**PENGUJIAN AKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* Linn.)
TERHADAP *Pythium* sp. PADA PERSEMAIAN PINUS (*Pinus merkusii* Jungh
et de Vriese) SECARA *IN-VITRO***

*Activity Testing of Piper betle leaves Extract Pythium sp. on Pine (Pinus merkusii
Jungh et de Vriese) Nursery through in-vitro method*

Siti Aisyah ¹⁾, I.G.K Tapa Darma ¹⁾ dan/and Illa Anggraeni ²⁾

1) Fakultas Kehutanan Institut Pertanian, Dramaga, Bogor

2) Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman, Gunung Batu, Bogor

Kampus Balitbang Kehutanan, Jl. Gunung Batu No. 5, Bogor 16610

Telp. (0251) 8631238, Fax. (0251) 7520005

Naskah masuk : 9 April 2007 ; Naskah keluar : 19 Maret 2008

ABSTRACT

Pythium sp. is a pathogen fungi that cause damping-off disease on pine seedling in the nursery. This disease may cause death of seedlings in relatively by short time. Therefore its control effort is needed. One control method that has been started to developed is by using extract of Piper betle leaves as natural pesticide. This study was aimed to identify inhibiting activity of P. betle leaves extract against Pythium sp. thruogh in-vitro method. The procedure included preparation of PDA, isolation of fungi, extraction of P. betle leaves, testing the extract by media poisoning technique and observation of parameters. The parameters were diameter growth of Pythium colony, percentage of inhibiting of extract and reproductive structure of Pythium sp. The study applied Completely Randomized Design with five concentrations as treatment i.e : 0% (control), 10%, 20%, 30% and 40% of Piper betle leaves extract. Each treatment had five replications. Data was analyzed using Duncan-test (SAS ver. 6.12). After four days of observation there were variation in the growth of Pythium sp. Colony. Treatment with 40% concentration was the most effective to control the growth of Pythium sp. Compared with other based on F-test. All treatments were significantly different at 1% level.

Key Words : Damping-off diseases, Pine seedlings , Piper betle leaves extract, Pythium sp.

ABSTRAK

*Pythium sp. merupakan fungi yang menyebabkan penyakit lodoh (damping-off) pada bibit pinus di persemaian. Penyakit ini dapat menyebabkan kematian bibit dalam waktu yang relatif singkat, oleh karena itu perlu dilakukan pengendaliannya. Salah satu pengendalian yang mulai dikembangkan adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami seperti daun sirih sebagai pestisida nabati. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap *Pythium* sp. secara *in-vitro*. Adapun prosedur penelitian meliputi penyiapan media *Potato Dextrose Agar* (PDA), persiapan isolat, pembuatan Ekstrak Daun Sirih (EDS), pembuatan konsentrasi EDS, pengujian EDS secara *in- vitro* dengan teknik peracunan media, pengamatan dengan parameter yang diukur adalah pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp., persentase penghambatan ekstrak daun sirih terhadap *Pythium* sp. dan struktur reproduksi *Pythium* sp. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima konsentrasi EDS yang berbeda. Kelima perlakuan tersebut adalah EDS 0 % (kontrol), EDS 10 %, EDS 20 %, EDS 30 % dan EDS 40 %, setiap perlakuan diulang*

sebanyak 5 kali. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji-F dilanjutkan dengan uji Duncan, dengan menggunakan program SAS (*Statistical Analysis System*) versi 6.12. Pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. selama empat hari pengamatan cukup bervariasi. Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak daun sirih 40 % paling mampu menekan pertumbuhan *Pythium* sp. jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Semua perlakuan berbeda nyata pada taraf 1%.

Kata kunci : Penyakit *damping-off*, bibit pinus, ekstrak daun sirih (EDS), *Pythium* sp.

I. PENDAHULUAN

Persemaian pinus merupakan titik awal keberhasilan penanaman, selanjutnya diperlukan tindakan-tindakan khusus selama tanaman masih di persemaian. Keberhasilan pembangunan hutan tanaman pinus ditunjang oleh tersedianya bibit tanaman di persemaian dalam jumlah yang cukup dan berkualitas. Salah satu faktor penyebab tidak terpenuhinya jumlah bibit pinus yang dibutuhkan adalah adanya serangan penyakit lodoh. Menurut Suharti (1973) kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit lodoh pada persemaian pinus di pulau Jawa dan Sumatera berkisar antara 10-80 %. Salah satu fungi yang menyebabkan penyakit lodoh di persemaian adalah *Pythium* sp. Seperti telah dilaporkan oleh Rahayu (1999), salah satu fungi yang telah berhasil diisolasi dari persemaian pinus yang terkena penyakit lodoh adalah *Pythium* sp.

Serangan *Pythium* sp. menyebabkan kerugian besar karena perkembangan penyakit berjalan cepat. Untuk mencegah perkembangan lebih lanjut dari penyakit tersebut perlu dilakukan pengendalian. Dalam usaha pengendalian penyakit, penggunaan fungisida kimia lebih populer daripada biokontrol, walaupun sering bertentangan dengan kelestarian lingkungan karena menimbulkan banyak dampak negatif baik bagi tumbuhan, hewan, maupun manusia. Akhir-akhir ini kesadaran masyarakat untuk menggunakan pestisida yang ramah lingkungan mulai meningkat. Hal ini mendorong berkembangnya penelitian tentang pemanfaatan agensi hayati maupun pestisida nabati untuk pengendalian penyakit tanaman. Penggunaan bahan-bahan yang berasal dari alam lebih diutamakan karena lebih mudah diuraikan (*biodegradable*) dan tidak terakumulasi pada produk tanaman. Penggunaan ekstrak tanaman lebih aman untuk kelestarian lingkungan hidup.

Dalam melakukan teknik pengendalian penyakit ada beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu bahan yang digunakan harus memiliki sifat antimikroba, biayanya murah, teknik pengendaliannya mudah dan aman bagi lingkungan. Salah satu bahan yang diduga memenuhi persyaratan tersebut adalah daun sirih. Berdasarkan penelitian Koesmiati (1966) daun sirih mengandung 82,8 % senyawa-senyawa fenol. Senyawa-senyawa fenol menurut Pelczar dan Chan (1988) dapat digunakan sebagai antimikroba. Ekstrak daun sirih sebagai antimikroba perlu diteliti untuk mengetahui pengaruhnya terhadap *Pythium* sp. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap *Pythium* sp. sebagai penyebab penyakit lodoh pada persemaian pinus (*Pinus merkusii* Jungh et de Vriese) secara *in-vitro*.

II. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Hutan, Kelompok Peneliti Perlindungan Hutan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman Bogor, pada bulan September sampai Oktober 2006.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih, media agar kentang atau PDA (*Potato Dextrose Agar*), alkohol 70 %, spiritus dan aquadest. Isolat *Pythium* sp. merupakan hasil isolasi dari semai pinus yang terserang lodoh di persemaian Cikole, Bandung dan merupakan koleksi Laboratorium Penyakit Hutan, Kelompok Peneliti Perlindungan Hutan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman Bogor.

Alat-alat yang digunakan yaitu *blender*, ruang inkubasi, *laminar air flow*, *autoclave*, oven, cawan petri, timbangan elektrik, *cork borer*, jarum ose, pinset, pembakar bunsen, *sprayer*, saringan, *plastic wrap*, aluminium foil, kertas label, tissue, penggaris, kalkulator, alat-alat tulis, kamera digital, mikroskop dan aplikasi program SAS versi 6.12. Semua alat-alat gelas sebelum digunakan disterilkan terlebih dahulu dalam *autoclave* dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit sedangkan alat-alat yang terbuat dari besi disterilisasi dengan cara pembakaran.

C. Metode Penelitian

Tahapan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

1. Penyiapan media PDA

Media yang digunakan untuk melakukan pengujian adalah PDA. Komposisi bahan untuk menghasilkan 1000 ml PDA terdiri dari kentang 200 gram, dekstrose 20 gram, agar-agar 17 gram dan *aquadest*. Cara pembuatannya : kupas kentang dan cuci bersih, kemudian dipotong menjadi kotak-kotak kecil sebesar 2 x 2 cm. Potongan kentang tersebut kemudian direbus dalam 1000 ml *aquadest* selama 1,5 - 2 jam atau sampai kentangnya empuk. Campuran disaring dengan kain kasa, sehingga diperoleh cairan ekstrak kentang yang bening. Kemudian ditambahkan 20 gram dekstrose dan 17 gram agar-agar ke dalam ekstrak tersebut, lalu dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Sejumlah *aquadest* ditambahkan hingga diperoleh volume akhir 1000 ml. Media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C, dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

2. Persiapan Isolat

Biakan murni *Pythium* sp. sediaan diperbanyak dengan cara menumbuhkan inokulum *Pythium* sp. pada media PDA. Inokulum diletakkan ditengah-tengah cawan petri yang berisi media PDA, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar untuk selanjutnya digunakan pada penelitian utama.

3. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih (EDS)

Pada penelitian pendahuluan dilakukan ekstraksi daun sirih. Ekstraksi dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: 500 gr daun sirih segar yang telah dicuci bersih dipotong kecil-kecil dan ditambah dengan 500 ml *aquadest*. Kemudian diekstraksi dengan menggunakan blender, setelah hancur kemudian disaring menggunakan kain kasa sehingga diperoleh ekstrak daun sirih dan dimasukkan dalam tabung erlenmeyer kemudian ditutup dengan aluminium foil.

4. Pembuatan Konsentrasi EDS

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian adalah sebanyak 5 taraf, yaitu konsentrasi EDS 0 % yang merupakan kontrol, konsentrasi EDS 10 %, konsentrasi EDS 20 %, konsentrasi EDS 30 % dan konsentrasi EDS 40 %. Untuk membuat konsentrasi EDS maka dibuat perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi EDS} = \frac{e}{e+a} \times 100\%$$

Keterangan : e = Volume EDS yang diambil dari ekstrak daun sirih hasil ekstraksi (ml)
a = Volume aquadest yang ditambahkan (ml)
e + a = Volume total antara EDS ditambah aquadest adalah 500 ml.

Untuk membuat konsentrasi EDS 10 % adalah sebagai berikut:

Konsentrasi EDS x % = $\frac{e}{e + a} \times 100 \%$
EDS 10 % = $\frac{e}{500} \times 100 \%$
0,1 = $\frac{e}{500}$
e = 50 ml
e + a = 500 ml
a = 450 ml

Jadi volume aquadest yang ditambahkan agar diperoleh EDS 10 % adalah 450 ml.

Tabel (Table) 1. Pembuatan Konsentrasi EDS (Making concentration of EDS)

Konsentrasi EDS (Concentration of EDS) (%)	Volume EDS (Volume of EDS) (ml)	Volume Aquadest (Volume of Aquadest) (ml)	Volume Total (Total volume) (ml)
10	50	450	500
20	100	400	500
30	150	350	500
40	200	300	500

5. Pengujian EDS secara *In vitro* dengan Teknik Peracunan Media

Pengujian dilakukan dengan cara membuat campuran PDA dengan ekstrak daun sirih dari masing-masing konsentrasi sebagai media biakan *Pythium* sp. Adapun komposisi campuran PDA dan ekstrak daun sirih pada setiap konsentrasi dapat dilihat di Tabel 2.

Tabel (Table) 2. Pembuatan campuran media PDA dan EDS (Making of mixed media PDA and EDS)

Konsentrasi EDS (Concentration of EDS) (%)	Volume EDS (Volume of EDS) (ml)	Volume PDA (Volume of PDA) (ml)	Volume Total (Total volume) (ml)
10	50	450	500
20	100	400	500
30	150	350	500
40	200	300	500

PDA dan EDS pada berbagai konsentrasi dicampurkan sampai rata dan dimasukkan dalam tabung erlenmeyer. Setiap campuran dengan berbagai konsentrasi dituangkan dalam cawan petri, setiap cawan petri berisi sekitar 20 ml media campuran. Sebagai kontrol ke dalam cawan petri hanya dimasukkan media PDA. Cawan petri yang telah berisi media campuran PDA dan EDS dengan berbagai konsentasi disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121 °C, dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah steril media dibiarkan beku dan dingin, kemudian ditumbuhkan inokulum *Pythium* sp. di tengah-tengah media. Setiap cawan diinokulasi satu inokulum *Pythium* sp. dengan diameter 5 mm, lalu diinkubasikan dalam suhu kamar.

6. Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan mengukur pertumbuhan diameter koloni sampai pertumbuhan koloni maksimal. Pengukuran dilakukan pada dua titik yang saling tegak lurus. Setiap hari pengukuran dilakukan pada titik yang sama. Kemudian dilakukan perhitungan persentase penghambatan (PP) masing-masing konsentrasi EDS terhadap pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. pada media kontrol setiap hari, dengan rumus sebagai berikut:

$$PP = \frac{D1-D2}{D1} \times 100\%$$

Keterangan:

- PP = Persentase Penghambatan (%)
- D1 = Diameter *Pythium* sp. pada media kontrol (mm)
- D2 = Diameter *Pythium* sp. pada media dengan perlakuan pemberian EDS pada berbagai konsentrasi (mm)

Gambar (Figure) 1. Cara pengukuran diameter koloni (*Measurement method of colony diameter*)

7. Analisis Statistik

Analisis statistik dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirih (EDS) terhadap pertumbuhan koloni *Pythium* sp. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari satu faktor yaitu faktor konsentrasi EDS dengan 5 perlakuan, setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali.

Masing-masing perlakuan pemberian ekstrak daun sirih pada berbagai konsentrasi adalah sebagai berikut:

- EDS 0 % = konsentrasi EDS 0 % (kontrol)
- EDS 10 % = konsentrasi EDS 10 %
- EDS 20 % = konsentrasi EDS 20 %
- EDS 30 % = konsentrasi EDS 30 %
- EDS 40 % = konsentrasi EDS 40 %

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan aplikasi program *Statistical Analysis System* (SAS) versi 6.12. Adapun prosedurnya dengan menggunakan prosedur *Analysis Of Varians* (ANOVA). Satuan percobaannya adalah biakan isolat *Pythium* sp. dalam satu cawan petri.

Hipotesis :

Pengaruh utama faktor konsentrasi EDS

H_0 : Konsentrasi EDS tidak berpengaruh/menghambat pertumbuhan *Pythium* sp.

H_1 : paling sedikit ada satu konsentrasi EDS yang berpengaruh/menghambat pertumbuhan *Pythium* sp.

Untuk mengetahui respon yang diberikan dari masing-masing perlakuan dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Pertumbuhan Diameter Koloni *Pythium* sp.

Berdasarkan hasil pengamatan, pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. pada setiap unit percobaan cukup bervariasi. Pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. pada perlakuan kontrol lebih besar dibandingkan dengan perlakuan pemberian ekstrak daun sirih.

Hasil pengamatan selama empat hari menunjukkan bahwa pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. pada perlakuan konsentrasi EDS 0 % (kontrol) lebih besar daripada perlakuan konsentrasi EDS 10 %, konsentrasi EDS 20 %, konsentrasi EDS 30 % dan konsentrasi EDS 40 % (Gambar 2).

Gambar (Figure) 2. Pertumbuhan koloni *Pythium* sp. (Colony growth of *Pythium* sp.)

Pada hari pertama, pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. pada perlakuan kontrol mencapai rata-rata diameter koloni 32,0 mm. Pertumbuhannya jauh lebih besar dibandingkan dengan pertumbuhan diameter koloni pada perlakuan konsentrasi EDS 10 %, konsentrasi EDS 20 %, konsentrasi EDS 30 % dan konsentrasi EDS 40 % masing-masing rata-rata diameter koloninya adalah 30,0 mm, 28,2 mm, 22,5 mm dan 16,3 mm. Pertumbuhan *Pythium* sp. pada hari kedua dengan perlakuan EDS 0 % jauh lebih besar daripada perlakuan konsentrasi yang lainnya. Rata-rata diameter koloni *Pythium* sp. pada konsentrasi EDS 0 %, konsentrasi EDS 10 %, konsentrasi EDS 20 %, konsentrasi EDS 30 % dan konsentrasi EDS 40 % masing-masing 57,4 mm, 56,1 mm, 54,2 mm, 44,8 mm dan 38,1 mm. Pada pengamatan hari ketiga, pertumbuhan rata-rata diameter koloni terbesar terjadi pada perlakuan kontrol

(EDS 0 %) yaitu sebesar 79,2 mm. Sedangkan perlakuan yang lain pertumbuhannya lebih rendah dari kontrol. Besarnya pertumbuhan diameter koloni dengan perlakuan pemberian konsentrasi EDS 10 %, konsentrasi EDS 20 %, konsentrasi EDS 30 % dan konsentrasi EDS 40 % masing-masing 77,6 mm, 75,3 mm, 64,7 mm dan 53,2 mm.

Pengamatan hari keempat, pertumbuhan diameter koloni pada perlakuan EDS 0 % (kontrol) telah optimal. Beberapa unit percobaan pada perlakuan kontrol, diameter koloninya telah mencapai 90,0 mm (Lampiran 1). Rata-rata diameter koloni pada perlakuan kontrol sebesar 89,3 mm. Untuk perlakuan konsentrasi EDS lainnya, rata-rata diameter koloni lebih kecil dibandingkan dengan kontrol. Besarnya rata-rata diameter koloni pada konsentrasi EDS 10 % dan konsentrasi EDS 20 % masing-masing 88,5 mm dan 87,6 mm. Sedangkan rata-rata diameter koloninya pada konsentrasi EDS 30 % dan konsentrasi EDS 40 % masing-masing 79,5 mm dan 65,1 mm, nilainya jauh lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi EDS 10 % dan konsentrasi EDS 20 %.

Berdasarkan hasil pengamatan, semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih yang diberikan maka semakin rendah pertumbuhan diameter koloni, artinya konsentrasi ekstrak daun sirih berpengaruh terhadap pertumbuhan *Pythium* sp.

Keterangan (Remarks): A = Perlakuan (treatment) EDS 0 % (Kontrol), B = Perlakuan EDS 10 %, C = Perlakuan EDS 20 %, D = Perlakuan 30 %, E = Perlakuan EDS 40 %.

