

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Symphylid sebagai hama uji dalam penelitian ini diperoleh dari kebun nanas milik PT Great Giant Pineapple (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar Kabupaten Lampung Tengah. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-April 2015.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu media PDA (*potato dextrose agar*), menir jagung, isolat jamur *B. bassiana* yang diperoleh dari UPTD Balai Perlindungan Tegeneng, Lampung, aqua destilata steril, *tissue*, alkohol 70 %, daun pepaya, dan tanah berbahan organik. Hama uji dalam penelitian ini yaitu symphylid yang diperoleh dari PT GGP Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat tulis, kertas *tissue*, mikroskop, toples kecil, cawan petri, jarum ose, mikropipet, bor gabus, sendok, tabung reaksi, bunsen, *erlenmeyer*, *blender*, *handsprayer*, panci, kompor gas,

autoklaf, *laminar air flow* (LAF), lemari pendingin, timbangan elektrik, kertas label, dan kaca pembesar (lup).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 2 set percobaan, yaitu aplikasi *B. bassiana* terhadap symphyliid dengan metode residu pakan dan metode residu tanah pada media hidup symphyliid. Masing-masing percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dan 10 ulangan sehingga terdapat 30 satuan percobaan. Perlakuan untuk metode residu pakan adalah sebagai berikut:

KP : Tanpa aplikasi *B. bassiana*.

BP : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pakan terhadap symphyliid yang hidup pada tanah berbahan organik.

TP : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pakan terhadap symphyliid yang hidup pada tanah tanpa bahan organik.

Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pada media hidup symphyliid dilakukan dengan cara melakukan penyemprotan suspensi *B. bassiana* pada tanah tempat yang digunakan sebagai media hidup symphyliid. Sebagai perlakuan untuk metode residu pada media hidup symphyliid adalah sebagai berikut:

KM : Tanpa aplikasi *B. bassiana*.

BM : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pada tanah berbahan organik sebagai media hidup symphyliid.

TM : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pada tanah tanpa bahan organik sebagai media hidup symphyliid.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan 3 tahap. Pertama, persiapan symphyliid sebagai serangga uji percobaan. Tahap ini meliputi kegiatan pengambilan symphyliid secara manual dan *rearing* symphyliid. Kedua, perbanyak jamur *B. bassiana* yang meliputi pembuatan kultur murni dan perbanyak dalam media jagung. Tahap terakhir yaitu pengujian *B. bassiana* pada symphyliid dengan metode residu pakan, penyiapan unit-unit percobaan dan pengamatan.

3.4.1 Persiapan Symphyliid Percobaan

3.4.1.1 Pengambilan symphyliid

Symphyliid diperoleh dengan cara manual, yaitu menggali tanah kebun nanas pada lokasi kebun yang lembab dan pernah tergenang (perairan drainasenya yang kurang baik) sedalam 10-15 cm dengan menggunakan sekop kecil. Kegiatan ini dilakukan di perkebunan nanas milik PT GGP Lampung Tengah. Symphyliid yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam nampan *rearing*. Jumlah symphyliid yang diperlukan untuk persiapan penelitian ini berkisar 300 ekor.

3.4.1.2 Rearing symphyliid

Symphyliid dipelihara di dalam toples kecil yang telah disediakan bersama sebagian tanah yang terdapat di daerah perakaran tanaman nanas tersebut. Sebagai pakan hama uji penelitian ini berupa irisan daun pepaya. Kemudian di

simpan atau dipelihara pada tempat yang relatif gelap. Kelembaban tanah di jaga dengan menyemprotkan air dengan *sprayer*.

3.4.2 Perbanyak Jamur *B. bassiana*

3.4.2.1 Pembuatan media *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Untuk membuat media ini bahan yang diperlukan yaitu 1 l aquades, 200 g kentang, 20 g *dextrose*, dan 20 g agar. Kentang dikupas hingga bersih, dicuci dan dipotong berbentuk kotak seperti dadu dengan ukuran 12 mm. Setelah itu, kentang direbus ke dalam 1 liter air, selama kurang lebih 20 menit. Kentang dipisahkan dari larutannya, disaring supaya larutan kelihatan bersih. Air rebusan kentang tersebut dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer kemudian ditambahkan *dextrose* dan agar. Diaduk perlahan hingga homogen dan menjadi larutan PDA.

Setelah itu dilakukan sterilisasi, tabung erlenmeyer berisi larutan PDA ditutup dengan menggunakan *aluminium foil*, dikencangkan dengan karet gelang, dan dibungkus plastik tahan panas. Kemudian, semua bahan tersebut di autoklaf selama 2 jam. Media tersebut diangkat dan dibiarkan agak dingin. Selanjutnya, media yang telah jadi dituang ke masing-masing cawan petri dalam ruangan steril (*Laminar Air Flow*).

