



**VIABILITAS DAN EFEKTIVITAS BIOFUNGISIDA BERBAHAN AKTIF  
*Trichoderma harzianum* UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT  
*Rhizoctonia* PADA TANAMAN KEDELAI**

**SKRIPSI**

Oleh

**DIANDARI NASTITI AROFAHSARI  
NIM. 111510501019**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**VIABILITAS DAN EFEKTIVITAS BIOFUNGSIDA BERBAHAN AKTIF  
*Trichoderma harzianum* UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT  
*Rhizoctonia* PADA TANAMAN KEDELAI**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh

**DIANDARI NASTITI AROFAHSARI  
NIM 111510501019**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Musyarofah dan Ayahanda Adi Buntoro, saya haturkan terimakasih atas segala pengorbanan, kasih sayang, serta do'a yang selalu dipanjatkan yang mungkin tidak dapat terbalas dengan apapun;
2. Semua guru-guru sejak Sekolah Dasar hingga Perguruan Tinggi yang telah mendidik dan memberikan ilmunya;
3. Teman-teman tercinta, atas motivasi serta dukungan yang telah diberikan selama ini;
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Diandari Nastiti Arofahsari

NIM : 111510501019

menyatakan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul **Viabilitas Dan Efektivitas Biofungisida Berbahan Aktif *Trichoderma harzianum* Untuk Mengendalikan Penyakit *Rhizoctonia* Pada Tanaman Kedelai** adalah benar hasil karya sendiri, kecuali disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakkan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 10 Desember 2015

Yang menyatakan

Diandari Nastiti Arofahsari

NIM 111510501019

**SKRIPSI**

**VIABILITAS DAN EFEKTIVITAS BIOFUNGISIDA BERBAHAN AKTIF  
*Trichoderma harzianum* UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT  
*Rhizoctonia* PADA TANAMAN KEDELAI**

Oleh:  
**Diandari Nastiti Arofahsari**  
**NIM. 111510501019**

**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama : Ir. Abdul Majid, MP.  
NIP. 19670906199203 1 004

Dosen pembimbing anggota : Ir. Tatang Pranata, Dip. Agr  
NIP. 19580316198602 1 001

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul **Viabilitas Dan Efektivitas Biofungisida Berbahan Aktif *Trichoderma harzianum* Untuk Mengendalikan Penyakit *Rhizoctonia* Pada Tanaman Kedelai** telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 10 Desember 2015

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

**Ir. Abdul Majid, MP.**

NIP. 19670906 199203 1 004

**Ir. Tatang Pranata, Dip. Agr**

NIP. 19580316 198602 1 001

Penguji,

**Ir. Paniman Ashna Mihadjo, MP.**

NIP. 19500903 198003 1 001

Mengesahkan  
Dekan,

**Dr. Ir. Jani Januar, M.T.**

NIP. 19590102 198803 1 00

## RINGKASAN

**Viabilitas Dan Efektivitas Biofungisida Berbahan Aktif *Trichoderma harzianum* Untuk Mengendalikan Penyakit *Rhizoctonia* Pada Tanaman Kedelai;** Diandari Nastiti Arofahsari; 111510501019; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh pathogen *Rhizoctonia solani* merupakan salah satu penyakit cendawan tular yang banyak menimbulkan kerugian pada tanaman kedelai. Upaya pengendalian hayati yang banyak dilakukan dan terbukti menekan perkembangan *R. solani* pada tanaman kedelai adalah dengan memanfaatkan cendawan antagonis *Trichoderma harzianum*. Formulasi biofungisida dapat menyebabkan perubahan terhadap efektivitas dalam mengendalikan suatu patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas beberapa formulasi biofungisida *T. harzianum* dengan masa simpan 2 bulan dan untuk mengetahui frekuensi aplikasi yang optimum dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia* pada tanaman kedelai.

Metode yang digunakan yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, faktor pertama (A) adalah macam formulasi yang digunakan yang terdiri dari 4 taraf yaitu kontrol (tanpa biofungisida), biofungisida sederhana (media jagung), formulasi biofungisida tepung (produk biotrich atau campuran berbagai tepung kaolin, CMC, CaCo<sub>3</sub>, tepung tulang ikan, tepung tulang sapi, dextrose), formulasi biofungisida cair (media air kelapa) dan faktor kedua (B) adalah frekuensi aplikasi (berapa kali pemberian macam formulasi) yang dilakukan pada tanaman yang terdiri dari 4 taraf yaitu 1 kali aplikasi, 2 kali aplikasi, 3 kali aplikasi, dan 4 kali aplikasi. Kombinasi percobaan yang didapatkan yaitu 4 x 4 perlakuan sehingga diperoleh 16 kombinasi percobaan. Perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 48 plot perlakuan. Pada masing – masing plot terdiri dari 3 tanaman yang sehingga terdapat 144 tanaman kedelai.

Berdasarkan hasil penelitian, aplikasi agen hayati biofungisida berbahan aktif *T. harzianum* efektif dalam menurunkan serangan penyakit rebah kecambah

yang disebabkan oleh patogen *R. solani*. Formulasi biofungisida pada media air kelapa merupakan perlakuan yang terbaik untuk mengendalikan patogen. Dalam pertumbuhan jumlah spora dan daya viabilitas, *T. harzianum* mampu tumbuh baik pada formulasi biofungisida media jagung, formulasi biofungisida pada media air kelapa dan formulasi biofungisida media tepung. Perlakuan yang efektif dalam aplikasi biofungisida yaitu pada frekuensi aplikasi 1 kali, karena pada aplikasi 1 kalipun sudah mampu mengendalikan serangan penyakit rebah kecambah oleh patogen *R. solani*.



## SUMMARY

**Viability and Bio-fungicide with *Trichoderma harzianum* as Active Ingredients to Manage *Rhizoctonia* Disease of Soybean;** Diandari Nastiti Arofahsari; 111510501019; Study Program of Agrotechnology, Faculty of Agricultural, University of Jember.

Plant pest disease which is caused by *Rhizoctonia solani* pathogens is one of borne fungus diseases that harm for soybean. The biological control which is mostly done and proven in minimizing the growth of soybean's *R. solani* is by using antagonist fungus *Trichoderma harzianum*. Bio-fungicide formulation can cause the change toward effectiveness in controlling some pathogens. This study is conducted to know the viability of some *T. harzianum* bio-fungicide formulation with 2 months shelf life and to know optimum application frequency in controlling *Rhizoctonia* disease in soybean.

This study used Complete Random Plan method with 2 factors. The first factor (A) is kind of formulation which is used and consists of 4 levels; they are controlling (without bio-fungicide), simple bio-fungicide (corn media), flour bio-fungicide formulation (biotrich or the mix of some kaolin flour, CMC, CaCo<sub>3</sub>, fishbone flour, cow-bone flour, dextrose), liquid bio-fungicide formulation (coconut water media). Moreover, the second factor (B) is application frequency (the amount of formulation giving) which is done toward the plants that consist of 4 levels; they are once application, twice application, three times application, and four times application. The gained experiment combinations are 4x4 treatments so that can be gained 16 experiment combinations. The treatments are repeated three times so there are 48 treatment plots. Each plot consists of 3 different plants so there are 144 soybean plants.