Gambar (Figure) 3. Pertumbuhan koloni *Pythium* sp. pada hari keempat pada berbagai konsentrasi EDS (*Colony growth of Pythium* sp. on the fourth day for varied EDS concentration)

Hasil pengamatan secara visual terhadap pertumbuhan koloni *Pythium* sp. pada setiap konsentrasi EDS yang diberikan menunjukkan diameter koloni yang berbeda pula. Diameter koloni pada perlakuan EDS 0 % menunjukkan terbesar dibandingkan dengan yang lainnya. Pada perlakuan EDS 10 %, *Pythium* sp. memiliki diameter koloni yang hampir sama dengan kontrol. Namun jika dilihat dari ketebalan koloni, koloni pada perlakuan EDS 10 % lebih tipis dibandingkan dengan koloni pada perlakuan kontrol. Diameter koloni pada perlakuan konsentrasi EDS 20 % jauh lebih besar dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi EDS 30 %. Sedangkan perlakuan konsentrasi EDS 40 % memiliki diameter yang paling kecil dibandingkan dengan diameter koloni pada perlakuan lainnya. Semakin tinggi konsentrasi EDS yang diberikan maka pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. semakin terhambat.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian EDS terhadap pertumbuhan *Pythium* sp., dilakukan uji-F terhadap data rata-rata diameter koloni *Pythium* sp. Berdasarkan hasil sidik ragam (Lampiran 3 - 6), pemberian ekstrak daun sirih berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % terhadap pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. Semakin tinggi konsentrasi EDS, pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. semakin terhambat.

Hasil uji lanjut Duncan pengaruh dari setiap konsentrasi ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Pythium* sp. dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel (Table) 3. Hasil uji lanjut Duncan pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. pada berbagai konsentrasi EDS (*the Duncan test result of colony diameter growth of Pythium sp. on EDS variation concentration*)

Perlakuan ⁽¹⁾ (Treatment)	Diameter koloni (mm) pada hari ke (Colony diameters (mm) on the days)			
	1	2	3	4
EDS 0 % (kontrol)	32,00 ^a	57,40 ^a	79,20 ^a	89,25 ^a
EDS 10 %	30,00 ^b	56,10 ^a	77,60 ^a	88,50 ^a
EDS 20 %	28,16 ^c	54,20 ^b	75,25 ^b	87,60 ^a
EDS 30 %	22,50 ^d	44,75 ^c	64,65 ^c	79,50 ^b
EDS 40 %	16,25 ^e	38,05 ^d	53,20 ^d	65,10 ^c

Keterangan (Notes): (1) : Pemberian ekstrak daun sirih dari berbagai konsentrasi (*the application of P. betle's extract with varied concentration*)

(2) : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf nyata 1 % (*the same letter on the same collumns show that there is no significant difference among treatments based on Duncan's test at level 1%*)

Pada hari pertama, setiap perlakuan saling berbeda nyata. Perlakuan konsentrasi EDS 0 % (kontrol) berbeda nyata dengan konsentrasi EDS 10 %. Pemberian konsentrasi EDS 10 % berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi EDS 20 %, tetapi perlakuan konsentrasi EDS 20 % berbeda nyata dengan konsentrasi EDS 30 %. Pemberian konsentrasi EDS 30 % dan 40 % menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara keduanya. Pada hari kedua, perlakuan kontrol tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi EDS 10 %. Sedangkan untuk perlakuan lainnya saling berbeda nyata. Konsentrasi EDS 10 % berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi EDS 20 %. Begitupun konsentrasi EDS 20 % dengan konsentrasi EDS 30 %, keduanya saling berbeda nyata. Pemberian konsentrasi EDS 30 % pun berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi EDS 40 %. Pada pengamatan hari ketiga, perlakuan pemberian konsentrasi EDS 0 % tidak saling berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 10 %. Tetapi antara perlakuan konsentrasi EDS 10 % dengan konsentrasi EDS 20 % menunjukkan bahwa keduanya saling berbeda nyata. Perlakuan konsentrasi EDS 20 % dengan konsentrasi EDS 30 % keduanya pun saling berbeda nyata. Pemberian konsentrasi EDS 30 % saling berbeda nyata dengan perlakuan pemberian EDS 40 %. Pada hari keempat, perlakuan konsentrasi EDS 0 % dengan

konsentrasi EDS 10 % menunjukkan bahwa antara keduanya tidak saling berbeda nyata. Begitupula dengan perlakuan pemberian EDS 10 % tidak saling berbeda nyata dengan perlakuan EDS 20 %, tetapi untuk perlakuan konsentrasi EDS 20 % berbeda nyata dengan pemberian konsentrasi EDS 30 %. Pemberian konsentrasi EDS 30 % dan 40 %, menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara keduanya.

2. Persentase Penghambatan Ekstrak Daun Sirih terhadap *Pythium* sp.

Untuk mengetahui besarnya pengaruh pemberian ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Pythium* sp., dilakukan perhitungan persentase penghambatan. Nilai ini menunjukkan besarnya penghambatan setiap konsentrasi terhadap pertumbuhan diameter *Pythium* sp. Semakin tinggi konsentrasi EDS yang diberikan maka nilai penghambatan terhadap pertumbuhan koloni *Pythium* sp. semakin besar (Gambar 4 dan Lampiran 2).

Gambar (Figure) 4. Persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp. (Percentage of inhibiting EDS against *Pythium* sp.)

Gambar 4 menunjukkan bahwa persentase penghambatan tertinggi diberikan oleh perlakuan pemberian konsentrasi EDS 40 %, hal tersebut terjadi selama empat hari pengamatan. Selama empat hari pengamatan, kelima perlakuan menunjukkan bahwa persentase penghambatan semakin besar jika konsentrasi EDS semakin tinggi.

Berdasarkan hasil sidik ragam (Lampiran 7-10), pemberian EDS berpengaruh sangat nyata pada taraf 1 % terhadap persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp. Semakin tinggi konsentrasi EDS maka semakin besar persentase penghambatan. Pada hari ke-1, perlakuan pemberian konsentrasi EDS 40 % memiliki persentase penghambatan terbesar yaitu sebesar 49,2 %, konsentrasi EDS 30 % nilai penghambatannya hanya 29,7%, sedangkan perlakuan konsentrasi yang lain penghambatannya lebih kecil. Persentase penghambatan pada perlakuan konsentrasi EDS 20 % adalah 12,0 % dan konsentrasi EDS 10 % nilai penghambatannya 6,3 %.

