunakan dan lingkungan ruangan entkas, untuk mengatasi masalah kontaminasi ini maka harus dilakukan sterilisasi terhadap setiap sumber kontaminasi (Lakitan, 1995).

Menurut Rubert (1972) untuk melakukan identifikasi jamur yang menyebabkan penyakit pada tanaman anggrek diperlukan dua macam informasi. Informasi pertama yaitu informasi makroskopis yang mencakup gejala-gejala yang timbul pada tanaman inang dan pertumbuhan miselium serta tubuh buah yang dapat diamati dengan mata atau dengan bantuan lensa tangan. Informasi kedua yaitu informasi mikroskopis untuk menentukan sifat-sifat khas tanaman (diagnostik) yang dapat mencirikan jenis jamur dengan menggunakan berbagai mikroskop dan perbesaran. Walaupun sifat-sifat miselium hanya merupakan nilai yang terbatas untuk identifikasi tetapi adanya dinding penyekat dalam miselium merupakan sifat yang penting. Hal ini disebabkan hanya ada satu golongan utama jamur yaitu *Phycomycetes* (termasuk *Chytridiales*, *Oomycetes* dan *Zygomycetes*) yang mempunyai miselium tanpa dinding penyekat (crosswalls).

Klasifikasi jamur didasarkan kepada ukuran, bentuk, warna dan jumlah spora yang dihasilkan oleh jamur, baik yang secara aseksual (konidia) maupun seksual (oospora, zygospora, ascospora atau basidiospora). Di samping itu dipakai pula sifat-sifat tubuh buah dari masing-masing tipe jamur. Jika spora dan tubuh buah tidak terdapat pada spesimen maka dapat diusahakan agar spora dan tubuh buah terbentuk. Pembentukan spora dapat diusahakan pada biakan murni jamur hasil isolasi dari jaringan tanaman yang sakit, apabila tidak ada spora menurut Burnett (1974) :

1. Jamur telah mati karena terlampau panas, kering dan sebagainya
2. Gejala bercak-bercak disebabkan oleh bakteri atau virus
3. Bercak-bercak tersebut akibat dari semprotan bahan kimia

2.4. Teknik Pencegahan Jamur Kontaminan

Tanaman yang baik adalah tanaman yang sehat, yang didapatkan karena memperoleh perawatan yang memadai. Beberapa perawatan lingkungan dapat mencegah serangan patogen maupun hama. Penyakit pada umumnya disebabkan oleh jamur, bakteri maupun virus. Perlakuan budidaya tanaman yang baik dan benar serta perawatan intensif dapat mencegah kerusakan tanaman. Jamur merupakan jenis penyakit yang menyebabkan kerusakan jaringan tanaman, biasanya pada daun dan akar. Serangan jamur biasanya ditandai dengan adanya miselia pada permukaan daun atau akar (Arifin dan Sulistyantara, 1990).

Penaburan biji pada media padat merupakan cara perbanyakan tanaman yang paling sering dilakukan. Biji yang ditabur harus diambil dari buah anggrek yang tepat masak. Tanaman anggrek yang dihasilkan akan bernilai tinggi bila berasal dari buah hasil persilangan antara dua macam anggrek, yang masing-masing mempunyai warna bunga yang indah dan daya tahan yang tinggi terhadap penyakit, maupun tekanan lingkungan. Sterilisasi pada buah anggrek dapat dilakukan dengan cara mekanik yaitu dengan membakarnya diatas api spiritus. Pelaksanaan pembakaran dilakukan di dalam entkas atau ruang penabur, sehingga pada saat buah sudah dalam kondisi steril tidak perlu dipindahkan ke ruangan yang jauh letaknya. Hal ini dilakukan agar kontaminasi dapat dihindari (Hendaryono, 2000).

Penggunaan desinfektan merupakan cara sterilisasi yang sering digunakan bersamaan dengan sterilisasi secara flamering, hal ini dimaksudkan untuk lebih memaksimalkan hasil sterilisasi. Pemberian desinfektan dilakukan dengan cara mengoleskan pada mulut botol secara merata, sebab pada mulut botol terdapat beribu-ribu mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi. Desinfektan NaClO yang termasuk dalam senyawa khlor, senyawa khlor ini seringkali digunakan dalam bentuk gas atau ion hipoklorid. Gas khlor dan air akan menghasilkan ion hipoklorid yang akan mengoksidasi protein sehingga membran sel dirusak dan terjadi inaktivasi enzim, sehingga dengan sifat senyawa khlor yang demikian maka khlor ini dapat digunakan untuk mencegah kontaminasi yang diakibatkan oleh jamur (Lay dan Hastowo, 1992).

