

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak mengikuti kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

III. MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Plant Protection Department, Divisi Research & Development PT. Arara Abadi Perawang pada bulan September – Februari 2017 yang berlokasi di Kecamatan Tualang, Kabupaten Siak, Provinsi Riau.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan di Laboratorium adalah cawan petri, autoclave, Cock bor, laminar air flow cabinate, rotary shaker, inkubator, pinset, lampu bunsen, mikroskop. Sedangkan alat-alat yang digunakan di lapangan adalah pot tray, ember, kamera, penggaris, Jangka Sorong, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plantlets* tanaman *Eucalyptus pellita*, biakan murni cendawan endofit koleksi *plant protection lab.* (*Trichoderma* sp., dan *Gliocladium* sp.). Media nursery *E. pellita* sesuai dengan komposisi media dari PT. Arara Abadi, aquades, Alkohol 96 %, media PSA, KOH 10%, H₂O₂ 0,5 %, *Trypan blue* 0,2%, *Lactic Acid* dan *Gliserin*.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 3 ulangan, sehingga diperoleh 21 kombinasi perlakuan (21 pot tray) setiap pot tray terdapat 96 tanaman *Eucalyptus* sp. sehingga terdapat 2016 tanaman *Eucalyptus* sp.

Perlakuan *Eucallyptus* sp. yang digunakan sebagai berikut :

T0 = Tanpa pemberian cendawan (Kontrol)

T1 = *Trichoderma* sp. (Isolat dari *Eucalyptus pelita* (3G. 8)).

T2 = *Trichoderma* sp. (Isolat dari Akar Balsa (3G. 2)).

T3 = *Gliocladium* sp. (Isolat dari Krisan (3G. 10)).

T4 = Kombinasi (3G.8 + 3G. 2 + 3G. 10)

Trichoderma sp. (Isolat dari *Eucalyptus pelita* (3G. 8)).

Trichoderma sp. (Isolat dari Akar Balsa (3G. 2)).

Gliocladium sp. (Isolat dari Krisan (3G. 10)).

T5 = Kombinasi (3G. 8 + 3G. 10)

Trichoderma sp. (Isolat dari *Eucalyptus pelita* (3G. 8)).

Gliocladium sp. (Isolat dari Krisan (3G. 10)).

T6 = Kombinasi (3G. 8 + 3G. 10 + 3G. 4)

Trichoderma sp. (Isolat dari *Eucalyptus pelita* (3G. 8)).

Gliocladium sp. (Isolat dari Krisan (3G. 10)).

Gliocladium sp. (Isolat dari Akar Bambu (3G. 4)).

Tabel 3.1. Kombinasi Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	U1	U2	U3
T0	T0U1	T0U2	T0U3
T1	T1U1	T1U2	T1U3
T2	T2U1	T2U2	T2U3
T3	T3U1	T3U2	T3U3
T4	T4U1	T4U2	T4U3
T5	T5U1	T5U2	T5U3
T6	T6U1	T6U2	T6U3

3.4. Metode Pelaksanaan

3.4.1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.2. Pembuatan Media

a. Media Nursery

Media nursery dibuat dengan mencampurkan tanah gambut 200 g, Simplot 1,4 kg, TSP 0,5 kg, dolomite 1,2 kg. Dosis aplikasi 1 Liter per 6 pot tray. Campuran media tanam tersebut dimasukkan ke dalam tube 75 cc, media tanam dipadatkan agar tidak habis dan hilang saat dilakukan penyiraman.

b. Media PSA

Timbang 20 g Sukrosa, 20 g Agar dan 200 g Kentang kemudian tambahkan aquades 1 liter. Gunakan *Stirrer* dan batang magnet sebagai pengaduk sehingga bahan tercampur dengan rata. Setelah larutan homogen, tempatkan larutan tersebut ke dalam Erlenmeyer dan tutup menggunakan kertas dan plastik kemudian ikat

menggunakan tali. Masukkan Erlenmeyer berisi media kedalam autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121 °C.

3.4.3. Aplikasi Cendawan

Suspensi cendawan antagonis diaplikasikan dengan menggunakan metode pencelupan *Trichoderma* sp. dan *Gliocladium* sp. pada *Plantlets* tanaman *E. Pellita* sebelum tanam di nursery. Dosis aplikasi 300 ml per 3 pot tray dengan konsentrasi spora cendawan endofit 10^6 cfu/ml air. *Plantlets* tanaman *E. Pellita* yang digunakan yaitu produksi PT. Arara Abadi dengan tinggi rata-rata 5 cm.