Based on the research results, the application of biological control Bio-fungicide with *T. harzianum* as active ingredients effective in lowering plant pests that attack the disease the pathogen *R. solani*. Biofungicide formulation coconut water media was the best treatment for controlling pathogens. In a growing number of spores and highest viability, *T. harzianum* can grow well in the simple

bio-fungicide (corn media), flour bio-fungicide formulation, liquid bio-fungicide formulation (coconut water media). The application frequency which is done in the observation cause the result is not significantly different. It is because the treatment which is done once, twice, three times, and four times shows that they do not have any affect. That is because even the once treatment is applied, *T. harzianum* in each given formulation are able to live well and effectively control the pathogens.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah S.W.T. yang senantiasa melimpahkan rahmat dan maghfirah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun karya tulis mahasiswa yang berjudul **Viabilitas Dan Efektivitas Biofungisida Berbahan Aktif *Trichoderma harzianum* Untuk Mengendalikan Penyakit *Rhizoctonia* Pada Tanaman Kedelai**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada program studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada :

1. Bapak Adi Buntoro, ibu Musyarofa yang selalu memberikan dukungan dan doa demi kelancaran penyusunan karya tulis ini.
2. Ir. Abdul Majid, MP. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan arahan dan motivasi dalam penyusunan karya tulis ini.
3. Ir. Tatang Pranata, Dip. Agr. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang membantu mengarahkan dan mendukung penulisan karya tulis ini.
4. Ir. Paniman Ashna Mihardjo, MP. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingannya sampai penulis menyelesaikan karya tulis ini.
5. Ir. Irwan Sadiman, MP. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingannya selama studi.
6. Dr. Ir. Jani Januar, M.T. selaku dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
7. Ir. Hari Purnomo, MSi., Ph.D.,DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
8. Saudaraku Annisa Dewi Masitoh yang selalu memberikan semangat dalam mengerjakan karya tulis ini
9. Sahabat-sahabatku Alfiah, Astika, Prisca, Lely, Siti, Atik, Merryzka dan Mas Samsul yang selalu memberi segala dukungan dan semangat hidup.
10. Teman - teman program studi Agroteknologi 2011 khususnya kelas A yang memberikan semangat selama ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan sebagai acuan penelitian-penelitian selanjutnya.

Jember, 10 Desember 2015

Penulis



**DAFTAR ISI**

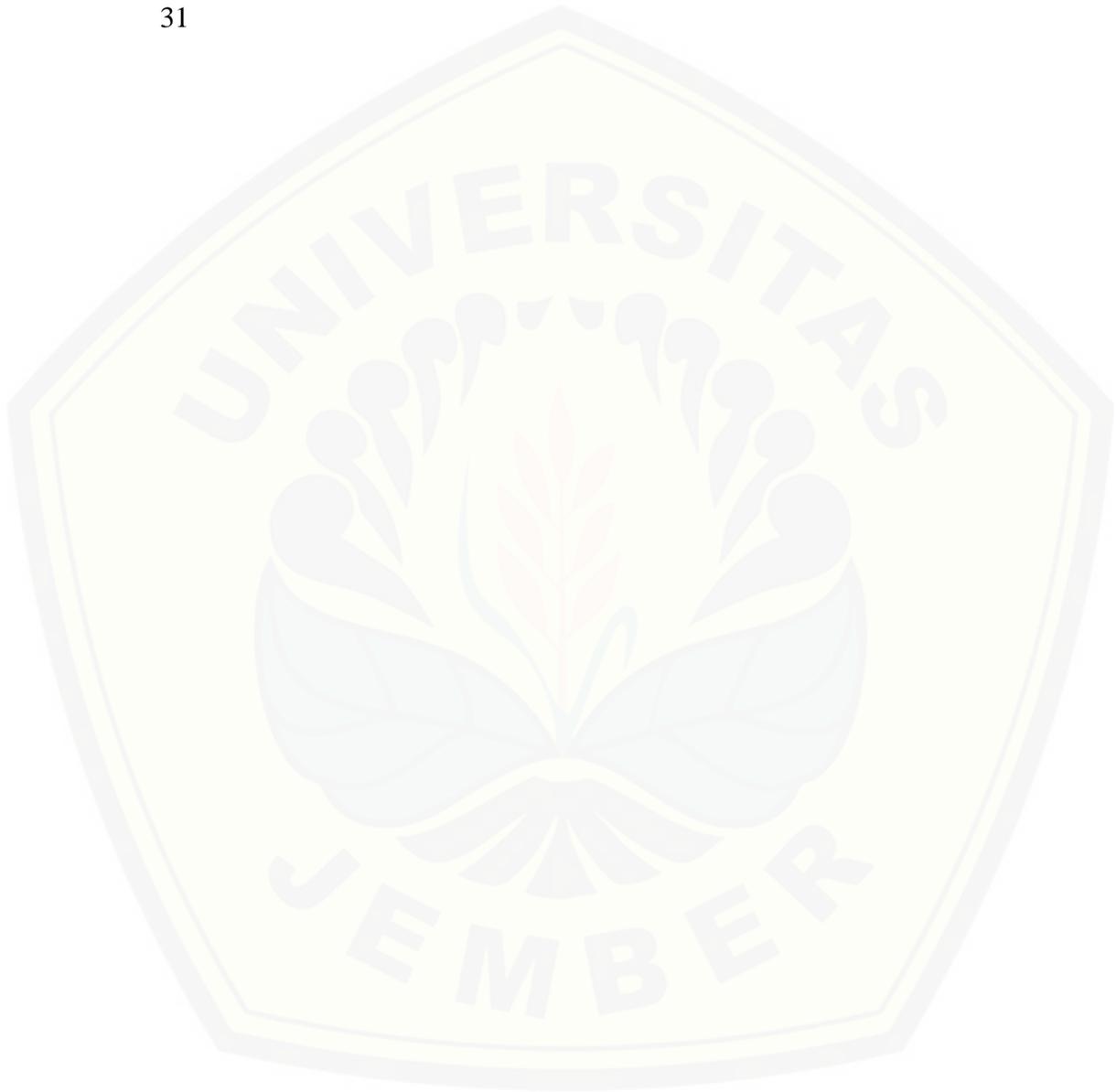
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>SUMMARY</b> .....	x
<b>PRAKATA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tanaman Kedelai.....	4
2.2 Penyakit <i>Rhizoctonia</i> Pada Tanaman Kedelai .....	4
2.3 Karakteristik <i>Trichoderma harzianum</i> .....	7
2.4 Peran Agen Hayati.....	8
2.5 Formulasi Agen Hayati.....	10
2.6 Hipotesis .....	12
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	13
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	13
3.3 Rancangan Penelitian .....	13

3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	14
3.4.1 Peremajaan dan Perbanyak Patogen dan Agen Pengendali Hayati .....	14
3.4.2 Pembuatan Biofungisida Sederhana Menggunakan Media Jagung (A1) .....	15
3.4.3 Pembuatan Biofungisida berbentuk Tepung Menggunakan Media Campuran Berbagai Tepung (A2).....	15
3.4.4 Pembuatan Biofungisida Cair Menggunakan Media Air Kelapa (A3) .....	15
3.4.5 Persiapan Media Tanam.....	16
3.4.6 Inokulasi Patogen <i>R. solani</i> .....	17
3.4.7 Penanaman Benih Kedelai .....	17
3.4.8 Perawatan Bibit .....	17
3.4.9 Aplikasi Biofungisida Berbahan Aktif <i>T. harzianum</i> .....	17
3.5 Pengumpulan Data .....	17
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	
4.1 Hasil Perbanyak Agen Hayati <i>T. harzianum</i> dan Pembuatan Biofungisida Berbahan Aktif <i>T. Harzianum</i> .....	20
4.2 Hasil F- Hitung .....	22
4.3 Kerapatan Spora <i>T. harzianum</i> .....	22
4.4 Daya Viabilitas Spora <i>T. Harzianum</i> .....	23
4.5 Pengamatan gejala dan masa inkubasi penyakit rebah pada tanaman kedelai .....	27
4.5 Insidensi penyakit rebah pada tanaman kedelai .....	30
<b>BAB 5. KESIMPULAN .....</b>	
5.1 Kesimpulan .....	34
5.2 Saran .....	34
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>38</b>

