

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

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

Penelitian ini dilakukan di Lapangan Terpadu Fakultas Pertanian Universitas Lampung Bandar Lampung mulai dari Bulan Maret sampai Oktober 2014.

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

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media SDA, isolat jamur *M. anisopliae*, beras, aquades, tanah subur, pupuk kandang, tissue dan alkohol 70%.

Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat tulis, kurungan serangga (ukuran kurungan 30 x 30 x 80 cm yang diselimuti kain tile pada sisi samping dan plastik mika pada sisi atas), meteran, *ground cloth* (kain hampar), *pitfall*, timbangan elektrik, mikroskop stereo, cawan petri, kaca pembesar (lup), kompor gas, panci, polibag, bor gabus, pinset, nampan, erlenmeyer 500 ml, *autoclave*, plastik tahan panas berukuran 30 x 20 cm, *Laminar Air Flaw*, botol film, kertas label, *sprayer*, gembor, dan kamera Finepix S4300.

### 3.3 Uji Pendahuluan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui isolat jamur yang paling efektif untuk mengendalikan kutudaun dengan menggunakan beberapa isolat jamur yang berasal dari Gading Rejo, Universitas Lampung (Unila), dan UGM. Percobaan dilakukan di laboratorium, yaitu dengan memasukkan setangkai kedelai yang terserang kutudaun ke dalam tiga toples besar. Kemudian, suspensi *M. anisopliae* diaplikasikan ke serangga uji dengan cara menyemprotkan ke tangkai tanaman kedelai yang terserang kutu *A. glycines* tersebut. Pengamatan mortalitas kutudaun dilakukan setiap hari selama seminggu. Setelah diketahui hasil isolat yang paling efektif untuk mengendalikan kutudaun, maka hasil tersebut dijadikan sebagai dasar untuk percobaan frekuensi isolat di lapang.

### 3.4 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan di lapang dan disusun dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Petak percobaan disusun secara membujur yang terbagi menjadi 3 blok. Satu blok percobaan terdiri dari 6 petak percobaan. Pada penelitian ini digunakan 6 perlakuan (Tabel 1). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Setiap satuan percobaan terdapat 3 tanaman yang ditentukan secara acak sebagai tanaman sampel. Tanaman sampel ini diberi sungkup yang telah dibuat sebelumnya dengan tujuan agar hama sasaran yang terdapat pada tanaman sampel tidak berpindah ke tanaman nonsampel di sekitarnya.

Tabel 1. Deskripsi perlakuan saat aplikasi jamur *M. Anisopliae*.

No.	Perlakuan	Deskripsi
1.	F <sub>0</sub>	Tanpa penyemprotan <i>M. anisopliae</i> (kontrol)
2.	F <sub>1</sub>	Dengan 1 kali frekuensi penyemprotan <i>M. anisopliae</i> yang berumur 2 minggu setelah inkubasi pada 2 MST.
3.	F <sub>2</sub>	Dengan 2 kali frekuensi penyemprotan <i>M. anisopliae</i> yang berumur 3 minggu setelah inkubasi pada 2 MST dan 3 MST.
4.	F <sub>3</sub>	Dengan 3 kali frekuensi penyemprotan <i>M. anisopliae</i> yang berumur 4 minggu setelah inkubasi pada 2 MST, 3 MST, dan 4 MST.
5.	F <sub>4</sub>	Dengan 4 kali frekuensi penyemprotan <i>M. anisopliae</i> yang berumur 5 minggu setelah inkubasi pada 2 MST, 3 MST, 4 MST, dan 5 MST.
6.	F <sub>5</sub>	Dengan 5 kali frekuensi penyemprotan <i>M. anisopliae</i> yang berumur 6 minggu setelah inkubasi pada 2 MST, 3 MST, 4 MST, 5 MST, dan 6 MST.