Nilai penghambatan terbesar pada hari ke-2 ditunjukkan oleh perlakuan konsentrasi EDS 40 % yaitu sebesar 33,7 %, sedangkan perlakuan konsentrasi EDS 30 % sebesar 22,0 %. Persentase penghambatan untuk perlakuan konsentrasi EDS 20 % dan konsentrasi EDS 10 % masing-masing adalah 5,6 % dan 2,3 %. Pada hari ke-3 pengamatan, nilai penghambatan terbesar masih ditunjukkan oleh pemberian konsentrasi EDS 40 % yaitu sebesar 32,8 %. Nilai penghambatan perlakuan konsentrasi EDS 30 %, konsentrasi EDS 20 % dan konsentrasi EDS 10 % masing-masing adalah

18,4 %, 5,0 % dan 2,0 %. Hal yang sama pun terjadi pada pengamatan hari ke-4, pemberian konsentrasi EDS 40 % dapat menghambat pertumbuhan *Pythium* sp. lebih besar jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lain yaitu sebesar 27,1 %. Perlakuan konsentrasi EDS 30 % memiliki nilai penghambatan sebesar 10,9 %. Pada perlakuan konsentrasi yang lebih rendah, persentase penghambatan jauh lebih kecil. Perlakuan konsentrasi EDS 20 % dan konsentrasi EDS 10 % masing-masing nilai penghambatannya adalah 1,8 % dan 0,8 %.

Hasil uji lanjut Duncan konsentrasi EDS terhadap pertumbuhan *Pythium* sp. dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel (Table) 4. Hasil uji lanjut Duncan persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp. (*The Duncan test result of inhibiting percentage EDS against Pythium sp.*)

Perlakuan ⁽¹⁾ (Treatment)	Persentase penghambatan (%) ⁽²⁾ pada hari ke- (Percentage of inhibiting on the days)			
	1	2	3	4
EDS 0 % (kontrol)	0,00 ^e	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^c
EDS 10 %	6,15 ^d	2,24 ^d	1,99 ^d	0,84 ^c
EDS 20 %	11,84 ^c	5,52 ^c	4,96 ^c	1,85 ^c
EDS 30 %	29,54 ^b	21,99 ^b	18,36 ^b	10,89 ^b
EDS 40 %	49,20 ^a	33,66 ^a	32,83 ^a	27,06 ^a

Keterangan: (1) : pemberian ekstrak daun sirih dari berbagai konsentrasi (*the application of P. betle's extract with varied concentration*)

(Remarks) (2) : Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan tidak berbeda nyata berdasarkan uji lanjut Duncan pada taraf nyata 1 % (*the same letter on the same columns show that there is no significant difference among treatments based on Duncan's test at level 1%*)

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan, pada hari pertama semua perlakuan saling berbeda nyata. Pada hari kedua dan ketiga antara perlakuan konsentrasi EDS 0 % dan konsentrasi EDS 10 % tidak saling berbeda nyata, sedangkan perlakuan yang lainnya saling berbeda nyata. Pada hari keempat antara perlakuan konsentrasi EDS 0 %, konsentrasi EDS 10 % dan konsentrasi EDS 20 % tidak saling berbeda nyata. Sedangkan antara perlakuan konsentrasi EDS 30 % dan konsentrasi 40 % saling berbeda nyata.

Hasil pengamatan selama empat hari menunjukkan bahwa setiap perlakuan, nilai penghambatannya mengalami penurunan setiap hari. Persentase penghambatan ekstrak daun sirih berbanding terbalik dengan nilai persentase pertumbuhan. Jika persentase pertumbuhan optimal diasumsikan 100 %, maka persentase pertumbuhan perlakuan adalah 100 % dikurangi dengan persentase penghambatan. Hubungan antara persentase penghambatan dengan persentase pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi EDS, semakin rendah persentase pertumbuhan, tetapi persentase penghambatan semakin meningkat. Pada medium agar kentang (PDA), *Pythium* sp. membentuk koloni berwarna putih. Pertumbuhan miselium *Pythium* sp. dalam waktu empat hari sudah dapat memenuhi cawan petri (rata-rata diameter koloni 90 mm). Ciri fungi *Pythium* sp. adalah memiliki struktur reproduksi yang khas, yaitu sporanya berbentuk bulat dan agak lonjong (Gambar 6).

Gambar (Figure) 5. Hubungan persentase penghambatan EDS dan persentase pertumbuhan *Pythium sp.* (the relationship between inhibiting EDS and growth percentages of *Pythium sp.*)

Gambar (Figure) 6. Struktur reproduksi *Pythium sp.* (Reproduction structure of *Pythium sp.*)

B. PEMBAHASAN

1. Pertumbuhan Diameter Koloni *Pythium sp.*

Setiap unit percobaan koloni *Pythium sp.* yang diamati mengalami perbedaan pertumbuhan diameter. Dengan demikian, EDS berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni *Pythium sp.*

Berdasarkan hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa pertumbuhan diameter koloni tercepat terjadi pada perlakuan EDS 0 % (kontrol), sedangkan perlakuan yang lainnya lambat. Semakin tinggi konsentrasi EDS yang diberikan maka pertumbuhan diameter koloni *Pythium sp.* semakin lambat.

Hasil penelitian oleh Suwondo (1992) menunjukkan bahwa daun sirih merupakan salah satu jenis tumbuhan yang memiliki aktivitas antifungi relatif tinggi. Komponen penyusun terbesar dalam daun sirih adalah minyak atsiri yang mengandung senyawa fenol. Koesmiati (1966) menyatakan bahwa komponen penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari 82,8 % senyawa fenol dan 17,2 % senyawa bukan fenol. Menurut Pramono (1992) senyawa fenol yang terdapat dalam daun sirih kemungkinan bersifat antimikroba.

Menurut Wijayakusuma *et al.* (1992) kandungan kimia yang terdapat dalam minyak atsiri daun sirih adalah hidroksikavicol, 7,2 %-16,7 % kavicol, 2,7-6,2 % kavibetol, 0-9,6 % allylpyrokatekol, 2,2-5,6 % karvakol, 26,8-42,5 % eugenol, 4,2-15,8 % eugenol methyl ether, 1,2-2,5 % p-cymene, 2,4-4,8 % cineole, 3,0-9,8 % caryophyllene, 2,4-15,8 % cadinene, estragol, terpenena, seskuiterpena, fenil propana, tanin, 0,8-1,8 % diastase, gula dan pati. Dengan demikian terlihat bahwa komponen terbesar dari minyak atsiri daun sirih adalah komponen fenol. Menurut Sukamto (1993) *dalam* Gunapriadi (2002) senyawa eugenol ternyata toksik terhadap patogen tanah dan *Pythium* sp. termasuk salah satu patogen tanah.

