

### **III. BAHAN DAN METODE**

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

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian Unila. Hama *symphylid* diperoleh dari perkebunan nanas PT. Great Giant Pineapple Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2014 hingga bulan Januari 2015.

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

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media PDA (*potato dextrose agar*), menir jagung, isolat jamur *Metathizium anisopliae*, alkohol 70%, kertas tisu, dan daun pepaya.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat tulis, cawan petri, jarum ose, erlenmeyer, tabung reaksi, panci, sendok, bor gabus, bunsen, autoklaf, kompor gas, kertas tisu, mikroskop, timbangan elektrik, toples kecil, kertas label, dan lup.

Hewan uji dalam penelitian ini yaitu hama *symphylid* yang diperoleh dari perkebunan nanas PT. GGP Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 3 perlakuan dan 10 ulangan. Sebagai perlakuan yaitu :

K = Kontrol

MO = Aplikasi *M. anisopliae* dengan metode residu terhadap *symphylid* yang hidup pada tanah berbahan organik di laboratorium

MT = Aplikasi *M. anisopliae* dengan metode residu terhadap *symphylid* yang hidup pada tanah tanpa bahan organik di laboratorium.

Percobaan ini disusun dalam RAL (Rancangan Acak Lengkap). Setiap unit percobaan terdiri dari 10 g tanah sebagai media hidup *symphylid* yang diletakkan ke dalam toples kecil yang berdiameter 3 cm, tinggi 2 cm dan pada setiap toples terdapat 5 ekor *symphylid*.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan tiga tahap yaitu tahap pertama perbanyak jamur *M. anisopliae* meliputi pembuatan kultur murni dan perbanyak pada media jagung. Tahap kedua yaitu pencarian dan penangkapan *symphylid* dari kebun nanas dengan metode perangkap. *Symphylid* yang diperoleh dipelihara di laboratorium. Pada tahap ketiga yaitu pengujian jamur *M. anisopliae* pada *symphylid*, dan pengamatan.

#### 3.4.1 Perbanyak Jamur *M. Anisopliae*

- Pembuatan Media Potato Dextrose Agar (PDA)

Dalam pembuatan 1 liter media PDA diperlukan 1000 ml aquades, 200 g kentang, 20 g agar, dan 20 g dextrose. Kentang yang telah dikupas lalu dicuci dan

ditimbang kemudian dipotong dadu. Kentang direbus sampai air mendidih dan air rebusan kentang dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer bersamaan dengan gula, agar, dan dextrose. Kemudian diaduk hingga homogen. Dilakukan sterilisasi basah menggunakan autoklaf selama 30 menit . Sebelum media digunakan dapat diberi anti bakteri agar tidak terjadi kontaminasi dapat menggunakan larutan asam laktat atau streptomisin (tablet).

- Isolasi *M. anisopliae* pada media PDA (pemurnian jamur)

Biakan jamur ini diperoleh UPTD Balai Perlintan Tegineneng, Lampung.

Selanjutnya *M. anisopliae* diinokulasi pada media PDA. Disiapkan media PDA 1000 ml steril dalam erlenmeyer dan dituangkan ke dalam 20 cawan petri steril.

Setelah media PDA dingin segera diinokulasi dengan *M. anisopliae*. Selanjutnya diinkubasi selama 14 hari dan dilakukan pengamatan.

- Perbanyak *M. anisopliae* pada media menir jagung

Disiapkan menir jagung sebanyak 1 kilogram, kemudian dikukus sampai matang dan ditiriskan sampai dingin. Setelah dingin dimasukkan jagung sebanyak 100 gram ke dalam plastik tahan panas dan disterilisasikan ke dalam autoklaf selama 15 menit. Setelah menir jagung diangkat dari autoklaf dan dimasukkan ke dalam toples plastik berwarna bening hingga dingin lalu diinokulasi dengan *M. anisopliae* kemudian ditutup. Diinkubasi selama 15 hari sehingga jamur *M. anisopliae* tumbuh pada media menir jagung

### 3.4.2 Persiapan Hama *Symphylid*

*Symphylid* diambil pada lahan nanas secara manual. Pengambilan dilakukan dengan menggali tanah sedalam 10 cm di daerah perakaran tanaman nanas yang tumbuh di daerah lembab yang mendapat naungan. Penggalan tanah menggunakan sekop dan *symphylid* yang didapat dimasukkan ke dalam toples plastik dan diberi pakan media hidup *symphylid* yaitu daun pepaya dan kentang. *Symphylid* yang berada pada toples berukuran tinggi 20 cm dan diameter 6 cm berjumlah 500 ekor dan diletakkan di tempat yang lembab dan gelap.