### 3.5 Persiapan Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan Media *Sobouraud Dextrose Agar* (SDA)

*Sobouraud Dextrose Agar* merupakan media yang mengandung pepton dan kasein di dalamnya. Komposisi satu liter media terdiri atas 40 g Dextrose, 10 g Pepton, 5 g Kasein, 40 g agar dan 1 liter air destilata (aquades). Semua campuran dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer 1 liter kemudian ditutup dengan *aluminium foil* dan dikencangkan dengan karet gelang, lalu dibungkus dengan plastik tahan panas. Selanjutnya, larutan SDA disterilisasikan dalam *autoclave* pada suhu 120<sup>0</sup>C dengan tekanan 1 atm selama 120 menit. Setelah itu larutan SDA yang sudah steril diangkat dan didiamkan sebentar agar lebih dingin. Kemudian larutan SDA yang sudah dingin

dituang ke masing-masing cawan petri (*petridish*) dalam ruangan steril (*Laminar Air Flow*).

### **3.5.2 Penyiapan Isolat *Metarhizium anisopliae***

*Isolat M. anisopliae* yang diaplikasikan di lapang diperbanyak di Universitas Lampung. Selanjutnya, isolat tersebut dipertahankan dan diisolasi dalam Laboratorium Penyakit Jurusan Agroteknologi menggunakan media SDA.

### **3.5.3 Perbanyak *Metarhizium anisopliae* dalam Media Beras**

Jamur *M. anisopliae* diperbanyak dengan mencuci beras hingga bersih, kemudian beras tersebut dikukus hingga setengah matang dan didinginkan. Beras yang telah dingin ( $\pm 100$  g) dimasukkan ke dalam kantong plastik, kemudian kantong plastik yang berisi beras disterilkan dengan autoklaf dengan suhu  $120^{\circ}\text{C}$ , tekanan 1 atm, selama 120 menit. Jamur *M. anisopliae* diinokulasikan pada media beras tersebut yang sudah disterilisasikan, kemudian media beras tersebut diinkubasi selama 2 minggu. Setelah itu, biakan *M. anisopliae* yang telah siap pakai (media padat telah ditumbuhi jamur *M. anisopliae*) ditimbang sebanyak 100 gram dan diblender hingga halus.

### 3.5.4 Pembuatan Formula Kering *Metarhizium anisopliae*

Langkah pertama dalam pembuatan formulasi kering dimulai dengan mengeringkan media beras yang telah ditumbuhi *M. anisopliae* berumur 2 minggu. Pengeringan *M. anisopliae* dilakukan dengan pengeringan dingin yang dilakukan di dalam lemari pendingin pada suhu 5°C selama 12 hari. Langkah selanjutnya, *M. anisopliae* yang telah kering diblender hingga halus dan diayak untuk mendapatkan tepung biomassa spora. Bahan pembawa seperti zeolit, kaolin, dan tepung jagung dioven terlebih dahulu dan menggunakan oven pada suhu 80°C selama 2 jam. Setelah itu tepung biomassa spora dicampur dengan bahan pembawa di dalam satu kantong plastik. Komposisi formulasi kering jamur *M. anisopliae* dapat dilihat pada Tabel 2 (Purnomo *et al.*, 2012).

Tabel 2. Komposisi formulasi kering jamur *M. anisopliae*.