3.5. Pengamatan

3.5.1. Pengujian Kolonisasi Cendawan Endofit dalam Jaringan

Pengujian kolonisasi cendawan endofit pada jaringan akar tanaman *E. pellita* dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan miselium cendawan endofit dalam jaringan akar tanaman. Jaringan akar yang diambil merupakan jaringan muda dan sehat pada umur 75 HST. Akar tanaman *E. pellita* dibersihkan dari tanah dengan air mengalir. Selanjutnya akar tersebut dipotong-potong kecil ukuran ± 2 cm kemudian akar direndam dalam larutan KOH 10% dan dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C, selanjutnya akar dicuci hingga bersih dengan air mengalir. Selanjutnya akar direndam dalam larutan H_2O_2 0,5% selama 24 jam. Akar dibilas dengan aquades 3 kali. Akar direndam dalam pewarna *Tryphan blue* 02% selama 24 jam, kemudian dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 80-90 °C selama 60 menit, kemudian akar dipisahkan dari larutan pewarna *Tryphan blue*. Berikan larutan pencuci warna *Lactic Acid* dan *Gliserin* dengan perbandingan 1 : 1 ke tiap tabung reaksi, lalu kocok sehingga zat warna yang terserap akar terlarut ke dalam larutan pencuci warna, kecuali yang ada pada struktur-struktur cendawan. (Saraswati dkk., 2007). Selanjutnya akar diamati secara mikroskopis untuk melihat kolonisasi cendawan dalam jaringan tanaman.

3.5.2. Perhitungan Jumlah Tanaman Hidup (%)

Perhitungan dilakukan dengan menghitung jumlah tanaman yang hidup, perhitungan dilakukan tiga kali yaitu pada umur 30, 45 dan 75 hari setelah tanam. Perhitungan persentase tanaman yang bertahan hidup dengan rumus:

$$S = \frac{JTB}{JTU} \times 100 \%$$

Keterangan:

- S : Persentase tanaman yang hidup
JTB : Jumlah tanaman yang bertahan hidup
JTU : Jumlah total tanaman uji

3.5.3. Tinggi Tanaman (cm)

Pengukuran tinggi tanaman dilakukan tiga kali, yaitu pada umur 30, 45 dan 75 hari. Tinggi tanaman diukur dari pangkal batang sampai ke ujung titik tumbuh tertinggi. Pengukuran tinggi diambil dari 16 tanaman sampel pada tiap pot tray.

3.5.4. Diameter Batang (mm)

Diameter batang diukur diatas 5 cm dari pangkal batang dan pengamatan dilakukan pada umur 30, 45 dan 75 hari dengan alat pengukur diameter batang.

3.5.5. Jumlah Daun

Pengamatan dilakukan dengan menghitung seluruh jumlah daun tanaman *Eucalyptus pellita*, daun yang dihitung adalah daun yang sudah terbuka sempurna. Pengamatan jumlah daun per tanaman dilakukan pada umur 30, 45 dan 75 hari.

3.5.6. Intensitas Serangan Penyakit (%)

Intensitas serangan penyakit diamati berdasarkan kerusakan pada tanaman *Eucalyptus pelita*. Persentase tanaman yang terserang penyakit dilakukan pada umur 30, 45 dan 75 hari setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan mengamati seluruh tanaman uji berdasarkan metode Khairuni dkk., (2011) dengan rumus sebagai berikut:



© Hak Cipta milik UIN Suska Riau

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

- b. Pengutipan tidak mengikuti kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

$$KP = \frac{\sum(n_i v_i)}{ZN} \times 100\%$$

Dimana

KP : Intentitas serangan (%)

n_i : Jumlah tanaman yang terserang pada setiap kategori serangan

v_i : Nilai sekoring penyakit tiap tanaman.

Z : Nilai sekoring kategori serangan tertinggi

N : Jumlah tanaman yang diamati.

Kategori

0. : Tidak terinfeksi
1. : Terinfeksi < 25%
2. : Terinfeksi 25 - 50%
3. : Terinfeksi > 50% - 75%
4. : Terinfeksi > 75%

Untuk mengetahui kriteria serangan penyakit, maka ditentukan berdasarkan Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Kriteria serangan berdasarkan kejadian penyakit

Tingkat Kejadian penyakit (%)	Kriteria
0	Normal
1 s.d 25	Ringan
26 s.d 50	Sedang
51 s.d 75	Berat
75	Sangat Berat

3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistika dengan menggunakan sidik ragam dengan model linear sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \pi + T_i + \epsilon_{ij}$$

dimana:

Y_{ij} = Hasil pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

J = *E. pellita*

π = Nilai tengah umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

Analisis Ragam Untuk Rancangan Acak Lengkap dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel. 3.3. Analisis Ragam untuk Rancangan Acak Lengkap

Sumber	Db	JK	KT	F. hit	F. tabel	
					5%	1%
Perlakuan	t-1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	t(r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	t r - 1	JKT	-	-	-	-

Keterangan :

t : Perlakuan

r : Ulangan

JKP : Jumlah kuadrat perlakuan

JKG : Jumlah kuadrat galat

JKT : Jumlah kuadrat total

KTP : Kuadrat tengah perlakuan

KTG : Kuadrat tengah galat

$$\text{Faktor koreksi (FK)} = \frac{(Y...)^2}{rt}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \sum (Y_{ij})^2 - FK$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \frac{\sum (y_i)^2 - FK}{r}$$

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak mengurangi kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.



Jumlah Kuadrat Galat (JKG)	= $JKT - JKP$
Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)	= JKP/dbP
Kuadrat Tengah Galat (KTG)	= JKG/dbG
F hitung	= KTP/KTG

Data hasil pengamatan dari masing-masing perlakuan diolah menggunakan program SAS versi 9.1. Apabila terdapat berbeda nyata pada sidik ragam maka dilanjutkan dengan menggunakan Uji Jarak Duncan (UJD) pada taraf 5% (Mattjik dan Sumertajaya, 2006).