

I. METODE PENELITIAN

A. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2010 sampai dengan November 2011 di Laboratorium Hama Tumbuhan dan Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

B. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serangga hama *Helopeltis* spp., mentimun, media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*), isolat *Beauveria bassiana*, tepung jangkrik(*Gryllotalpa americana* Pal.) , tepung ulat hongkong (*Tenebrio molitor*), tepung kulit udang (*Penaeus monodon*), insektisida, aqua destilata steril, tissue dan alkohol 70%.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah toples, kuas, kain kassa, karet gelang, cawan Petri, jarum ose, bor gabus, *Drygalski*, mikropipet, dan tabung reaksi.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap pertama adalah uji pertumbuhan jamur *B. bassiana* pada media SDA yang mengandung bahan pembawa sedangkan tahap kedua adalah uji media berbahan pembawa terhadap mortalitas *Helopeltis* spp. Kedua tahap tersebut menggunakan Rancangan Faktorial dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari dua faktor yaitu faktor pertama jenis bahan pembawa yang terdiri dari 3 perlakuan untuk perlakuan tahap pertama (media SDA + tepung jangkrik, media SDA + tepung ulat hongkong, media SDA + tepung kulit udang) dan 5 perlakuan untuk tahap kedua (media SDA + tepung jangkrik, media SDA + tepung ulat hongkong, media SDA + tepung kulit udang, insektisida (berbahan aktif permetrin) dan air steril sebagai kontrol). Faktor kedua adalah konsentrasi jenis bahan pembawa yang digunakan terdiri dari 5 taraf yaitu 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%, masing-masing perlakuan terdiri atas 3 ulangan.

Tabel 1. Perlakuan uji pertumbuhan, kerapatan spora dan viabilitas jamur *B. bassiana*

Jenis bahan pembawa	Konsentrasi (%)	Ulangan			Kode Perlakuan
		1	2	3	
Tepung Jangkrik	0	A0B0 ₍₁₎	A0B0 ₍₂₎	A0B0 ₍₃₎	A0B0
	0,5	A0B1 ₍₁₎	A0B1 ₍₂₎	A0B1 ₍₃₎	A0B1
	1	A0B2 ₍₁₎	A0B2 ₍₂₎	A0B2 ₍₃₎	A0B2
	1,5	A0B3 ₍₁₎	A0B3 ₍₂₎	A0B3 ₍₃₎	A0B3
	2	A0B4 ₍₁₎	A0B4 ₍₂₎	A0B4 ₍₃₎	A0B4
Tepung ulat hongkong	0	A1B0 ₍₁₎	A1B0 ₍₂₎	A1B0 ₍₃₎	A1B0
	0,5	A1B1 ₍₁₎	A1B1 ₍₂₎	A1B1 ₍₃₎	A1B1
	1	A1B2 ₍₁₎	A1B2 ₍₂₎	A1B2 ₍₃₎	A1B2
	1,5	A1B3 ₍₁₎	A1B3 ₍₂₎	A1B3 ₍₃₎	A1B3
	2	A1B4 ₍₁₎	A1B4 ₍₂₎	A1B4 ₍₃₎	A1B4
Tepung kulit udang	0	A2B0 ₍₁₎	A2B0 ₍₂₎	A2B0 ₍₃₎	A2B0
	0,5	A2B1 ₍₁₎	A2B1 ₍₂₎	A2B1 ₍₃₎	A2B1
	1	A2B2 ₍₁₎	A2B2 ₍₂₎	A2B2 ₍₃₎	A2B2
	1,5	A2B3 ₍₁₎	A2B3 ₍₂₎	A2B3 ₍₃₎	A2B3
	2	A2B4 ₍₁₎	A2B4 ₍₂₎	A2B4 ₍₃₎	A2B4

Faktor A : A0 = Tepung jangkrik, A1 = Tepung ulat hongkong, A2 = Tepung kulit udang

B : B0 = 0%; B1 = 0,5%; B2 = 1%; B3 = 1,5%; B4=2%

Tabel 2. Perlakuan untuk uji Mortalitas *Helopeltis* spp.