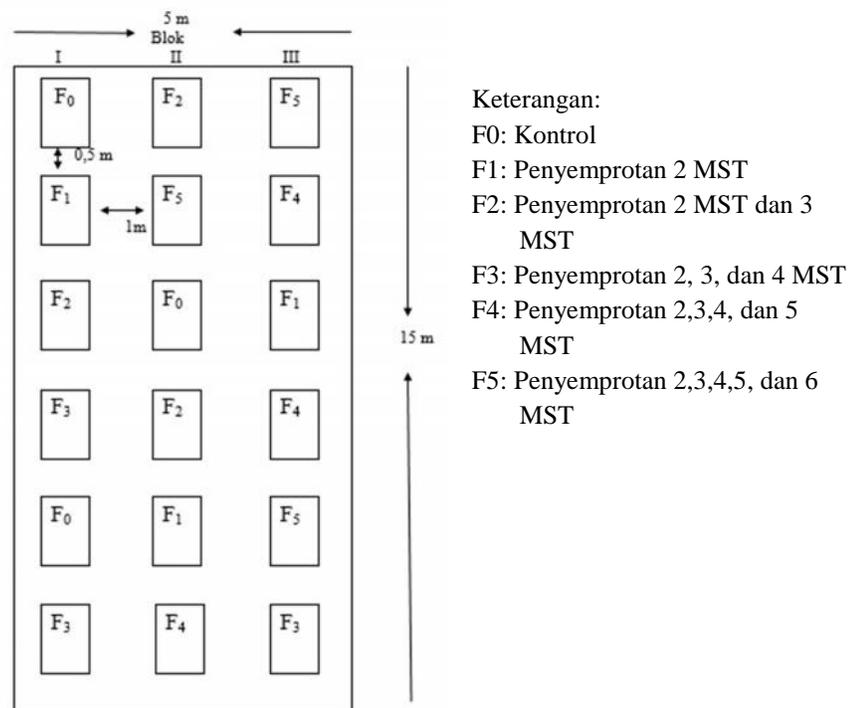
No	Bahan	Jumlah (gram)
1.	Tepung biomassa spora	40
2.	Kaolin	20
3.	Zeolit	20
4.	Tepung jagung	20
<b>Total</b>		100

### 3.5.5 Penyiapan Lahan

Lahan yang akan ditanami kedelai diolah terlebih dahulu dengan cangkul sedalam 20 cm. Pengolahan bertujuan untuk menggemburkan tanah. Gulma yang masih tersisa di atas lahan olah dapat dibersihkan menggunakan garu.

### 3.5.6 Pembuatan Petak/Plot Percobaan

Tiga blok percobaan telah dipersiapkan yang masing-masing berukuran 1 x 15 m dengan jarak antarblok 1 m. Setiap blok dibagi menjadi 6 plot (masing-masing berukuran 1 x 2 m) dengan jarak antarplot 50 cm. Pada setiap plot percobaan diambil 3 tanaman sampel yang ditentukan secara acak sehingga total tanaman sampel adalah 54 tanaman. Setelah aplikasi, tanaman sampel diberi kurungan serangga yang telah dibuat sebelumnya. Susunan petak percobaan dapat dilihat pada Gambar (1) berikut.



Gambar 1. Tata letak plot percobaan yang terletak di Lapangan Terpadu Fakultas Pertanian Universitas Lampung Bandar Lampung.

### **3.5.7 Penanaman**

Penanaman benih kedelai dilakukan pada pagi hari dengan cara membuat tugal dengan jarak 30 cm x 30 cm dengan kedalaman 3 - 4 cm kemudian ditutup dengan tanah. Varietas kedelai yang digunakan pada penelitian ini adalah varietas Dering (kedelai tahan kekeringan) 1 yang diperoleh dari Balai Penelitian Ubi dan Kacang, Malang.

### **3.5.8 Pemeliharaan Tanaman**

Pemeliharaan tanaman kedelai mencakup penyiraman, pemupukan, penyulaman, dan penyiangan gulma. Penyiraman dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari.

Namun, apabila turun hujan, maka penyiraman tidak perlu dilakukan. Pupuk yang digunakan adalah pupuk kandang dan akan diaplikasikan sebelum tanam.

Apabila ditemukan benih kedelai yang belum tumbuh, maka segera dilakukan penyulaman. Penyulaman dilakukan bila persentase daya tumbuh tanaman kurang dari 10%. Ketika tanaman kedelai telah berumur 2 MST dilakukan penyiangan terhadap gulma yang tumbuh sebanyak 2-3 kali dalam seminggu.