Desinfektan Irgasan DP 300 yang dapat juga disebut dengan triclosan, saat ini banyak beredar produk-produk yang mengandung bahan aktif triclosan, produk-produk tersebut merupakan desinfektan atau antimikrobia. Triclosan ini dapat digunakan untuk mencegah adanya kontaminasi (Tweedale, 1997).

Desinfektan yang lain adalah etil alkohol 62% dan H_2O_2 . Etil alkohol 70% dapat berfungsi sebagai antiseptik karena dapat mengkoagulasikan albumina dan menghentikan pertumbuhan dari organisme-organisme yang mengakibatkan kontaminasi. Konsentrasi larutan lebih tinggi dari 70% tidak efektif lagi sebab tidak dapat mematikan spora (Riawan, 1989).

Hidrogen peroksida (H_2O_2) berupa cairan tidak berwarna dengan titik didih $-0,41^\circ C$ dan $151^\circ C$. Kebanyakan Hidrogen peroksida dibuat secara komersial dengan menggunakan reaksi antara oksigen dengan suatu senyawa organik kompleks yang cukup mudah dioksidasi. Hidrogen peroksida ini digunakan sebagai desinfektan karena sifatnya yang dapat mengoksidasi protein sehingga menyebabkan rusaknya membran sel dan menghambat kerja patogen (Keenan *et al*, 1992).

Sterilisasi dengan flamering biasa digunakan pada alat-alat yang terbuat dari logam, yang dilakukan dengan mencelupkan ujung alat dalam alkohol 95% lalu diflamering di atas nyala api bunsen sampai ujungnya pijar. Alat-alat dan gelas juga dapat disterilisasi dengan flamering yaitu dengan membakar mulut alat-alat dari gelas (botol, petridish dan tabung reaksi) di atas api bunsen. Hal ini dilakukan untuk mematikan mikroorganisme yang ada di mulut alat-alat tersebut. Flamering pada alat-alat yang terbuat dari logam maupun gelas dapat dilakukannya sampai tiga kali untuk mendapatkan hasil sterilisasi yang optimal (Lay dan Hastowo, 1992), Soeryowinoto (1974) juga menambahkan bahwa flamering perlu dilakukan pada saat sebelum dan sesudah tutup botol dibuka untuk mengurangi terjadinya kontaminasi serta mengurangi jumlah mikroorganisme yang ada pada mulut botol.

Hendaryono (2000) mengemukakan bahwa dalam satu buah anggrek terdapat beratus-ratus biji anggrek, apabila buah anggrek telah masak maka dapat pecah dan bijinya keluar berhamburan. Pecahnya biji anggrek dapat menyebabkan

bijinya terkontaminasi oleh jamur. Langkah-langkah untuk menghindari terjadinya kontaminasi adalah sebagai berikut :

1. Sebelum buah pecali atau masak harus sudah dipetik kemudian dimasukkan ke dalam spiritus dan dibakar di atas api bunsen.
2. Pemecahan biji dilakukan dalam ruangan penabur, supaya semuanya dalam keadaan steril setelah itu baru biji ditabur dalam media tumbuh yang telah disediakan dengan menggunakan pinset.
3. Media tumbuh yang biasa digunakan adalah medium Knudson C, akan tetapi akhir-akhir ini banyak menggunakan medium Vacint and Went (VW).

Rukmana (2000) membagi teknik pengendalian penyakit secara terpadu pada tanaman angrek dalam 3 bagian, yaitu :

a. Pengendalian secara kultur teknis

Pengendalian secara kultur teknis dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Penggunaan bibit sehat
2. Sanitasi lingkungan budidaya
3. Penggunaan media tanam yang bebas dari penyakit
4. Pemupukan berimbang sesuai dengan stadium pertumbuhan tanaman

b. Pengendalian secara fisik dan mekanis

Pengendalian secara fisik dan mekanis sering dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Pengumpulan dan pemusnahan organisme pengganggu tanaman
2. Pemotongan atau pemangkasan bagian tanaman yang terserang berat
3. Penggantian media tanam yang telah melapuk

c. Pengendalian secara kimiawi

Pengendalian secara kimiawi merupakan alternatif terakhir dalam mengendalikan jamur yang menyerang. Pengendalian secara kimiawi dilakukan dengan menggunakan pestisida secara selektif.