DAFTAR GAMBAR

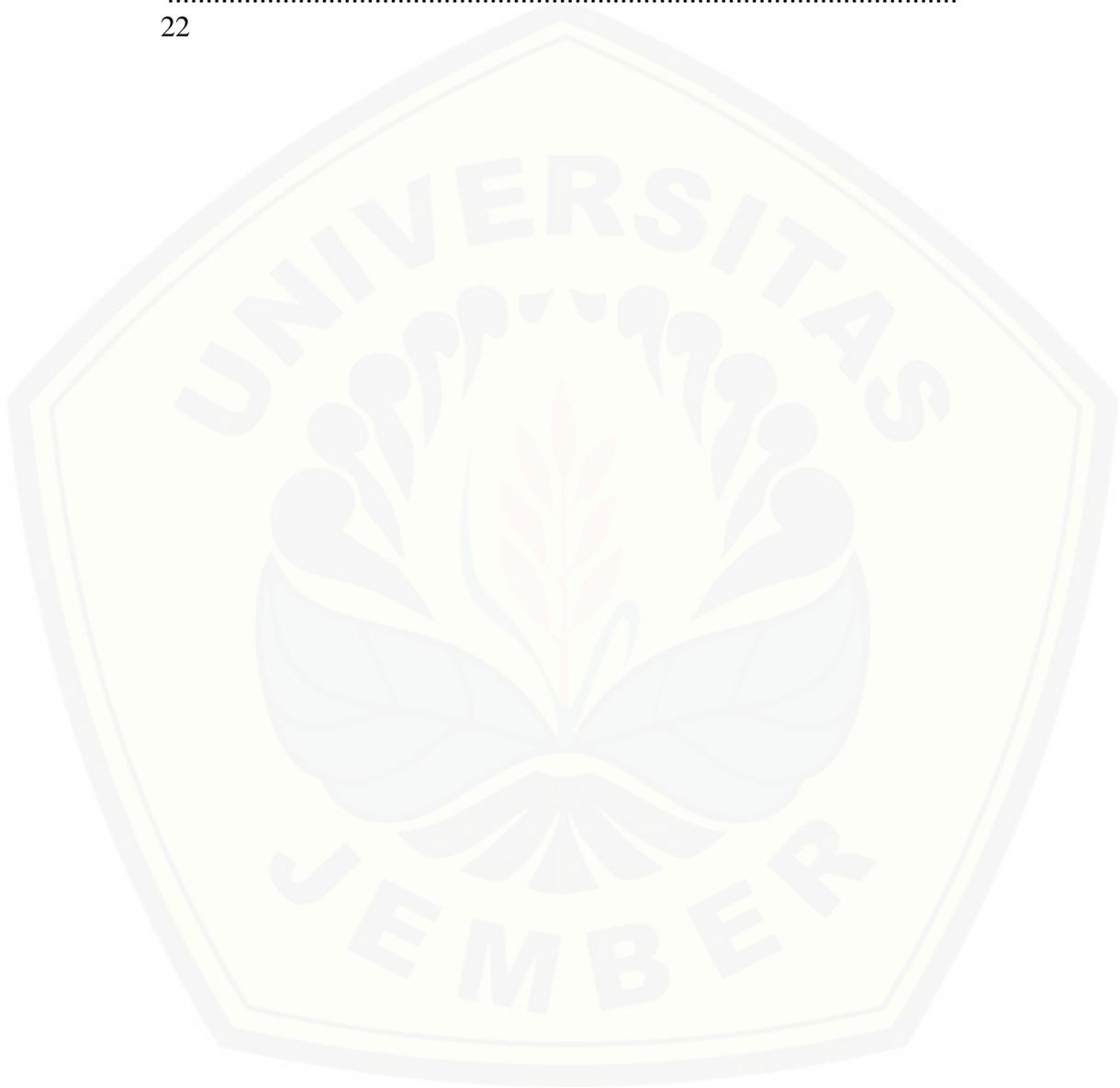
	Halaman
1. Batang Mengalami Rebaah Kecambah .....	6
2. Polong Kedelai Terinfeksi Penyakit <i>Rhizoctonia</i> .....	6
3. Morfologi <i>T.harzianum</i> .....	7
4. Denah Rancangan Percobaan di Qoui.....	14
5. Rangkaian Fermentor Sangat Sederhana .....	16
6. Hasil Media Perbanyakkan Agen Hayati <i>T. harzianum</i> .....	21
7. Grafik Kerapatan Spora Formulasi Biofungisida <i>T. harzianum</i> .....	
.....	
23	
8. Grafik Viabilitas Macam Formulasi Biofungisida <i>T. harzianum</i> .....	
.....	
24	
8. Perkecambahan Spora <i>T. harzianum</i> Pada Formulasi Biofungisida	
24 Jam Setelah Inkubasi Pada Perbesaran 400×.....	
.....	
25	
9. Tanaman Terserang <i>Rhizoctonia</i> Pada Pembibitan Menyebabkan	
Tanaman Menjadi Kering.....	
.....	
27	
10. Isolasi Patogen <i>R.solani</i> .....	
.....	
28	
11. Grafik Masa Inkubasi .....	
.....	
29	

12. Grafik Pengaruh Faktor A dan B Terhadap Insidensi.....  
.....  
30
13. Grafik Pengaruh Beberapa Media (faktor A) Terhadap Insidensi.....  
.....  
31