3.4.2.2 Pembuatan kultur murni *B. bassiana*

Isolat *B. bassiana* yang akan diuji dalam penelitian ini berasal dari dari UPTD Balai Perlindungan, Lampung. Kemudian dilakukan isolasi untuk

mempertahankan isolat murni. Isolasi dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Lampung dengan menggunakan media PDA kemudian dilakukan inkubasi selama \pm 2 minggu.

3.4.2.3 Perbanyak *B. bassiana* dengan menir jagung

Menir jagung yang telah disiapkan dicuci sampai bersih, kemudian disiram dengan air mendidih. Setelah itu menir jagung dikukus hingga matang selama 30 menit, kemudian diangkat dan dikering anginkan. Setelah menir jagung dingin, sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas. Menir jagung tersebut disterilkan dengan autoklaf pada suhu 120⁰ C, tekanan 1 atm selama 2 jam. Setelah di autoklaf, menir jagung diangkat dan dikering anginkan kembali. Selanjutnya, *B. bassiana* diinokulasi dan diinkubasi selama 2-3 minggu.

3.4.3 Pengujian *B. bassiana* pada symphylid

3.4.3.1 Pembuatan suspensi *B. bassiana*

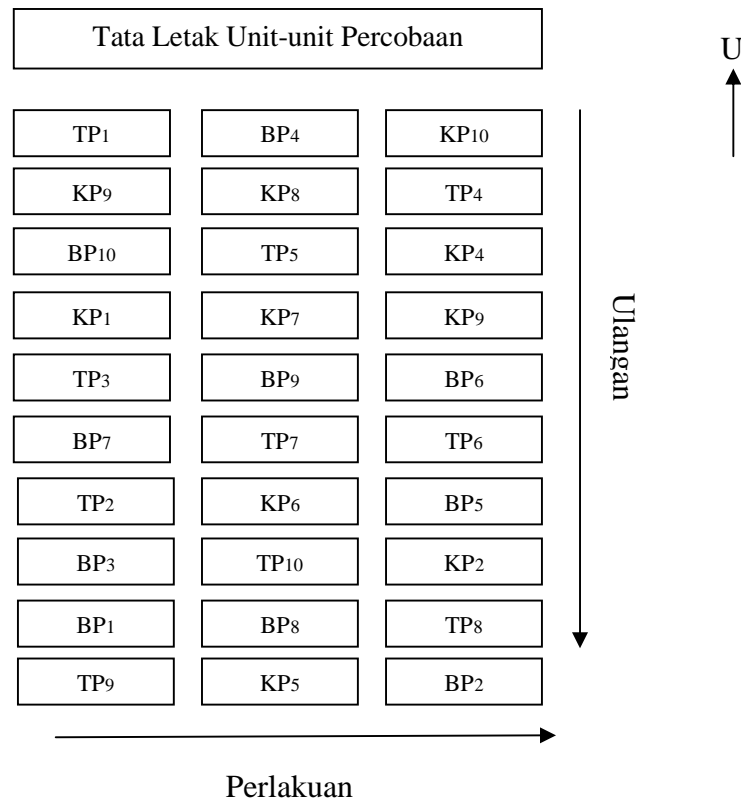
Setelah 2 minggu masa inkubasi jamur *B. bassiana* pada menir jagung dilakukan pemanenan. Kemudian diambil menir jagung yang telah ditumbuhi jamur *B. bassiana* (formulasi basah) dengan menggunakan sendok, di timbang sebanyak 10 g. Diukur aquades sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur. Setelah itu aquades 100 ml dan menir jagung yang ditumbuhi *B. bassiana* ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer diaduk hingga merata. Selanjutnya, daun pepaya yang telah dicuci bersih diiris dan dicelupkan ke dalam suspensi *B. bassiana* tersebut.

3.4.3.2 Penyiapan unit percobaan

Setiap unit percobaan terdiri dari toples kecil berukuran diameter 5 cm dengan tinggi 4 cm yang berisi 10 g tanah dan pakan berupa 0,3 g irisan daun pepaya. Setiap toples yang disediakan diinfestasikan 5 ekor symphyliid.

a. Aplikasi dengan metode residu pakan

Pada metode residu pakan diaplikasikan dengan 3 perlakuan yakni terdiri dari kontrol dengan irisan daun pepaya tanpa *B. bassiana* sebagai perlakuan pertama. Diaplikasikan pemberian irisan pepaya untuk pakan symphyliid dengan dicelupkan ke dalam suspensi *B. bassiana* pada tanah yang mengandung bahan organik maupun tanpa bahan organik (tanah berpasir) untuk perlakuan kedua dan ketiga. Setiap 3 hari sekali symphyliid diberi pakan baru. Berikut tata letak unit-unit percobaan:



Gambar 5. Tata letak percobaan pada metode residu pakan di laboratorium.