2.5 Hipotesis

Perlakuan flamering, desinfektan dan kombinasi keduanya tidak berpengaruh terhadap kerusakan bibit angrek akibat kontaminasi jamur.



III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Budi's Orchid , yang terletak di Jl. Letjen S. Parman 110 Malang, yang kemudian dilanjutkan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan , Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan mulai bulan November 2001 sampai bulan Februari 2002.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan :

1. Desinfektan yang terdiri dari :
 - (a) H_2O_2 (Vanish), (b) $NaClO$ (Bayclin), (c) Etil Alkohol 62% (Handyclean) dan (d) Irgasan DP 300 (Antis)
2. Aquadest steril
3. Media transplantasi (Vacin and Went) yang terdiri dari :
 - (a) $Ca_3(PO_4)_2$, (b) KNO_3 , (c) KH_2PO_3 , (d) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, (e) $(NH_4)_2SO_4$, (f) $MnSO_4 \cdot 2H_2O$, (g) gula, (h) agar-agar dan (I) Feri tartrat (buffer)
4. Potato Dextrose Agar (PDA)
5. Bibit anggrek jenis Dendrobium (Balimoon x Jakarta city) pada umur 4 bulan.

3.2.2 Alat

Ruangan entkas, spatula, jarum ose, lampu bunsen, pipet, skalpel, autoclaf, tabung erlenmeyer, cawan petri, pH meter, pinset, tabung reaksi.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun berdasarkan pola faktorial 4×5 terdiri dari dua faktor perlakuan dengan tiga ulangan. Perlakuan tersebut adalah banyaknya flamering yang dilakukan dan jenis desinfektan yang digunakan yang sesuai dengan perlakuan sebagai berikut :

1. Faktor pertama (A) :

Banyaknya flamering yang dilakukan, yang terdiri dari 4 taraf yaitu :

A_0 (tanpa flamering)

A_1 (1x2menit)

A_2 (2x2menit)

A_3 (3x2menit)

2. Faktor kedua (B) :

Jenis desinfektan yang digunakan, yang meliputi

B_0 (tanpa desinfektan)

B_1 (H_2O_2)

B_2 (NaClO)

B_3 (Etil Alkohol 62%)

B_4 (Irgasan DP 300)

Kombinasi yang ada terdiri dari 20 kombinasi perlakuan untuk satu ulangan, sebagai berikut:

A_0B_0	A_0B_1	A_0B_2	A_0B_3	A_0B_4
A_1B_0	A_1B_1	A_1B_2	A_1B_3	A_1B_4
A_2B_0	A_2B_1	A_2B_2	A_2B_3	A_2B_4
A_3B_0	A_3B_1	A_3B_2	A_3B_3	A_3B_4

Model matematik rancang yang digunakan menurut Gasperz (1989) adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = U + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

$$i = 1,2,3 \quad j = 1,2,3,4 \quad k = 1,2,3$$

Y_{ijk} = nilai pengamatan pada saat percobaan untuk faktor banyaknya pembakaran pada level ke -i faktor desinfektan pada level ke-j dan ulangan ke-k.

U = nilai tengah mum

A_i = pengaruh faktor banyaknya flamering pada level ke-i

B_j = pengaruh faktor jenis desinfektan pada level ke-j

E_{ijk} = galat percobaan untuk level A ke-i dan level B ke-j

Hasil percobaan dianalisa dengan menggunakan sidik ragam nyata dilanjutkan dengan uji jarak Duncan 5%.

3.4 Pengamatan

1. Mengamati timbulnya kontaminasi jamur, pengamatan dilakukan selama 10 hari sejak perlakuan, karena kontaminasi jamur pada media pembibitan dapat diketahui dalam jangka waktu 10 hari.
2. Mengidentifikasi jamur kontaminan yang tumbuh pada media pembibitan.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Persiapan Perlakuan

Pembuatan Media Induk dan Media Transplantasi (Hendaryono, 2000 dan Soeryowinoto, 1974) :

Langkah pertama membuat larutan garam yang terdiri dari : $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, KNO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kemudian menambahkan 250 ml air steril ke dalam larutan garam. Selanjutnya menambahkan 250 ml air steril ke dalam larutan garam kemudian mencampurkan gula pada larutan garam, kemudian mengaduk sampai menjadi larutan yang homogen sambil menambahkan Feri Tartrat sambil mengaduk sampai homogen.