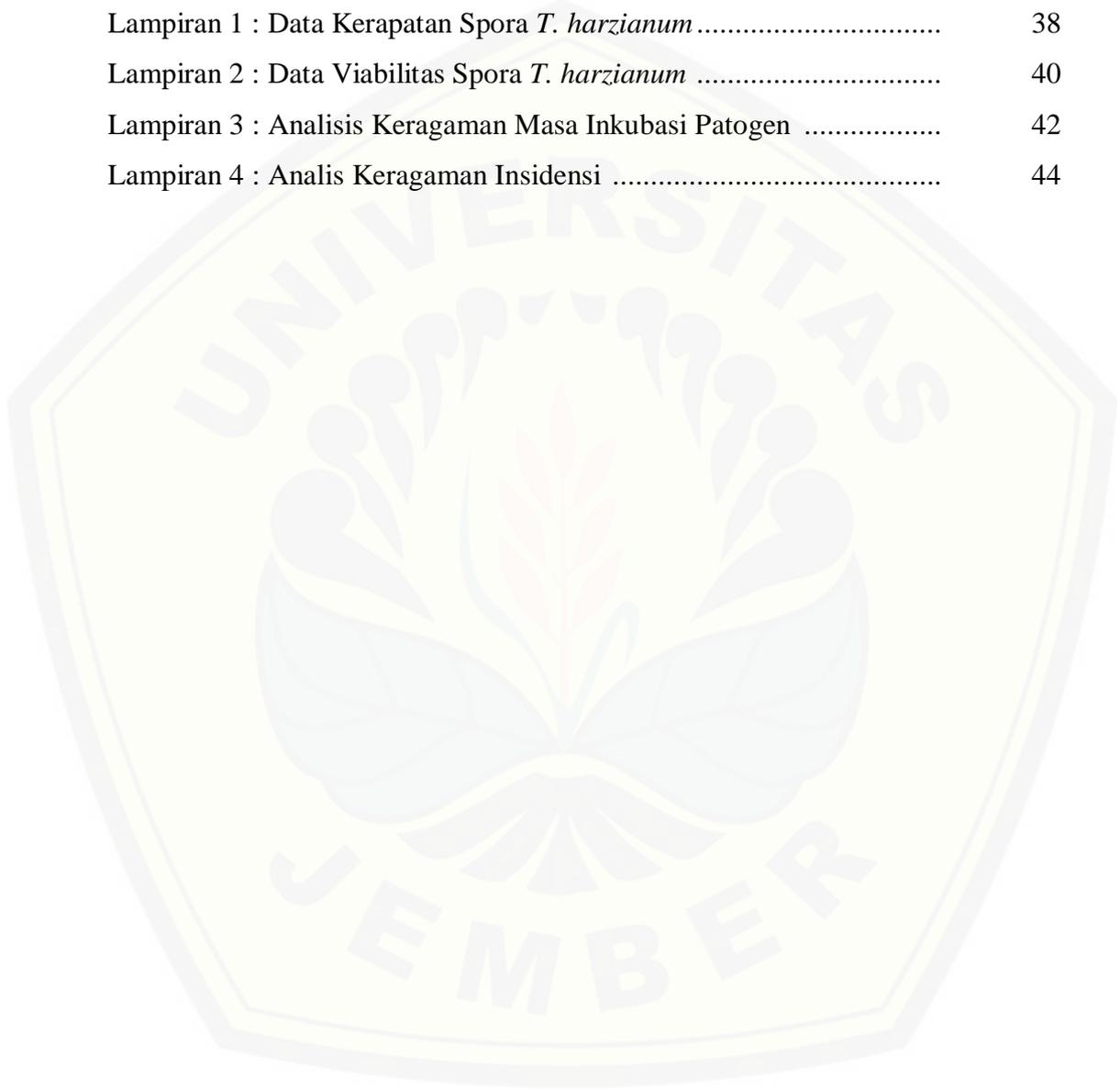
**DAFTAR TABEL**

	Halaman
1. Rangkuman F- Hitung Hasil Penetian .....	
.....	
22	



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 : Data Kerapatan Spora <i>T. harzianum</i> .....	38
Lampiran 2 : Data Viabilitas Spora <i>T. harzianum</i> .....	40
Lampiran 3 : Analisis Keragaman Masa Inkubasi Patogen .....	42
Lampiran 4 : Analisis Keragaman Insidensi .....	44



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pengembangan kedelai telah memberi kontribusi terhadap perekonomian nasional (PDB sub sektor tanaman pangan) meskipun nilainya masih relatif kecil dibandingkan dengan komoditi tanaman pangan lainnya. Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill), merupakan salah satu tanaman sumber protein yang penting. Kedelai merupakan komoditas yang bernilai ekonomi tinggi dan banyak memberi manfaat tidak saja digunakan sebagai bahan pangan tetapi juga sebagai bahan baku industri dan pakan ternak (Dirjen Tanaman Pangan, 2013).

Penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh patogen *Rhizoctonia solani* merupakan salah satu penyakit cendawan tular yang banyak menimbulkan kerugian pada tanaman budi daya, salah satunya pada tanaman kedelai. Di Indonesia, penyakit ini dapat mengakibatkan kehilangan hasil hingga 90% jika serangan terjadi pada fase awal pertumbuhan kedelai. Penggunaan fungisida kimia secara berlebihan dan tidak sesuai anjuran untuk pengendalian penyakit ini berdampak negatif terhadap lingkungan. Di sisi lain, pengendalian dengan menggunakan varietas tahan masih kurang karena terbatasnya sumber genetika inang yang tahan terhadap *R. solani* (Sudjono, 2003).

Upaya pengendalian terhadap penyakit pada tanaman kedelai masih mengandalkan penggunaan pestisida sebagai upaya pengendalian utama, namun pada kenyataannya menunjukkan bahwa upaya pengendalian dengan menggunakan senyawa kimia bukan merupakan alternatif yang terbaik, berdasarkan hal tersebut maka perlu diambil alternatif pengendalian lainnya yang lebih mempertimbangkan aspek ekologis dan kesehatan, salah satu alternatif tersebut yaitu dengan pengendalian hayati. Pemanfaatan agen hayati dalam proses produksi suatu produk tanaman khususnya dalam menekan kehilangan dan kerugian hasil akibat organisme pengganggu tanaman (OPT) merupakan salah satu aspek penting yang sangat berpeluang untuk menjawab tuntutan masyarakat akan produk tanaman yang minim penggunaan pestisidanya. Agen pengendali hayati (APH) merupakan pengendali alami utama penyakit yang cara kerjanya

tergantung dari kepadatan populasi penyakit (*density-dependent*). Apabila populasi penyakit meningkat sehingga mengakibatkan kerugian ekonomi bagi petani, hal ini disebabkan karena keadaan lingkungan yang kurang memberi kesempatan bagi musuh alami untuk menjalankan fungsinya. Makhluk hidup dalam kelompok ini diistilahkan juga sebagai organisme yang berguna yang dikenal juga sebagai musuh alami, seperti predator, parasitoid, jamur, bakteri dan virus (Soesanto, 2008).

Penggunaan jamur antagonis *Trichoderma harzianum* merupakan salah satu komponen pengendalian yang mulai banyak mendapat perhatian karena memiliki beberapa keuntungan, antara lain: mampu menghambat perkembangan patogen *R. solani* karena bersifat antagonis tinggi, pertumbuhannya sangat cepat dan tidak menjadi penyakit untuk tanaman tingkat tinggi, mekanisme pengendalian *T. harzianum* yang bersifat spesifik target, mengkoloni rhizosfer dengan cepat dan melindungi akar dari serangan jamur patogen, mempercepat pertumbuhan tanaman dan meningkatkan hasil produksi tanaman (Harman dalam Gultom, 2008).

Agensia hayati telah banyak diformulasikan dalam bentuk tepung, cair, dan butiran, hal ini dikarenakan supaya petani mudah dalam pengaplikasiannya agen hayati *T. harzianum* serta mudah disimpan dalam waktu lama. Menurut Soesanto (2008) formulasi biofungisida mempunyai beberapa keunggulan diantaranya dapat memperpanjang daya hidup produk, memperbaiki kemampuan agensia di lingkungan, keefektifan pengendalian, kemudahan penyiapan dan penerapan, dan efisiensi biaya. Biofungisida dari media jagung memiliki struktur yang semi padat sehingga memungkinkan bahan aktif tidak mudah hilang oleh sinar matahari maupun air hujan dan aplikasinya bisa langsung ditabur tanpa harus dilarutkan. Keunggulan biofungisida berbentuk tepung yaitu memudahkan dalam penggunaan alat yang digunakan untuk menyebarkan pestisida tersebut, cara pembuatannya juga mudah hanya tinggal mencampurkan bahan-bahan yang akan digunakan, selain itu keunggulan biofungisida berbentuk tepung resiko fitotoksisitas lebih rendah. Sedangkan biofungisida cair mempunyai beberapa keunggulan, yaitu komposisi dan konsentrasi medium dapat diatur dengan mudah, dapat

memberikan kondisi optimum bagi pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme, dan pemakaian medium dapat lebih efisien (Rachman, 1989), selain itu pestisida yang berbentuk cairan bahaya pelayangannya lebih kecil jika dibanding pestisida berbentuk tepung. Disamping itu pertimbangan lain dalam memilih formulasi pestisida adalah alat yang digunakan untuk menyebarkan pestisida tersebut.