Keterangan:

KP : Tanpa aplikasi *B. bassiana*.

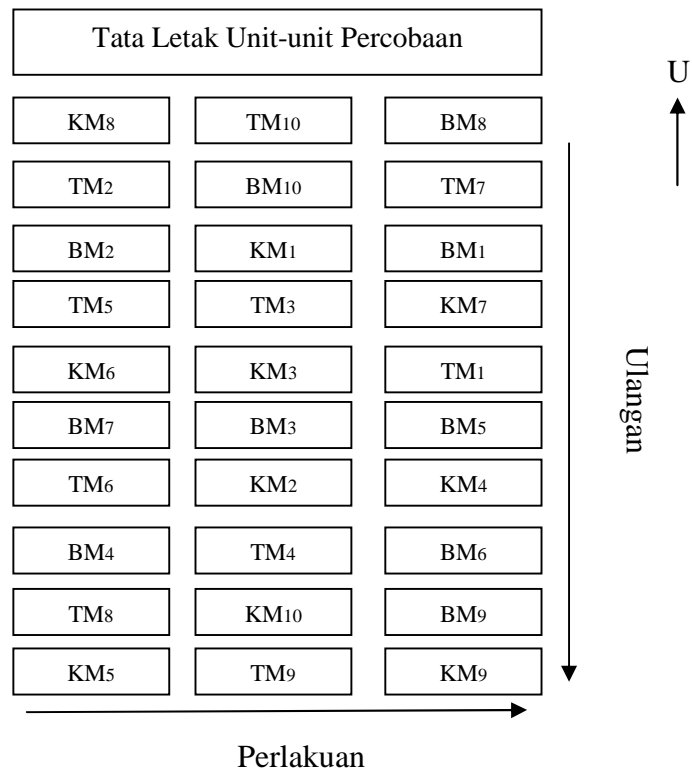
BP : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pakan terhadap symphyliid yang hidup pada tanah berbahan organik.

TP : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pakan terhadap symphyliid yang hidup pada tanah tanpa bahan organik.

b. Aplikasi dengan metode residu tanah media hidup symphyliid

Selanjutnya, metode residu tanah pada media hidup symphyliid diaplikasikan dengan 3 perlakuan yakni terdiri dari kontrol dengan tanpa penyemprotan *B. bassiana* sebagai perlakuan pertama. Pada perlakuan kedua dan ketiga, di

semprotkan 1cc (5 kali penyemprotan) suspensi *B. bassiana* pada 20 g tanah baik tanah yang berbahan organik maupun tanpa bahan organik. Lalu diaduk hingga merata, dikeringangikan, kemudian symphyliid diletakkan pada masing-masing perlakuan. Setiap perlakuan pada masing-masing metode percobaan diulang 10 kali dan disusun secara acak sebagai berikut:



Gambar 6. Tata letak percobaan pada metode residu pada hidup Symphyliid di laboratorium.

Keterangan:

KM : Tanpa aplikasi *B. bassiana*.

BM : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pada tanah berbahan organik sebagai media hidup symphyliid.

TM : Aplikasi *B. bassiana* dengan metode residu pada tanah tanpa bahan organik sebagai media hidup symphyliid.

3.5 Pengamatan

Patogenitas ditentukan dengan mengamati mortalitas (kematian) symphyliid.

Indikasi kematian serangga uji dilakukan dengan cara mengamati symphyliid di bawah mikroskop untuk mengetahui apakah pada tubuh symphyliid tumbuh jamur *B. bassiana*. Untuk mendeteksi penyebab kematian symphyliid akan diinkubasi di atas media PDA. Pengamatan mortalitas dilakukan setiap hari. Data hasil pengamatan akan disajikan kedalam tabel seperti dibawah ini:

Tabel 1. Data hasil pengamatan mortalitas symphyliid pada metode residu pakan

Perlakuan	Mortalitas symphyliid (ekor) pada pengamatan hari ke-									
	1	2	3	4	5	6	7	8	...	20
KP										
BP										
TP										

Tabel 2. Data hasil pengamatan mortalitas symphyliid pada metode residu pada hidup symphyliid

Perlakuan	Mortalitas symphyliid (ekor) pada pengamatan hari ke-									
	1	2	3	4	5	6	7	8	...	20
KM										
BM										
TM										

Menurut Rustama *et al.* (2008), persentase mortalitas (kematian) serangga dapat dihitung menggunakan rumus seperti berikut:

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

Dengan catatan M = mortalitas serangga (%), n = serangga yang mati (ekor), dan

N = jumlah serangga yang diuji (ekor).

3.6 Analisis Data

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