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Ulangan			Kode Perlakuan
		1	2	3	
Tepung Jangkrik	0	A0B0 ₍₁₎	A0B0 ₍₂₎	A0B0 ₍₃₎	A0B0
	0,5	A0B1 ₍₁₎	A0B1 ₍₂₎	A0B1 ₍₃₎	A0B1
	1	A0B2 ₍₁₎	A0B2 ₍₂₎	A0B2 ₍₃₎	A0B2
	1,5	A0B3 ₍₁₎	A0B3 ₍₂₎	A0B3 ₍₃₎	A0B3
	2	A0B4 ₍₁₎	A0B4 ₍₂₎	A0B4 ₍₃₎	A0B4
Tepung ulat hongkong	0	A1B0 ₍₁₎	A1B0 ₍₂₎	A1B0 ₍₃₎	A1B0
	0,5	A1B1 ₍₁₎	A1B1 ₍₂₎	A1B1 ₍₃₎	A1B1
	1	A1B2 ₍₁₎	A1B2 ₍₂₎	A1B2 ₍₃₎	A1B2
	1,5	A1B3 ₍₁₎	A1B3 ₍₂₎	A1B3 ₍₃₎	A1B3
	2	A1B4 ₍₁₎	A1B4 ₍₂₎	A1B4 ₍₃₎	A1B4
Tepung kulit udang	0	A2B0 ₍₁₎	A2B0 ₍₂₎	A2B0 ₍₃₎	A2B0
	0,5	A2B1 ₍₁₎	A2B1 ₍₂₎	A2B1 ₍₃₎	A2B1
	1	A2B2 ₍₁₎	A2B2 ₍₂₎	A2B2 ₍₃₎	A2B2
	1,5	A2B3 ₍₁₎	A2B3 ₍₂₎	A2B3 ₍₃₎	A2B3
	2	A2B4 ₍₁₎	A2B4 ₍₂₎	A2B4 ₍₃₎	A2B4
Insektisida	0	A3B0 ₍₁₎	A3B0 ₍₂₎	A3B0 ₍₃₎	A3B0
	0,5	A3B1 ₍₁₎	A3B1 ₍₂₎	A3B1 ₍₃₎	A3B1
	1	A3B2 ₍₁₎	A3B2 ₍₂₎	A3B2 ₍₃₎	A3B2
	1,5	A3B3 ₍₁₎	A3B3 ₍₂₎	A3B3 ₍₃₎	A3B3
	2	A3B4 ₍₁₎	A3B4 ₍₂₎	A3B4 ₍₃₎	A3B4
Kontrol	0	A4B0 ₍₁₎	A4B0 ₍₂₎	A4B0 ₍₃₎	A4B0
	0,5	A4B1 ₍₁₎	A4B1 ₍₂₎	A4B1 ₍₃₎	A4B1
	1	A4B2 ₍₁₎	A4B2 ₍₂₎	A4B2 ₍₃₎	A4B2
	1,5	A4B3 ₍₁₎	A4B3 ₍₂₎	A4B3 ₍₃₎	A4B3
	2	A4B4 ₍₁₎	A4B4 ₍₂₎	A4B4 ₍₃₎	A4B4

Faktor A : A0 = Tepung jangkrik; A1 = Tepung ulat hongkong; A2 = Tepung kulit udang; A3 = Insektisida; A4 = Kontrol

B : B0 = 0%; B1 = 0,5%; B2 = 1%; B3 = 1,5%; B4=2%

D. Pelaksanaan Penelitian

Secara rinci langkah-langkah penelitian dapat diuraikan sebagai berikut :

1. Perbanyak *Helopeltis* spp.

Perbanyak serangga hama *Helopeltis* spp. dilakukan dengan menggunakan mentimun sebagai bahan pakan alternatif. Sebagai indukan diambil imago dan nimfa dari lapang yaitu dari Kebun POLINELA dan dari kebun kakao milik petani di daerah Gedongtataan, Lampung Tengah dan di daerah Sidorejo, Lampung Timur. Imago diletakkan di dalam satu stoples plastik berdiameter 16 cm dan tinggi 17 cm yang sudah berisi mentimun yang diletakkan di dinding. Stoples kemudian ditutup dengan kain sippon yang berukuran 30 x 30 cm dan diikat dengan karet gelang. Apabila imago telah memasuki periode bertelur maka mentimun yang sudah berisi telur dipindahkan pada stoples kosong. Setiap stoples dimasukkan 4 – 5 buah mentimun kemudian ditutup kain sippon, diikat dengan karet gelang dan diberi tanggal. Setelah telur menetas, nimfa dipindah ke stoples plastik lain yang sudah berisi mentimun baru dengan menggunakan kuas kecil. Mentimun diganti setiap hari sampai nimfa *Helopeltis* spp. dapat bertahan hingga menjadi imago dan bertelur. Demikian seterusnya hingga diperoleh jumlah imago yang diinginkan.

2. Penyiapan Isolat *B. bassiana*

Isolat *B. bassiana* yang digunakan dalam penelitian berasal dari Laboratorium Perkebunan Tegineneng, Lampung Tengah. Jamur diperbanyak dalam media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dan diinkubasi selama 3 – 5 hari. Jamur hasil

perbanyakan tersebut selanjutnya akan digunakan untuk pengujian lebih lanjut dalam penelitian ini.

3. Pembuatan Bahan Pembawa

Bahan pembawa yang digunakan adalah tepung jangkrik (*Gryllotalpa americana* Pal.); tepung ulat hongkong (*Tenebrio molitor*) dan tepung kulit udang (*Penaeus monodon*). Bahan pembawa tepung ulat hongkong, tepung jangkrik dan tepung kulit udang diperoleh dengan cara memanaskan masing – masing 100 ekor imago jangkrik dan ulat hongkong hidup serta 100 g kulit udang dengan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 3 jam. Selanjutnya jangkrik, ulat hongkong dan kulit udang tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga menjadi tepung ukuran lolos saringan 1 mm (Herlinda *et al.*, 2006).