Dengan peningkatan konsentrasi EDS yang diberikan maka pertumbuhan koloni *Pythium* sp. semakin terhambat. Hal tersebut menunjukkan pengaruh EDS terhadap pertumbuhan *Pythium* sp.. Semakin meningkat konsentrasi dari ekstrak daun sirih maka kandungan fenolnya semakin tinggi, sehingga pengaruh yang ditimbulkan terhadap *Pythium* sp. semakin kuat.

Pengaruh suatu jenis antimikroba terhadap fungi berbeda-beda. Menurut Pelzcar dan Chan (1988), suatu antimikroba dapat bersifat fungistatis atau fungitoksik. Fungistatis merupakan keadaan yang menggambarkan kerja suatu bahan (fungisida) yang menghambat pertumbuhan fungi. Hal tersebut mungkin terjadi karena konsentrasi antimikroba yang diberikan terlalu rendah. Sedangkan fungitoksik merupakan keadaan yang menggambarkan kerja suatu bahan (fungisida) yang menghentikan pertumbuhan fungi. Fungistatik dapat diubah menjadi fungitoksik dengan cara menaikkan konsentrasi suatu antimikroba sampai titik kritis, dimana fungi tersebut dapat dibunuh oleh fungisida tersebut. Begitupun sebaliknya, untuk menurunkan pengaruh fungisida dari taraf fungitoksik menjadi fungistatik diperoleh dengan cara menurunkan konsentrasi fungisida yang diberikan. Kondisi serupa terjadi pada pemberian EDS terhadap *Pythium* sp., semakin tinggi konsentrasi EDS yang diberikan maka pertumbuhan *Pythium* sp. akan semakin lambat.

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan pengaruh EDS terhadap pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. terhadap ekstrak daun sirih (Tabel 4) pada hari keempat, diketahui bahwa perlakuan pemberian EDS 10 % dan EDS 20 % tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Jika konsentrasi EDS dinaikkan menjadi 30 % dan 40 %, maka kedua perlakuan tersebut berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan *Pythium* sp.

Jika konsentrasi ekstrak daun sirih semakin tinggi maka ekstrak tersebut dapat bersifat fungitoksik, sedangkan jika konsentrasi EDS diturunkan hanya akan bersifat fungistatik. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih maka kandungan fenolnya semakin banyak. Tetapi jika konsentrasi ekstrak daun sirih terlalu rendah, maka ekstrak tersebut tidak akan memberikan pengaruh apapun terhadap fungi.

Senyawa fenol dapat menyebabkan lisis pada sel mikroba begitu pun dengan fenol dari ekstrak daun sirih. Menurut Prindle dan Wright (1971) jika sel mikroba tersebut rusak maka racun dari luar sel dapat masuk dan mengakibatkan berkurangnya metabolit esensial yang dibutuhkan oleh mikroba. Setelah berada di dalam sel, fenol akan merusak sistem kerja sel. Senyawa fenol dapat menyebabkan inaktivasi enzim esensial dalam sel. Senyawa fenolik sebagai antimikroba bersifat aktif terhadap sel vegetatif bakteri, virus, fungi dan sebaliknya inaktif terhadap spora bakteri.

Miselium fungi dikelilingi oleh suatu membran sitoplasmik yang bersifat semipermeabel. Membran ini menurut Pelzcar dan Chan (1988) berperan dalam mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Dengan perlakuan pemberian EDS

yang mengandung fenol dalam minyak atsirinya, maka fenol dapat menurunkan permeabilitas dari membran tersebut. Jika membran ini rusak maka dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau bahkan matinya sel.

2. Persentase Penghambatan Ekstrak Daun Sirih terhadap *Pythium* sp.

Persentase penghambatan menunjukkan besarnya pengaruh suatu antimikroba terhadap mikroba. Berdasarkan hasil analisis data dengan uji F, semua perlakuan pemberian EDS berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % terhadap *Pythium* sp. Selama empat hari pengamatan, perlakuan yang memberikan persentase penghambatan terbesar adalah perlakuan dengan konsentrasi EDS 40 %. Persentase penghambatan terbesar terjadi pada hari pertama yang diberikan oleh perlakuan dengan konsentrasi EDS 40 % yaitu sebesar 49,2 %. Hasil analisis menunjukkan semakin tinggi konsentrasi EDS yang diberikan maka semakin besar pula persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp.

Komponen yang bertanggung jawab sebagai antimikroba dalam ekstrak daun sirih adalah fenol. Senyawa fenol dapat memutuskan ikatan silang peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel. Setelah senyawa fenol menerobos dinding sel maka akan terjadi kebocoran nutrisi dari dalam sel. Karena fenol dapat merusak ikatan hidrofobik komponen penyusun membran sel seperti protein dan fosfolipida serta larutnya komponen lain yang berikatan secara hidrofobik, keadaan tersebut berakibat menurunnya permeabilitas sel. Kerusakan pada membran sel berakibat terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam proses metabolisme (Ingram, 1981). Mekanisme yang sama diduga terjadi juga pada *Pythium* sp. yang diberi perlakuan EDS, sehingga pertumbuhan *Pythium* sp. menjadi terhambat.

Dengan meningkatnya konsentrasi EDS yang diberikan maka persentase penghambatan terhadap *Pythium* sp. akan semakin besar. Hasil penelitian Suryana (2004) menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi EDS, persentase penghambatan terhadap pertumbuhan *Rhizoctonia solani* semakin besar. Berdasarkan hasil penelitian Saputra (2001) penghambatan ekstrak daging biji picung terhadap *Fusarium solani* mengalami penurunan selama pengamatan. Nilai penghambatan terbesar diperoleh pada hari pertama pengamatan sedangkan pada dua hari berikutnya, persentase penghambatan semakin menurun. Persentase penghambatan EDS terhadap pertumbuhan *Pythium* sp. mengalami penurunan selama empat hari pengamatan pada setiap perlakuan yang diberikan. Semakin lama hari pengamatan maka persentase penghambatannya semakin menurun. Karena semakin lama hari pengamatan, *Pythium* sp. semakin mampu melawan daya hambat dari EDS dan *Pythium* sp. sudah dapat beradaptasi dengan EDS. Salah satu manfaat dari persentase penghambatan adalah mengetahui konsentrasi minimal untuk menghambat mikroba. Berdasarkan hasil pengamatan selama empat hari dapat diketahui jika konsentrasi 10 % EDS sudah dapat menghambat pertumbuhan *Pythium* sp.