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian ini untuk mengetahui viabilitas dan efektivitas agen pengendali hayati dari masing-masing biofungisida berbahan aktif *T. harzianum* dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia* pada tanaman kedelai.

## 1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimana viabilitas beberapa formulasi biofungisida *T. harzianum*. dengan masa simpan 2 bulan dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia*. pada tanaman kedelai?
2. Bagaimana frekuensi aplikasi yang optimum dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia*. pada tanaman kedelai?

## 1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

### 1.3.1 Tujuan

1. Untuk mengetahui viabilitas beberapa formulasi biofungisida *T. harzianum*. dengan masa simpan 2 bulan dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia*. pada tanaman kedelai.
2. Untuk mengetahui frekuensi aplikasi yang optimum dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia*. pada tanaman kedelai.

### 1.3.2 Manfaat

1. Dapat mengetahui viabilitas beberapa formulasi biofungisida *T. harzianum*. dengan masa simpan 2 bulan dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia*. pada tanaman kedelai.
2. Dapat mengetahui frekuensi aplikasi yang optimum dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia*. pada tanaman kedelai.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kedelai

Kedelai merupakan tanaman pangan yang terpenting ketiga setelah padi dan jagung. Tanaman kedelai berdasarkan taksonominya dapat di klasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Rosales
Famili	: Leguminosae
Genus	: Glycine
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L) Merrill (Rukmana dan Yuniarsih, 1996)

Kedelai kaya akan protein nabati yang dibutuhkan untuk meningkatkan gizi masyarakat. Kebutuhan akan kedelai terus meningkat dari tahun ke tahun seiring dengan meningkatnya permintaan untuk bahan industri pangan seperti pembuatan tahu, tempe dan kecap. Kurun waktu lima tahun ke depan (tahun 2010-2014) kebutuhan kedelai setiap tahunnya  $\pm$  2.300.000 ton biji kering, akan tetapi kemampuan produksi dalam negeri saat ini baru mampu memenuhi sebanyak 851.286 ton (ATAP (angka tetap) Tahun 2011, BPS) atau 37,01 % dari kebutuhan, sedangkan berdasarkan angka ramalan (ARAM II) tahun 2012 baru mencapai 783.158 ton atau 34,05 % (Dirjen Tanaman Pangan, 2013). Salah satu penyebab penurunan produksi kedelai adalah disebabkan oleh serangan *Rhizoctonia solani* sehingga tanaman kedelai mengalami rebah kecambah (*Dumping off*), busuk daun, busuk batang dan polong.

### 2.2 Penyakit *Rhizoctonia* Pada Kedelai

Penyakit *rhizoctonia* pada kedelai merupakan salah satu penyakit utama pada kedelai. Penyebab penyakit adalah patogen jamur *Rhizoctonia solani* Kuhn. merupakan patogen tular tanah dan mampu hidup dalam tanah dalam waktu yang

lama serta memiliki kisaran inang yang luas. Di Indonesia penyakit ini telah tersebar luas di hampir semua sentra produksi kedelai, sehingga dapat menyebabkan kerugian yang tinggi hingga mencapai 90 % (Sujdono, 2003).

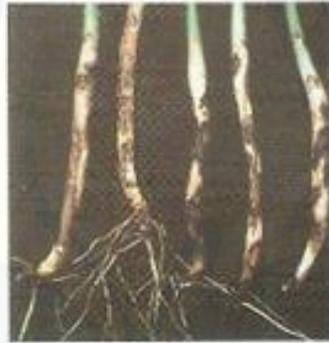
Klasifikasi *R. solani* menurut Herdiana (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Devisi	: Amastigomycota
Subdivisi	: Deuteromycota
Class	: Deuteromycetes
Subclass	: Hypomycetidae
Ordo	: Agonomycetales
Family	: Agonomycetaceae
Genus	: Rhizoctonia
Spesies	: <i>Rhizoctonia solani</i> .

Jamur *R. solani* dapat menyerang tanaman kedelai pada berbagai fase pertumbuhan, mulai dari bibit hingga tanaman dewasa di lapangan (hawar daun dan busuk polong). Cendawan *R. solani* banyak ditemukan pada musim hujan, terutama pada tanah yang lembab. Cendawan ini dapat membentuk struktur dorman, yaitu sklerotia pada permukaan tanah atau pangkal batang. Sklerotia mempunyai kulit tebal dan keras sehingga tahan terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan, terutama kekeringan dan suhu tinggi. Masa dorman akan berakhir jika kondisi lingkungan cocok untuk perkembangannya. Sklerotia yang segera berkecambah menjadi hifa yang siap meng-infeksi bagian tanaman pada daerah rizosfer. Sklerotia dan miselium di dalam tanah dan jaringan tanaman akan berkecambah untuk menghasilkan benang vegetatif (hifa). Jamur tertarik pada perangsang tanaman secara kimia yang dilepaskan oleh sel aktif pertumbuhan tanaman atau sisa tanaman membusuk. Sebagai keuntungan proses tertariknya jamur, hifa jamur akan menempel pada tanaman dan melekat pada permukaan eksternal tanaman. Setelah menempel, jamur terus tumbuh pada permukaan luar tanaman dan akan menyebabkan penyakit pada tanaman dengan memproduksi struktur infeksi khusus yang dapat menembus sel tanaman dan

mengeluarkan nutrisi untuk pertumbuhan jamur dan perkembangan selanjutnya (Ceresini, 1999).

Gejala penyakit rhizoctonia pada bibit kedelai di cirikan dengan matinya tanaman sebelum atau setelah tanaman muncul diatas permukaan tanah (*damping-off*) (Semangun, 2008). Serangan pada daun menunjukkan gejala pada mulanya berupa bercak kebasah - basahan, berwarna kelabu, dan akhirnya bercak berwarna coklat muda atau hitam, kadang kadang tepi coklat kemerah merahan. Biasanya infeksi dimulai dari pangkal tangkai daun. Bercak tersebut dapat berkembang dengan cepat pada kondisi lembab. Pada daun dapat bermunculan benang benang seperti sarang laba laba sehingga daun terikat satu sama lain. Bagian daun yang sakit lama kelamaan rontok pada cuaca kering dan tanaman yang terinfeksi berat dapat menyebabkan tanaman gundul.



Gambar 2.1 Batang mengalami rebah kecambah (Arifin, 2014)

Serangan pada polong, akan menunjukkan gejala bercak berbentuk tidak beraturan dengan permukaan cekung, berukuran sekitar 2 mm, dan berwarna kecoklatan. Apabila miselium menyebar ke seluruh permukaan polong akibatnya polong menjadi busuk (Semangun, 1994).