Langkah selanjutnya adalah merebus air 500 ml yang ditambah dengan 8 gr agar-agar sambil diaduk sampai mendidih kemudian menambahkan air kelapa pada larutan agar dan mencampurkan larutan garam pada larutan agar kemudian mengaduknya sampai menjadi larutan yang homogen sambil mengukur pH larutan sebesar 5,2, apabila pH terlalu tinggi menambahkan KOH 0,1N dan apabila terlalu rendah menambahkan CH_3COOH , kemudian menuangkan larutan agar ke dalam botol steril.

3.5.2 Perlakuan Penelitian

1. Membersihkan ruangan entkas dengan menggunakan Alkohol 70%, terutama bagian dalam entkas.

2. Mempersiapkan peralatan yang akan dipakai dalam ruangan entkas, peralatan yang dipergunakan harus dalam keadaan steril.
3. Meletakkan botol induk dan botol yang berisi media tebar di dalam ruangan entkas.
4. Membuka tutup botol induk, kemudian memberikan perlakuan desinfektan dengan menggunakan : H_2O_2 (Vanish), NaClO (Bayclin), Etil Alkohol 62% (Handyclean), dan Irgasan DP 300 (Antis)
5. Mengoleskan desinfektan di sekitar mulut botol secara merata.
6. Mengoleskan desinfektan secara merata pada botol yang berisi media tebar.
7. Memanaskan mulut botol induk dan botol yang berisi media tebar di atas api bunsen secara bergantian, dengan perlakuan : (a) 1 x 2 menit, (b) 2 x 2 menit dan (c) 3 x 2 menit
8. Mengambil bibit dari botol induk dengan menggunakan spatula yang telah disterilkan, dengan mencelupkan pada alkohol 70% kemudian memanaskan spatula di atas api bunsen secara bergantian.
9. Memindahkan bibit dari botol induk ke media tebar, kemudian menanamnya dibotol media tebar dengan mengatur jarak tanamnya, supaya pada saat bibit tumbuh tidak saling berdesakan. Bibit dalam satu botol induk dapat dipindahkan ke dalam tiga botol media tebar.
10. Membersihkan mulut botol dari sisa-sisa bibit yang menempel dengan kapas bersih kemudian dengan desinfektan, dan kembali memanaskan di atas api bunsen
11. Menutup botol sampai rapat dan memanaskan kembali di atas api bunsen , dan menata di atas rak.

3.5.3 Identifikasi Jamur

Identifikasi jamur yang ditemukan pada pembibitan anggrek dilakukan dengan menggunakan metode slide culture. Adapun langkah-langkah membuat slide culture menurut Lay (1992) adalah sebagai berikut:

1. Sterilisasi alat-alat

Cawan petri yang di dalamnya dilapisi kertas saring dan dua batang penyangga di atas kertas saring kemudian kaca benda dan kaca penutup diletakkan di atasnya. Alat-alat ini dibungkus dengan kertas untuk disterilkan di dalam autoklaf, apabila sterilisasi sudah selesai alat-alat tersebut dikeringkan dalam oven. Alat-alat ini dipersiapkan untuk penanaman kultur jamur dari biakan murni.

2. Penanaman

Koloni jamur diambil dari biakan murni dengan menggunakan jarum ose, koloni jamur tersebut ditempatkan di atas kaca benda yang sebelumnya sudah diberi satu tetes PDA kemudian ditutup dengan kaca penutup. Kertas saring diberi beberapa tetes aquadest untuk mencegah kekeringan, kemudian menginkubasikan biakan pada suhu kamar.

3. Pengamatan

Jamur dianggap tumbuh cukup baik setelah dua sampai tiga hari, kemudian dilihat morfologinya untuk diidentifikasi dengan perbesaran 40 x 10.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan maka dapat disimpulkan :

1. Perlakuan flamering dengan taraf 1x2 menit, 2x2 menit dan 3x2 menit tidak mempengaruhi timbulnya kontaminasi pada pembibitan anggrek.
2. Perlakuan desinfektan H_2O_2 , $NaClO$, Etil Alkohol 62% dan Irgasan DP 300 tidak mempengaruhi timbulnya kontaminasi pada pembibitan anggrek.
3. Kombinasi perlakuan flamering dan penggunaan desinfektan tidak mempengaruhi timbulnya kontaminasi pada pembibitan anggrek.
4. Jenis jamur yang mengkontaminasi adalah dari marga *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp* dan *Fusarium sp.*

5.2 Saran

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kontaminasi tidak dipengaruhi oleh pelaksanaan flamering dan penggunaan desinfektan, maka perlu diteliti lebih lanjut mengenai cara sterilisasi alat dan ruangan entkas