### 3.4.3 Pengujian *M. anisopliae* pada Hama *Symphylid*

- Pembuatan Suspensi *M. anisopliae*

Setelah 2 minggu masa inkubasi jamur *M. anisopliae* pada menir jagung dilakukan pemanenan. Diambil menir jagung yang telah ditumbuhi jamur *M. anisopliae* menggunakan sendok dan ditimbang sebanyak 10 g. Lalu diukur aquades menggunakan gelas ukur sebanyak 100 ml. Setelah itu aquades dan menir jagung berjamur yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan dilakukan pengadukan. Konsentrasi kerapatan spora suspensi *M. anisopliae* yang digunakan yaitu  $10^7$ / ml. Aplikasi suspensi *M. anisopliae* dilakukan dengan cara penyemprotan pada tanah sebagai media hidup *symphylid* dan pencelupan daun pepaya (sebagai pakan *symphylid*) ke dalam suspensi *M. anisopliae*. Aplikasi *M. anisopliae* pada tanah yang berbahan organik maupun tanpa bahan organik sebagai media hidup *symphylid* dilakukan dengan cara sebagai berikut :

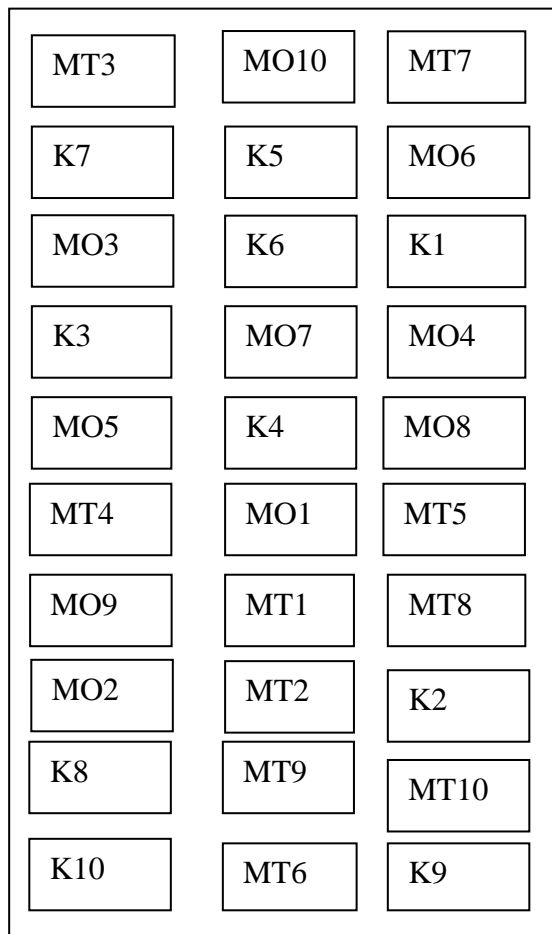
1. 500 g tanah diletakkan ke dalam nampan, lalu disemprotkan menggunakan 10 cc suspensi *M. anisopliae*
2. Tanah diaduk secara merata dan dikering anginkan.
3. Keesokan hari tanah yang telah diaplikasi suspensi *M. anisopliae* siap digunakan dalam penelitian.

Pada perlakuan kedua tanah yang digunakan adalah tanah humus yang mengandung bahan organik sedangkan pada perlakuan ketiga tanah yang digunakan adalah tanah berpasir.

- Persiapan Unit Percobaan

Setiap unit percobaan terdiri dari toples kecil berukuran berdiameter 3 cm, tinggi 2 cm. Toples berisi 10 g tanah dan 0,2 g daun pepaya yang telah dipotong kecil – kecil. Pada perlakuan pertama yaitu kontrol, potongan daun pepaya tanpa aplikasi *M. anisopliae*. Pada perlakuan kedua dan ketiga, dilakukan aplikasi *M. anisopliae* dengan metode residu pada pakan dan media hidup *symphyliid*.

Pemasangan tata letak percobaan disusun dengan denah sebagai berikut:



Gambar 1. Tata letak unit – unit percobaan

Keterangan : K = Kontrol  
 MO = Aplikasi *M. anisopliae* dengan metode residu terhadap *symphylid* yang hidup pada tanah berbahan organik di laboratorium.  
 MT = Aplikasi *M. anisopliae* dengan metode residu terhadap *symphylid* yang hidup pada tanah tanpa bahan organik di laboratorium.

Aplikasi *M. anisopliae* pada perlakuan kedua dan ketiga yaitu menggunakan metode residu yaitu *M. anisopliae* diaplikasikan pada tanah dan potongan daun pepaya sebagai pakan *symphylid* selanjutnya setiap 3 hari diberi pakan yang baru berupa potongan daun pepaya dan diberi perlakuan sesuai perlakuan masing – masing.

### 3.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap hari selama 20 (dua puluh) hari. Pengamatan meliputi jumlah *symphylid* yang mati dan indikasi kematian *symphylid*. Indikasi kematian dilakukan dengan cara mengamati *symphylid* yang mati di bawah mikroskop, apakah pada tubuh serangga uji tumbuh cendawan *M. anisopliae*. *Symphylid* yang mati dideteksi penyebabnya dengan menginkubasi *symphylid* diatas media PDA. Data yang didapat dimasukkan ke dalam tabel seperti di bawah ini:

Tabel 1. Pengamatan mortalitas hama *symphylid*

Perlakuan	$\Sigma$ Symphylid pada hari ke-									
	1	2	3	4	5	6	7	8	...	20
Kontrol										
MO										
MT										

Persentase kematian serangga dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Dengan:

M = mortalitas *symphylid* (%)

n = *symphylid* yang mati (ekor)

N = jumlah *symphylid* yang di uji (Rustama *et al.*, 2008)

### 3.6 Analisis Data

Seluruh data yang diperoleh diuji dengan analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan pengujian BNT dengan taraf nyata 5%. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *software SAS 9.1 for windows*.