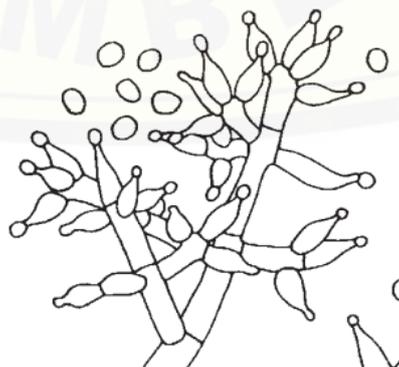
Gambar 2.2 Polong kedelai terinfeksi penyakit rhizoctonia (Arifin, 2014)

### 2.3 Karakteristik *Trichoderma harzianum*

*Trichoderma harzianum* merupakan salah satu jamur antagonis yang telah banyak diteliti terhadap beberapa jamur patogen tanaman. Klasifikasi *T. harzianum* menurut Semangun (2000) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi  
 Phylum : Ascomycota  
 Class : Ascomycetes  
 Subclass : Hypocreomycetidae  
 Ordo : Hypocreales  
 Family : Hypcreaceae  
 Genus : *Trichoderma*  
 Species : *T. harzianum*

Fungi *T. harzianum* mempunyai hifa bersepta, bercabang dan mempunyai dinding licin, tidak berwarna, diameter 1.5-12  $\mu\text{m}$ . Percabangan hifa membentuk sudut siku-siku pada cabang utama. Cabang utama konidiofor berdiameter 4-5  $\mu\text{m}$  dan menghasilkan banyak cabang-cabang sisi yang dapat tumbuh satu-satu tetapi sebagian besar berbentuk dalam kelompok yang agak longgar dan kemudian berkembang menjadi daerah-daerah seperti cincin. Ujung konidiofor terbentuk konidiokonidia berjumlah 1-3, berbentuk pendek, dengan kedua ujungnya meruncing dibandingkan dengan bagian tengah, berukuran 5-7 x 3-3.5  $\mu\text{m}$ , diujung konidiofor terdapat konidia berbentuk bulat, ber dinding rata dengan warna hijau suram, hijau keputihan, hijau terang atau agak kehijauan (Gandjar *et al* dalam Jamilah, 2011).



Gambar 2.3 Morfologi *T.harzianum* (Harman, 2002)

Menurut Harman (1998) dalam Gultom (2008), mekanisme utama pengendalian patogen tanaman yang bersifat tular tanah dengan menggunakan cendawan *T. harzianum* dapat terjadi melalui :

- a. Mikoparasit (memarasit miselium cendawan lain dengan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel untuk mengambil zat makanan dan tempat hidup dari dalam sel sehingga cendawan akan mati).
- b. Menghasilkan antibiotik seperti alametichin, paracelsin, trichotoxin yang dapat menghancurkan sel cendawan melalui pengrusakan terhadap permeabilitas membran sel, dan enzim chitinase, laminarinase yang dapat menyebabkan lisis dinding sel.

*T. harzianum*. adalah cendawan yang tersebar luas di tanah, dan mempunyai sifat mikoparasitik. Mikoparasitik adalah kemampuan untuk menjadi parasit cendawan lain. Sifat inilah yang dimanfaatkan sebagai biokontrol terhadap jenis-jenis cendawan fitopatogen. Beberapa cendawan fitopatogen penting yang dapat dikendalikan oleh *T. harzianum*. antara lain: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*, *Lentinus lepidus*, *Phytium spp.*, *Botrytis cinerea*, *Gloeosporium gloeosporoides*, *Rigidoporus lignosus* dan *Sclerotium roflsii* yang menyerang tanaman jagung, kedelai, kentang, tomat, dan kacang buncis, kubis, cucumber, kapas, kacang tanah, pohon buah- buahan, semak dan tanaman hias (Wahyudi, 1997).

## 2.4 Peran Agen Hayati

Menurut Soenandar dan Tjachjono (2012) selain sebagai organism pengurai, genus *Trichoderma* dapat berfungsi sebagai agen hayati dan stimulator pertumbuhan tanaman, biakan cendawan *T. harzianum*. berperan sebagai biofungisida yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa cendawan penyebab penyakit tanaman seperti *Rigidiforus lignosus*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoconia solani* dan *Sclerotium roflsii*, selain itu biakan *Trichoderma* dapat sebagai biodekomposer yang dapat mendekomposisi limbah organik menjadi kompos. Produk biofungisida biasanya diformulasikan dalam bentuk padat dan cair. Formulasi dilakukan dengan mencampurkan konidia jamur *T. harzianum*. ke

dalam media pembawa. *T. harzianum*. akan mengalami tidur (dormansi) jika 2 kondisi lingkungan kering dan memiliki pH netral (6-7), untuk itu media pembawa yang biasa digunakan kaolin yaitu tepung kapur pegunungan memiliki pH netral (7) dan dikondisikan keadaan kering. *T. harzianum*. dimanfaatkan pula untuk pupuk, kandungan pupuk organik tersebut tidak setara dengan standar pupuk organik SNI.

Potensi jamur *T. harzianum* sebagai jamur antagonis yang bersifat preventif terhadap serangan patogen tanaman telah menjadikan jamur tersebut semakin luas digunakan oleh petani dalam usaha pengendalian organism pengganggu tumbuhan (OPT). Disamping karakternya sebagai antagonis diketahui pula bahwa *T. harzianum* juga berfungsi sebagai decomposer dalam pembuatan pupuk organik. Aplikasi jamur *T. harzianum* pada pembibitan tanaman guna mengantisipasi serangan OPT sedini mungkin membuktikan bahwa tingkat kesadaran petani akan arti penting perlindungan preventif perlahan telah tumbuh. Inokulasi *T. harzianum* ke dalam tanah dapat menekan serangan penyakit layu yang menyerang di persemaian, hal ini disebabkan oleh adanya pengaruh toksin yang dihasilkan cendawan ini. Selain itu *T. harzianum* mempunyai kemampuan berkompetisi dengan patogen tanah terutama dalam mendapatkan nitrogen dan karbon (Cook dan Baker (1983) dalam Djatmiko dan Rohadi, 1997).

*T. harzianum* merupakan cendawan yang mempunyai aktivitas antagonistik yang tinggi terhadap cendawan patogen *R. solani*. *T. harzianum* dapat menghasilkan berbagai macam metabolik toksik seperti antibiotik atau enzim yang bersifat litik sehingga *T. harzianum* dapat bersifat antagonis dan mempunyai kemampuan kompetisi dengan patogen dalam memperebutkan nutrisi, oksigen dan ruang tumbuh. *T. harzianum* berperan sebagai biofertilizer, bioproteksi, dan biostimulan (Harman, 2004).

## 2.5 Formulasi Agen Hayati

Cara pemberian dalam bentuk substrat dirasa kurang praktis dan kurang efisien untuk aplikasi di lapangan, terutama untuk tujuan aplikasi dalam skala

luas. Oleh karena itu, perlu dikembangkan suatu teknik pengemasan agen hayati dalam bentuk formulasi (Djarmiko dan Rohadi, 1997).

Formulasi bertujuan untuk mempermudah aplikasi, transportasi, mudah dalam menentukan konsentrasi supaya penggunaannya efektif dan efisien, agar bahan aktif bertahan lama disimpan, dan memudahkan penyimpanan. Agensia hayati telah banyak diformulasikan dalam bentuk tepung, cair, butiran dan pelet. Formulasi berbentuk pelet memiliki struktur yang semi padat memungkinkan bahan aktif tidak mudah hilang oleh sinar matahari maupun air hujan dan aplikasinya bisa langsung ditabur tanpa harus dilarutkan. Purwantisari, (2008) menyatakan formulasi terdiri atas bahan aktif, bahan makanan, bahan pembawa, dan bahan pencampur. Bahan makanan dalam suatu formulasi beragam sesuai bahan aktif yang digunakan dalam formulasi. *T. harzianum* memerlukan bahan-bahan organik yang merupakan bahan makanan sebagai sumber karbon dan energi selama pertumbuhan dan perkembangannya. Menurut Purwantisari, (2008) komposisi bahan organik yang digunakan sebagai medium pertumbuhan jamur saprofit seperti *T. harzianum* minimal mengandung selulosa. Banyak bahan organik yang mengandung selulosa yang dapat digunakan sebagai medium pertumbuhan *T. harzianum* seperti pelepah sawit, sekam padi, ampas tebu, jerami padi dan alang-alang. Bahan pembawa dalam formulasi biofungisida dapat memanfaatkan mineral alam salah satunya kaolin. Bahan pencampur untuk formulasi biofungisida dapat menggunakan tepung  $\text{CaCO}_3$ .