Selain konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, menurut Pelczar dan Chan (1988), ada beberapa faktor yang mempengaruhi penghambatan mikroorganisme oleh antimikroba, diantaranya adalah jumlah mikroorganisme, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik dan derajat keasaman (pH). Derajat keasaman semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi EDS. Semakin meningkat derajat keasaman media, aktivitas antimikroba akan semakin meningkat, karena senyawa fenol akan semakin aktif pada suasana yang asam. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian bahwa persentase penghambatan semakin tinggi dengan semakin meningkatnya konsentrasi EDS. Jika senyawa fenol semakin aktif maka daya hambatnya terhadap pertumbuhan *Pythium* sp. semakin besar.

IV. KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun sirih mampu menghambat pertumbuhan *Pythium* sp. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih, pertumbuhan *Pythium* sp. semakin terhambat, sehingga persentase penghambatan juga semakin besar. Nilai penghambatan terbesar diberikan oleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 40 % yaitu sebesar 49,2 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1988. *Plant Pathology*. New York: Academic Press.
- Alexopoulos, C.J, Mims CW. 1979. *Introductory Mycology*, Ed-3. John Willey and Sons. New York.
- Asmaliyah, I. Anggraeni, dan M. Suharti. 1997. Teknik Pengenalan Beberapa Hama dan Penyakit Tanaman Tusam (*Pinus merkusii*). Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Bogor.
- Augusta, A. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. ITB - Bandung.
- Balitra. 1996. Sirih (*Piper betle* Linn.). Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor.
- Boyce, J.S. 1961. *Forest Pathology*. McGraw-Hill Co. Inc. New York.
- Darwis, S.N. 1992. Potensi Sirih (*Piper betle* Linn.) sebagai Tanaman Obat. *Warta Tanaman Obat Indonesia*. 1(1): 9-11.
- Dharma, A.P. 1985. Tanaman Obat Tradisional Indonesia. Balai Pustaka. Jakarta.
- Dwidjoseputro, D. 1978. Pengantar Mikologi. Penerbit Alumni. Bandung.
- Fardiaz, S. 1992. Keamanan Pangan, Jilid I. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Gunapriadi, Y. 2002. Pengaruh Beberapa Jenis Pupuk Organik dan Fungisida Nabati terhadap Intensitas Serangan Penyakit Busuk Batang Panili (BPP) dan Pertumbuhan Tanaman Panili (*Vanilla planifolia*) Klon Gisting dan Cilawu [Skripsi]. Program Studi Agronomi, Sekolah Tinggi Pertanian Bale Bandung.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta.
- Ingram, L.O. 1981. *Mechanism of Lysis of E. coli by Ethanol and Other Chaotropic Agents*. *Jurnal of Bacteriology*. 146(1): 331-335.
- Kaban, M. S. 2005. 9,9 juta Hektar Hutan Sudah Dibangun Lagi. [http://www. Suarakarya-online.com/news.html?id=127808](http://www.Suarakarya-online.com/news.html?id=127808). [10 Desember 2006].
- Koesmiati, S. 1966. Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) sebagai Desinfektan [Skripsi]. Departemen Farmasi, Institut Teknologi Bandung.
- Mattjik, A. dan M. Sumertajaya. 2000. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab, Jilid I. IPB Press. Bogor.
- Pelczar, M. J and R.D. Reid. 1979. *Microbiology*. Mc Graw Hill Book Co. New York.
- Pelczar, MJ and E.C.S. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta.
- Pramono, S. 1992. Potensi Sirih sebagai Tanaman Obat Tradisional untuk Anti Bau Badan. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 1(1): 7-9.

- Prayogo, B dan Sutaryadi. 1992. Pemanfaatan Sirih untuk Pelayanan Kesehatan Primer. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*.1(1): 9.
- Prindle, R.S and E.S. Wright. 1971. *Phenolic Compound*. Lea and Febiger. Philaddelpia.
- Rahayu, S. 1999. Penyakit Tanaman Hutan di Indonesia: Gejala, Penyebab, dan Teknik Pengendaliannya. Kanisius. Yogyakarta.
- Rostiana, O. , S.M. Rosita, dan D. Sitepu. 1992. Keanekaragaman Genotipa Sirih (*Piper betle* Linn.), Asal dan Penyebarannya. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 1(1): 16-18.
- Saputra, T.K. 2001. Potensi Daging Biji Picung (*Pangium edule* Reinw), sebagai Fungisida Botani terhadap *Fusarium solani* secara *In Vitro* [Skripsi] Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Semangun, H. 1996. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada Univ Press. Yogyakarta.
- Suharti, M. 1973. Penyebab dan Pengaruh Lingkungan terhadap Timbulnya Penyakit *Damping-off* pada Persemaian *Pinus merkusii* Jungh et de Vriese. Lembaga Penelitian Hutan. Laporan No. 162. Bogor.
- Suratmo, G. 1974. Perlindungan Hutan. Institut Pertanian Bogor.
- Suryana, I. 2004. Pengujian Aktivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap *Rhizoctonia* sp. secara *In vitro* [Skripsi]. Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Suwondo, S., Sidik, R.S. Sumadilaga dan R.M. Sularko. 1992. Aktivitas Antibakteri Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Bakteri Gingivitis dan Bakteri Pembentuk Plak atau Karies Gigi (*Streptococcus mutans*). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*.1(1): 1-4.
- Tainter, F.H. and F.A. Baker . 1996. *Principles of Forest Pathology*. John Willey & Sons, Inc. Canada.

LAMPIRAN (ANNEX)

Lampiran (Annex) 1. Pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. (Diameter colony growth of *Pythium* sp.)

Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (Concentration of <i>P. betle</i> extraction leaves)	Diameter koloni (mm) pada hari ke (Colony diameter (mm) on the days)				
	Ulangan (Replications)	1	2	3	4
0 %	1	29,8	59,3	81,8	90,0
	2	32,0	56,8	79,8	90,0
	3	31,0	56,5	78,0	89,3
	4	34,0	58,3	78,3	88,8
	5	33,3	56,3	78,3	88,3
	rata-rata (average)	32,0	57,4	79,2	89,3
10 %	1	29,0	57,0	77,8	89,5
	2	30,0	56,0	78,5	90,0
	3	29,3	55,5	77,5	89,0
	4	30,8	55,8	78,3	87,0
	5	31,0	56,3	76,0	87,0
	rata-rata (average)	30,0	56,1	77,6	88,5
20 %	1	27,8	54,0	75,5	88,5
	2	28,5	54,0	74,3	89,0
	3	27,8	54,3	74,8	87,8
	4	28,3	53,3	74,8	85,8
	5	28,5	55,5	77,0	87,0
	rata-rata (average)	28,2	54,2	75,3	87,6
30 %	1	20,5	43,8	66,5	77,3
	2	24,5	47,8	63,8	76,5
	3	24,0	43,8	62,5	78,3
	4	21,5	44,3	64,5	82,5
	5	22,0	44,3	66,0	83,0
	rata-rata (average)	22,5	44,8	64,7	79,5
40 %	1	15,3	36,3	55,5	66,0
	2	15,0	37,3	52,0	64,0
	3	16,3	39,0	52,8	67,5
	4	16,0	38,5	51,5	65,0
	5	18,8	39,3	54,3	63,0
	rata-rata (average)	16,3	38,1	53,2	65,1

Lampiran (Annex) 2. Persentase penghambatan EDS terhadap Pythium sp. (Percentage of inhibiting EDS against Pythium sp.)

Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih (Concentration of P. betle extraction leaves)	Ulangan (Replications)	Persentase Penghambatan (%) pada hari ke (Percentage of inhibiting (%) on the days)			
		1	2	3	4
0 %	1	0,0	0,0	0,0	0,0
	2	0,0	0,0	0,0	0,0
	3	0,0	0,0	0,0	0,0
	4	0,0	0,0	0,0	0,0
	5	0,0	0,0	0,0	0,0
	rata-rata (average)	0,0	0,0	0,0	0,0
10 %	1	2,5	3,8	4,9	0,6
	2	6,3	1,3	1,6	0,0
	3	5,6	1,8	0,6	0,3
	4	9,6	4,3	0,0	2,0
	5	6,8	0,0	2,9	1,4
	rata-rata (average)	6,3	2,3	2,0	0,8
20 %	1	6,7	8,9	7,6	1,7
	2	10,9	4,8	6,9	1,1
	3	10,3	4,0	4,2	1,7
	4	16,9	8,6	4,5	3,4
	5	14,3	1,3	1,6	1,4
	rata-rata (average)	12,0	5,6	5,0	1,8
30 %	1	31,1	26,2	18,7	14,2
	2	23,4	15,9	20,1	15,0
	3	22,6	22,6	19,9	12,3
	4	36,8	24,0	17,6	7,0
	5	33,8	21,3	15,7	5,9
	rata-rata (average)	29,7	22,0	18,4	10,9
40 %	1	48,7	38,8	32,1	26,7
	2	53,1	34,4	34,8	28,9
	3	47,6	31,0	32,4	24,4
	4	52,9	33,9	34,2	26,8
	5	43,6	30,2	30,7	28,6
	rata-rata (average)	49,2	33,7	32,8	27,1

Lampiran (Annex) 3. Sidik ragam pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. hari ke-1 (*Analysis of variance colony diameter growth of Pythium sp. on the first day*)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	818,70	204,68	114,79**	0,0001
Sisa (Residual)	20	35,66	1,78		
Total (Total)	24	854,36			

Keterangan (Remarks): ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (*Highly Significant difference at the 1%*)

Lampiran (Annex) 4. Sidik ragam pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. hari ke-2 (*Analysis of variance colony diameter growth of Pythium sp. on second day*)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	1399,63	349,91	244,48**	0,0001
Sisa (Residual)	20	28,62	1,43		
Total (Total)	24	1428,25			

Keterangan (Remarks): ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (*Highly Significant difference at the 1%*)

Lampiran (Annex) 5. Sidik ragam pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. hari ke-3 (*Analysis of variance colony diameter growth of Pythium sp. on third day*)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	2404,12	601,03	299,58**	0,0001
Sisa (Residual)	20	40,12	2,01		
Total (Total)	24	2444,24			

Keterangan (Remarks): ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (*Highly Significant difference at the 1%*)

Lampiran(Annex) 6. Sidik ragam pertumbuhan diameter koloni *Pythium* sp. hari ke-4 (*Analysis of variance colony diameter growth of Pythium sp. on the fourth day*)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	2090,16	522,54	158,29**	0,0001
Sisa (Residual)	20	66,02	3,30		
Total (Total)	24	2156,18			

Keterangan (Remarks) : ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (*Highly Significant difference at the 1%*)

Lampiran (Annex) 7. Sidik ragam persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp. hari ke-1 (*Analysis of variance of EDS inhibiting percentage against Pythium sp. on the first day*)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	8000,04	2000,00	129,59**	0,0001
Sisa (Residual)	20	308,66	15,433		
Total (Total)	24	8308,70			

Keterangan (Remarks) : ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (*Highly Significant difference at the 1%*)

Lampiran(Annex) 8. Sidik ragam persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp. hari ke-2 (*Analysis of variance of EDS inhibiting percentage against Pythium sp. on second day*)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	4238,97	1059,74	132,69**	0,0001
Sisa (Residual)	20	159,73	7,99		
Total (Total)	24	4398,70			

Keterangan (Remarks) : ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (*Highly Significant difference at the 1%*).

Lampiran (Annex) 9. Sidik ragam persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp. hari ke-3
(Analysis of variance of EDS inhibiting percentage against *Pythium* sp. on the third day)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	3836,35	959,09	306,39**	0,0001
Sisa (Residual)	20	62,61	3,13		
Total (Total)	24	3898,96			

Keterangan (Remarks): ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (Highly Significant difference at the 1%)

Lampiran (Annex) 10. Sidik ragam persentase penghambatan EDS terhadap *Pythium* sp. hari ke-4
(Analysis of variance of EDS inhibiting percentage against *Pythium* sp. on the fourth day)

Sumber Keragaman (Source of variance)	DB (Degrees of freedom)	JK (Sum of square)	KT (Mean of square)	F _{Hitung} (F cal.)	Pr>f
Perlakuan (Treatment)	4	2622,89	655,72	149,04**	0,0001
Sisa (Residual)	20	87,99	4,40		
Total (Total)	24	2710,88			

Keterangan (Remarks): ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf nyata 1 % (Highly Significant difference at the 1%)