Unit DPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, G. J dan C. W. Mims. 1979. *Introductory Mycology*. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley and Sons Inc. 632p
- Arditi, j dan R. Ernst. 1993. *Micropropagation of Orchids*. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley and Sons Inc. 454p
- Arifin, H dan B. Sulistyantara. 1990. *Anggrek Vanda*. Jakarta: Penebar swadaya 154p
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Jakarta: Universitas Indonesia. 485p
- Brian dan R. Wilma. 1986. *Anggrek Sebagai Tanaman Hias di dalam Rumah*. Bandung: Pionir Jaya. 107p
- Burnet, H. C. 1974. *Orchid Disease*. Florida: Florida Department of agriculture and Consumer Service. 66p
- Gaspar, V. 1991. *Metode perancangan Percobaan*. Bandung: CV. Armico. 193p
- Gunawan, I. W. 1984. *Budidaya Anggrek*. Yogyakarta: Kanisius. 87pariwisata
- Hendaryono, D. P. S dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman Secara Vegetatif Modern*. Yogyakarta: Kanisius. 139p
- Hendaryono, D. P. S. 2000. *Pembibitan Anggrek dalam Botol*. Yogyakarta: Kanisius. 69p
- Keenan, C. W, D. C. Kleinfelter dan J.H. Wood. 1992. *Kimia Untuk Universitas*. Jakarta: Erlangga. 691p
- Komarayanti, S dalam Yuni, A. R. S. R. 2000. *Keberadaan Jamur Kontaminan Udara di Ruang Anjungan Tunai Mandiri (ATM) Sebagai Model Pembelajaran Jamur*. Jember: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Jember. 61p
- Lakitan, B. 1995. *Hortikultura*. Jakarta: Rajawali Pers. 219p
- Lay, B. W. 1992. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Rajawali Pers. 487p

- Lay, B. W. dan S. Hastowo. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers. 376p
- Lestari, S.S. 1985. *Mengenal dan Bertanam Anggrek*. Semarang: Aneka Ilmu. 89p
- Rahardja, P. C. 1988. *Kultur Jaringan*. Jakarta: Penebar Swadaya. 134p
- Riawan, S. 1989. *Kimia Organik*. Jakarta: Binarupa Aksara. 369p
- Rubert, B. 1972. *Diagnosis Penyakit Tanaman*. Tuscon-Arizona, USA, The University of Arizona Press. 12.5p
- Rukmana, R dan Sugandhi, U. U. 1997. *Penyakit Tanaman dan Teknik Pengendalian*. Yogyakarta: Kanisius. 88p
- Rukmana, R. 2000. *Merawat Anggrek*. Yogyakarta: Knisius. 76p
- Samson, R. A, E. S. Hoekstra dan C. V. Oorschot. 1981. *Introduction to Food Borne Fungi*. Netherlands: Institute of The Royal Netherlands Academy of Art and Science. 139p
- Schlegel, H. G dan Karin, S. 1968. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 688p
- Soeryowinoto, S. M. 1974. *Merawat Anggrek*. Jakarta: Kanisius. 87p
- Soeryowinoto, S. M dan S. Moeso. 1977. *Perbanyakan Vegetatif pada Anggrek*. Yogyakarta: Kanisius. 93p
- Suastika, G. 1996. *Hama dan Penyakit Anggrek*. Jakarta: Penebar Swadaya. 96p
- Tweeddale, T. 1997. *Triclosan*. Ttweed @ wildrockies. Org. 8p
- Whetherell, D. C. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In-Vitro* Terjemahan Koensocmadiyah Wayne. New Jersey: A Very Publishing Group Inc. 250p
- Withner, C. L. 1959. *The Orchids*. New York: The Ronald Press Company. 648p
- Volk, W. A. dan M. F. Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi 5. Jilid 1. Jakarta: Erlangga. 341p

Lampiran

Tabel 1. Sidik Ragam Kontaminasi pada Pembibitan anggrek

Sumber keragaman	DB	Jumlah kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	19	0,39204	0,02063	1,263158 ns	1,855	2,400
Faktor A	3	0,05808	0,01936	1,185185 ns	2,610	3,830
Faktor B	4	0,11979	0,02995	1,833333 ns	2,840	4,310
Interaksi AB	12	0,21417	0,01785	1,092593 ns	2,000	2,660
Galat	40	0,65340	0,01634			
Total	59	1,04544				