Memilih bentuk atau formulasi pestisida juga sangat penting dalam penggunaan pestisida. Kalau dilihat dari bahaya pelayangan di udara, pestisida berbentuk butiran paling sedikit kemungkinannya untuk melayang. Pestisida yang berbentuk cairan, bahaya pelayangannya lebih kecil jika dibanding pestisida berbentuk tepung. Disamping itu pertimbangan lain dalam memilih formulasi pestisida adalah alat yang digunakan untuk menyebarkan pestisida tersebut (Wudianto, 2005).

Menurut Soesanto (2008) formulasi biofungisida mempunyai beberapa keunggulan diantaranya dapat memperpanjang daya hidup produk, memperbaiki kemampuan agensia di lingkungan, keefektifan pengendalian, kemudahan

penyiapan dan penerapan, dan efisiensi biaya. Agensia hayati telah banyak diformulasikan dalam bentuk tepung, cair, dan butiran. Formulasi biofungisida *T. harzianum* terdiri atas bahan aktif, bahan makanan, bahan pembawa, dan bahan pencampur (Soesanto, 2008). Formulasi cair mempunyai beberapa keunggulan, yaitu komposisi dan konsentrasi medium dapat diatur dengan mudah, dapat memberikan kondisi optimum bagi pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme, dan pemakaian medium dapat lebih efisien (Rachman, 1989). Papavizas *et al.* (1984) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa teknologi fermentasi cair merupakan salah satu cara yang dianggap berhasil dalam perbanyakan agen hayati *Trichoderma sp.*

Komposisi dan konsentrasi medium tumbuh akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup, sporulasi dan daya antagonisme (Sinaga, 1989). Oleh karena itu perlu dicari media tumbuh yang dapat digunakan dalam pembuatan formulasi biofungisida yang mempunyai kandungan nutrisi yang dibutuhkan oleh *Trichoderma sp.* Selain itu, ada dugaan bahwa semakin lama formulasi biofungisida disimpan, maka viabilitas *Trichoderma sp* akan menurun, sehingga untuk menguji viabilitas *Trichoderma sp* maka dilakukan penyimpanan.

## 2.6 Hipotesis

Aplikasi agen pengendali hayati formulasi biofungisida berbahan aktif *T. harzianum* pada media jagung, campuran tepung (produk biotrich), air kelapa efektif mengendalikan serangan penyakit *Rhizoctonia* dan yang paling efektif dalam mengendalikan penyakit *Rhizoctonia* tersebut adalah campuran tepung (produk biotrich) pada frekuensi aplikasi 4.



### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Qoui dan Pengujian viabilitas biofungisida *T. harzianum* dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama Penyakit Tanaman Universitas Jember pada bulan Maret 2015 sampai selesai.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat Penelitian**

Peralatan yang digunakan adalah autoclave, laminar airflow, jurigen 1000 ml, toples, aerator, polibag ukuran 30 cm x 30 cm, kertas label, pipet, mikroskop, *haemocytometer*, *hand counter*, penggaris, sprayer, gembor, alat tulis, kamera.

##### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi Tanaman kedelai, aquades, formulasi biofungisida, isolat *T. harzianum*, isolat *R. solani*, media PDA, beras jagung, kaolin (bahan pembawa), CMC lokal (bahan perekat), bahan pencampur (CaCo<sub>3</sub>), tepung tulang sapi, tepung tulang ikan, media tanam steril, alkohol 70%, air kelapa, glukosa.

#### **3.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini didesain sebagai penelitian di koi dan eksperimen di laboratorium. Rancangan penelitian yang akan digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, faktor pertama (A) adalah macam formulasi yang digunakan yang terdiri dari 4 taraf sebagai berikut:

A0: Tanpa *T. harzianum* (kontrol)

A1: Formulasi sederhana *T. harzianum* (media jagung)

A2: Formulasi biofungisida tepung (media campuran tepung kaolin, CMC, CaCo<sub>3</sub>, T.tulang sapi, T.tulang ikan)

A3: Formulasi biofungisida cair (media air kelapa)

Kemudian untuk faktor kedua (B) adalah frekuensi aplikasi (berapa kali pemberian macam formulasi) yang dilakukan pada tanaman yang terdiri dari 4 taraf. Susunan perlakuan sebagai berikut:

B0: 1 kali aplikasi (kontrol) (7 hari sebelum tanam)

B1: 2 kali aplikasi (7 hari sebelum tanam, pada saat tanam)

B2: 3 kali aplikasi (7 hari sebelum tanam, pada saat tanam, 7 hari setelah tanam)

B3: 4 kali aplikasi (7 hari sebelum tanam, pada saat tanam, 7 hari setelah tanam, 14 hari setelah tanam)

Kombinasi percobaan yang didapatkan yaitu 4x4 perlakuan sehingga diperoleh 16 kombinasi percobaan. Perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 48 plot perlakuan. Pada masing – masing plot terdiri dari 3 tanaman yang dijadikan sebagai sampel, sehingga terdapat 144 sampel tanaman kedelai. Berikut ini adalah denah rancangan percobaan di lapang:

A2B0	A0B3	A2B3	A1B2	A1B2	A2B3	A0B2	A1B0
A2B0	A3B2	A2B0	A1B1	A3B1	A2B2	A0B0	A2B2
A1B0	A1B3	A0B2	A0B0	A3B1	A0B1	A3B2	A0B0
A0B1	A3B0	A0B2	A0B0	A3B2	A3B1	A0B3	A1B3
A2B2	A0B1	A2B3	A3B0	A3B3	A2B1	A0B3	A1B2
A1B1	A2B1	A3B3	A1B3	A2B1	A3B3	A1B0	A3B0

Gambar 3.1 Denah Rancangan Percobaan di Qoui

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Peremajaan dan Perbanyakkan Patogen dan Agen Pengendali Hayati

Isolat agensia hayati jamur *T. harzianum* diperoleh dari koleksi Ir. Abdul Majid dan patogen *R. solani* (mengisolasi tanah sekitar perakaran yang terserang patogen). Agensia hayati jamur *T. harzianum* dan patogen *R. solani* diremajakan dengan cara memindahkan hifa untuk *T. harzianum* dan sklerotia untuk *R. solani* yang tumbuh dari biakan induk ke dalam cawan petri yang telah diisi medium

PDA yang telah padat. Kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 7 hari sehingga didapatkan isolat yang siap digunakan.

### 3.4.2 Pembuatan Biofungisida Sederhana Menggunakan Media Jagung (A1)

Pembuatan media jagung dilakukan dengan cara mencuci beras jagung kemudian mengukus sampai setengah matang. Setelah itu, menimbang media 100g dan memasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas. Pada tahap akhir media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 100-121 °C selama 30 menit. Setelah itu menginokulasikan agen hayati *T. harzianum* pada media jagung yang telah steril sebanyak 1 ml isolat *T. harzianum* yang telah dilarutkan dengan aquades, kemudian menginkubasikannya selama 7 hari. Formulasi biofungisida disimpan selama 2 bulan.