4. Penyiapan Media Berisi Bahan Pembawa

Media pertumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media SDA (*Sabaoraud Dextrose Agar*). Media SDA tersebut kemudian ditambahkan bahan pembawa dengan konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%. Media 0% merupakan media tanpa bahan pembawa. Media 0,5; 1; 1,5; dan 2% dibuat dengan mencampurkan berturut-turut 0,5; 1; 1,5; dan 2% larutan bahan pembawa dari 30 g bahan pembawa/l air steril. Media ini kemudian digunakan untuk uji pertumbuhan isolat jamur *B. bassiana*.

5. Pengujian Kecepatan Pertumbuhan Isolat Jamur *B. bassiana* Pada Media Berisi Bahan Pembawa

Isolat jamur *B. bassiana* diambil dengan menggunakan bor gabus (ukuran 10 mm) dan ditumbuhkan pada bagian tengah cawan Petri yang berisi media yang mengandung bahan pembawa pada tiap-tiap konsentrasi. Setelah itu cawan Petri yang berisi isolat jamur *B. bassiana* tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari.

6. Pengujian Kerapatan dan Viabilitas (Perkecambahan) Spora

6.1 Perhitungan Kerapatan Spora

Biakan jamur *B. bassiana* pada pengujian sebelumnya dipotong dengan menggunakan bor gabus berukuran 10 mm. Kemudian satu potongan bor gabus dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril (ukuran 10 ml) yang berisi 10 ml air steril dan dikocok dengan *shaker* (kecepatan 470 osilasi/menit) hingga tercampur merata (± 10 menit). Selanjutnya, suspensi tersebut diencerkan hingga 10^{-5} . diambil satu bor gabus. Kerapatan spora dihitung dengan menggunakan *haemositometer* dengan cara mengambil sebanyak 1 ml suspensi kemudian diteteskan pada *haemositometer* tersebut dan dihitung kerapatan sporanya di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 10 x 40 kali.

Kerapatan spora dihitung dengan menggunakan rumus Gabriel dan Riyatno (1989)

sebagai berikut:

$$C = \frac{t \times d}{n \times 0,25} \times 10^6$$

Keterangan:

C : kerapatan spora per ml larutan

t : jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati

d : tingkat pengenceran

n : jumlah kotak sampel (5 kotak besar x 16 kotak kecil)

0,25 : faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada *haemositometer*

10^6 : konstanta

6.2 Perhitungan Viabilitas (Perkecambahan) Spora

Viabilitas spora dihitung dengan cara menginkubasi suspensi spora (dari suspensi penghitungan kerapatan spora) selama 24 jam. Setelah itu satu tetes suspensi tersebut ditetaskan pada kaca preparat dan ditutup dengan gelas penutup, lalu dihitung jumlah spora-spora yang berkecambah dan tidak berkecambah pada bidang pandang di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Perhitungan viabilitas spora dilakukan pada jam ke- 24 setelah inkubasi. Viabilitas spora dihitung dengan rumus Gabriel & Riyatno (1989) sebagai berikut:

$$V = \frac{g}{g + u} \times 100\%$$

Keterangan:

V : perkecambahan spora

g : jumlah spora yang berkecambah

u : jumlah spora yang tidak berkecambah

7. Pengujian Virulensi Isolat Jamur *B. bassiana* Terhadap Serangga Uji *Helopeltis* spp.

Virulensi spora pada masing-masing media berisi bahan pembawa diuji dengan cara menyemprotkan suspensi *B. bassiana* pada imago *Helopeltis* spp.. Suspensi ini diperoleh dengan cara mencampurkan 0,2 gram isolat jamur *B. bassiana*

dengan 100 ml aquades dan diaduk hingga spora tercampur dengan aquades. Suspensi tersebut disemprotkan pada 20 ekor serangga uji sebanyak 20 ml. Kemudian imago tersebut dipelihara dalam satu stoples yang ditutup kain kasa dan diberi pakan timun. Parameter virulensi yang diamati adalah mortalitas imago. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 7 hari, dan sampai imago mati. Mortalitas imago dihitung berdasarkan rumus Prijono (1989 *dalam* Herlinda 2006), sebagai berikut:

$$PI = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

PI : Persentase infeksi
a : jumlah serangga mati terinfeksi
b : jumlah serangga yang diuji

8. Pengamatan

8.1 Uji Pertumbuhan Isolat Jamur *B. bassiana*

Pengamatan dilakukan setiap minggu terhadap diameter jamur yang tumbuh dari tiap-tiap konsentrasi. Data diameter yang didapat merupakan rata-rata 3 kali pengukuran diameter jamur yang tumbuh.

8.2 Pengujian Kerapatan, Viabilitas (Perkecambahan) Spora Dan Virulensi

Data kerapatan spora, viabilitas spora dan tingkat mortalitas *Helopeltis* spp. dianalisis menggunakan ANOVA. Data-data tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 5%.