## **3.6 Pelaksanaan Penelitian**

Aplikasi *M. Anisopliae* dilakukan pada sore hari terhadap seluruh tanaman yang terdapat pada perlakuan F1 hingga F5. Aplikasi dilakukan dengan menggunakan *backpack sprayer*. Penyemprotan dilakukan dengan konsentrasi 20 gram formulasi

kering *M. anisopliae* per liter air. Setiap rumpun tanaman kedelai diaplikasikan *M. anisopliae* sebanyak 70 ml/rumpun. Aplikasi pertama dilakukan terhadap semua plot percobaan pada saat tanaman kedelai berumur 2 minggu setelah tanam (MST), sedangkan penyemprotan kedua dilakukan untuk plot perlakuan F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, dan F<sub>5</sub> pada saat tanaman berumur 3 MST. Penyemprotan ketiga dilakukan pada plot perlakuan F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, dan F<sub>5</sub> pada saat tanaman berumur 4 MST. Penyemprotan keempat dilakukan pada plot perlakuan F<sub>4</sub> dan F<sub>5</sub> pada saat tanaman berumur 5 MST. Sedangkan penyemprotan kelima dilakukan pada plot perlakuan F<sub>5</sub> pada saat tanaman berumur 6 MST.

### **3.7 Pengamatan dan Pengumpulan Data**

#### **3.7.1 Data Utama**

##### **3.7.1.1 Pengamatan Langsung Populasi *Aphis glycines***

Pengamatan populasi kutu secara langsung dilakukan dengan menghitung seluruh jumlah kutu yang tidak terinfeksi jamur *M. anisopliae* pada tanaman kedelai.

Populasi *A. glycines* menggunakan kaca pembesar (lup) dan *hand colony counter* untuk mempermudah pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari yang dimulai dari 1 hingga 7 hari setelah aplikasi.

### **3.7.1.2 Pengamatan dengan Teknik *Ground cloth***

Sebelum diaplikasikan *M. anisopliae*, kain hampar (*ground cloth*) diletakkan tepat di bawah tanaman kedelai pada sore hari. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga 7 hari setelah aplikasi. Setelah tanaman disemprot, kain hampar diperiksa untuk diketahui jumlah kutu mati yang terinfeksi jamur *M. anisopliae*. Setelah itu, kutu yang telah dikumpulkan selanjutnya diidentifikasi di Laboratorium Hama Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

### **3.7.1.3 Pengamatan organisme nontarget dengan teknik *pitfall***

*Pitfall* dipasang pada sore hari sebelum aplikasi *M. anisopliae* pada tanaman sampel. Pemasangan *pitfall* dilakukan dengan cara melubangi tanah sedalam tinggi gelas. Gelas yang akan digunakan berbentuk plastik menyerupai gelas kecil dengan tinggi 9,5 cm dan diameter tutup 7 cm. Gelas tersebut diisi alkohol 70% yang dinaungi plastik mika agar tidak bercampur dengan air hujan selama 24 jam. Pada tiap plot percobaan diletakkan 2 buah *pitfall* sehingga terdapat 36 *pitfall*. Setelah 24 jam, *pitfall* diambil dan dibawa ke Laboratorium Hama Jurusan Agroteknologi untuk perhitungan dan diidentifikasi organisme yang terjebak dalam *pitfall*.

## **3.7.2 Data Penunjang**

Data penunjang pada penelitian ini didapat dari pengamatan variabel tanaman.

Variabel yang diamati terbagi menjadi 3 yaitu variabel vegetatif, variabel generatif,

serta pengamatan pascapanen. Variabel vegetatif meliputi tinggi tanaman dan jumlah daun kedelai. Variabel generatif meliputi jumlah bunga dan jumlah polong. Sedangkan pengamatan pascapanen meliputi berat brangkasan basah dan berat brangkasan kering tanaman kedelai.

### **3.8 Analisis Data**

Data populasi *A. glycyines*, baik yang masih hidup maupun yang telah terinfeksi *M. anisopliae* serta organisme nontarget dan data penunjang yang meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah bunga, serta jumlah polong diuji dengan sidik ragam (Anara) yang dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata (BNT) dengan taraf nyata 5% menggunakan perangkat pengolah data Statistik 8 tahun 2008.