### 3.4.3 Pembuatan Biofungisida berbentuk Tepung Menggunakan Media Campuran Berbagai Tepung (A2)

Memasukkan ke dalam toples dari masing-masing bahan (sesuai perlakuan), glukosa 10%, tepung tulang sapi 7,5%, tepung tulang ikan 7,5%, kaolin 50%, cmc 15%, CaCo<sub>3</sub> 10%, *T. harzianum* 50 gr/kg. Mengaduk campuran agar homogen dan jamur *T. harzianum* tersebar merata dalam media. Selanjutnya Formulasi biofungisida (dimasukkan ke dalam toples dan disimpan pada suhu kamar di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Universitas Jember). Formulasi biofungisida disimpan selama 2 bulan. Penyimpanan dilakukan untuk melihat tampilan dan kemampuan produk setelah disimpan selama 2 bulan. Formulasi siap untuk digunakan untuk uji secara *in vitro*.

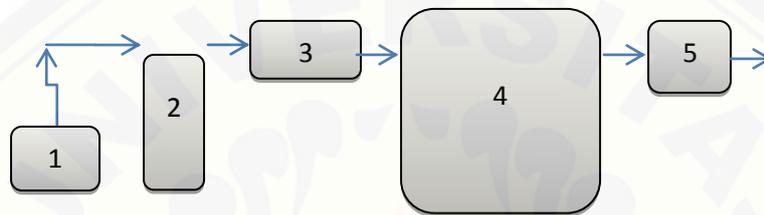
### 3.4.4 Pembuatan Biofungisida Cair Menggunakan Media Air Kelapa (A3)

Media air kelapa didapatkan dengan cara mengambil air kelapa dan disaring hingga bersih, menambahkan 20 gram gula pasir setelah itu memasukkan air kelapa ke dalam erlenmeyer 1000 ml untuk proses sterilisasi. Proses penyeterilasian dilakukan untuk mendapatkan air kelapa yang steril bebas dari mikroorganisme. Selanjutnya mengisi setiap botol dengan 500 ml air kelapa.

Tahapan selanjutnya adalah menginokulasikan *T. harzianum* pada media air kelapa yang sudah dimasukkan kedalam botol. Kemudian mengalirkan udara dengan menggunakan aerator kedalam botol kultur sehingga menghasilkan gelembung udara didalam botol kultur dengan keadaan botol tertutup rapat, inkubasi didalam botol selama 7-10 hari. Dari semua media disimpan dengan masa simpan 2 bulan.

Langkah Operasional Fermentor Sangat Sederhana (FSS)

Rangkaian alat FSS dengan bagan sebagai berikut :



Gambar 3.2 Rangkaian Fermentor Sangat Sederhana

Keterangan :

1. Aerator (penghasil gelembung udara)
2. Larutan  $\text{KMnO}_4$  (sebagai sterilisasi udara)
3. Glass woll atau penyaring udara
4. Media perbanyakkan *Trichoderma*
5. Aquades ( Kontrol sebagai deteksi dini kemungkinan kontaminasi)

Fermentasi dilakukan dengan cara membuat gelembung didalam media dengan menggunakan *aerator* dan difermentasikan (Anthoni, 2014)

#### 3.4.5 Persiapan Media Tanam

Media yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan campuran media tanah, kompos, dan pasir dengan perbandingan 3:2:1. Mencampurkan media hingga merata kemudian disterilisasi. Melakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf. kemudian memasukkan media yang sudah steril dalam polibag ukuran 25cm × 25cm dengan berat media kurang lebih 3kg.

#### 3.4.6 Inokulasi Patogen *R. solani*

Inokulasi patogen *R. solani* dilakukan dengan cara meletakkan sklerotia ke dalam media sebanyak 20 biji. Inokulasi patogen dilakukan 3 hari sebelum dilakukan penanaman benih kedelai.

#### 3.4.7 Penanaman Benih Kedelai

Varietas bibit yang digunakan pada penelitian ini yaitu varietas Wilis. Menanam benih kedelai pada media di polibag sebanyak 3 benih, dengan kedalaman penanaman 2 cm.

#### 3.4.8 Perawatan Bibit

Perawatan bibit dilakukan dengan cara penyiraman secara intensif setelah tanam agar media tidak kekeringan, penyiraman disesuaikan dengan kebutuhan media dan bibit. Kegiatan penyiangan juga dilakukan apabila pada media terdapat gulma pengganggu.

#### 3.4.9 Aplikasi Biofungisida Berbahan Aktif *T. harzianum*.

Aplikasi biofungisida *T. harzianum*. dilakukan 7 hari sebelum tanaman kedelai ditanam, 7 hari setelah tanam, 14 hari setelah tanam, dan 21 hari setelah tanam. Dosis aplikasi biofungisida pada masing-masing perlakuan yaitu 200ml/tanaman dengan cara mengkocor pada bagian tanah sekitar perakaran.

### 3.5 Pengumpulan Data

#### 1. Kerapatan Spora *T. harzianum*

Viabilitas *T. harzianum* dapat dihitung setelah dilakukan penghitungan jumlah spora yang diinokulasikan. Penghitungan kerapatan spora pada penelitian ini menggunakan standart agensia hayati  $10^8$  spora/ml. Jumlah spora dihitung setelah perbanyakan dan penyimpanan formulasi biofungisida, menghitung kerapatan spora dengan menggunakan alat *Haemocytometer Naubauer*.

$$S = \frac{\text{Jumlah spora yang dihitung} \times 10^3}{L. \text{ kotak hitung (mm}^2) \times k. \text{ bidang hitung (mm)} \times \text{Faktor pengenceran}}$$

Keterangan: S = Kerapatan spora  
X = jumlah spora yang dihitung  
L = Luas kotak hitung ( $0,04 \times 5 = 0,2 \text{ mm}^2$ )  
T = kedalaman bidang hitung (0,1 mm).  
d = Faktor pengenceran  
 $10^3$  = volume suspensi yang diambil ( $1 \text{ ml} = 10^3 \text{ mm}^3$ )

(BBPPTP, 2012).

## 2. Daya Viabilitas Spora *T. harzianum*

Waktu simpan isolat *T. harzianum* pada formulasi cair disimpan selama 2 bulan. Dilakukan uji viabilitas dan jumlah spora pada formulasi *T. harzianum* pada umur 2 bulan. Setelah dilakukan penyimpanan maka dilakukan uji in-vivo di greenhouse pada tanaman kedelai. Pengujian daya viabilitas dilakukan dengan cara mengambil 1 cc suspensi formulasi dari *T. harzianum* maksimal 24 jam setelah pembuatan suspensi. maksimal 24 jam setelah ditetaskan.

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah Spora yang Berkecambah}}{\text{Total Jumlah Spora}} \times 100\%$$

(BBPPTP, 2012)

## 3. Penghitungan Insidensi Penyakit

Penghitungan insidensi penyakit dilakukan hingga 35 HST dengan selang pengamatan 7 hari sekali. Indikator bibit mati yang terserang patogen adalah pangkal batang berwarna kecoklat-coklatan, kemudian membentuk kanker cekung berwarna coklat kemerahan

$$I = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

I : Insidensi penyakit

n :Jumlah Tanaman /Organ sakit

N : Jumlah semua tanaman / organ yang diamati ( Miharja *et al.*, 2012)

