

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Tiga Juhar, Desa Lao Sambo Kecamatan STM Hulu Kabupaten Deli Serdang, dengan ketinggian tempat 150 m dpl, penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Maret-April 2014.

3.2. Bahan Dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan adalah:

Isolat murni jamur *B.bassiana*, media PDA, pipet tetes, bahan aktif (sipermetrin) 250 EC, aquades steril 1 liter, spiritus 1 liter, aluminium poil 1 gulung, jarum inokulasi, alat tulis, *ent case* (kotak inokulasi), nampan, panci, cawan petri dan oven, autoclave atau *hotplate*, toples ukuran 20 x 25 cm, *haemocytometer*, spatula, tabung reaksi.

3.3. Metode Penelitian

Menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) non faktorial dengan 6 taraf perlakuan, 4 ulangan, perlakuan adalah aplikasi jenis *B. bassiana* dengan dosis rekomendasi sebagai berikut : A0 = 0 (konidia/ml), A1 = 10² (konidia/ml), A2 = 10⁴ (konidia/ml), A3 = 10⁶ (konidia /ml), A4 = 10⁸ (konidia /ml), A5 = Insektisida (Sipermetrin) EC 0,5 cc/ml

Model linear yang diasumsikan untuk Rancangan Acak Kelompok non faktorial , yaitu : $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + B_j + \epsilon_{ij}$

Keterangan :

Y_{ij} = Hasil atau nilai pengamatan dari perlakuan ke I dan ulangan ke j

μ = Nilai tengah umum

α_i = Pengaruh perlakuan ke i

B_j = Pengaruh blok ke j

Analisis dilakukan secara statistik terhadap banyaknya konidia yang menginfeksi serangga, rata-rata pertambahan serangga yang terkena infeksi *B.bassiana*, Pertambahan konidia pada serangga, selanjutnya diuji dengan rumus regresi.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 4 tahap, yaitu :

3.4.1. Pembuatan Media PDA dan Pemiakan *B.bassiana*

Pembuatan PDA dilakukan dengan : mengupas 200 gram kentang, dicuci bersih lalu dipotong kecil-kecil ukuran 1cm x 1cm dan direbus dalam 1 liter akuades sampai lunak. Kemudian disaring untuk memisahkan air dengan kentang, sari kentang sebanyak 1 liter ditambahkan dengan 20 gr agar dan 20 gr *dextrose*, lalu direbus lagi sampai mendidih. Setelah itu, larutan tersebut disaring kembali dan dituangkan pada botol untuk disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit suhu 121°C dan tekanan 1 atmosfer (atm).

3.4.2. Penyiapan suspensi *B.bassiana*

Penyiapan suspensi *B.bassiana* dilakukan di laboratorium Universitas Medan Area Fakultas Pertanian, indukan *B.bassiana* diperoleh dari koleksi Balai Besar Proteksi Tanaman Perkebunan Medan yang asalnya dari *Hypothenemus hampei* hama tanaman coklat yang terinfeksi *B.bassiana*, isolat yang digunakan adalah F2 dari induk aslinya, kemudian dibiakkan lagi dengan media baru selama 10 hari. Berikut cara kerja pembuatan suspensi *B.bassiana* :

1. Perbanyak *B.bassiana* pada PDA sebanyak 10 cawanpetri kemudian diinkubasikan selama 72 jam pada suhu ruang 29°C, kemudian menambahkan 10 ml akuades steril kedalam biakan *B.bassiana*.
2. *B.bassiana*, kemudian diaduk dengan spatula hingga spora *B.bassiana* naik ke permukaan lalu diambil dengan mikro pipet sebanyak 1 ml, setelah itu menyiapkan tabung reaksi sebanyak 8 tabung reaksi dan 1 starter yang diberi aquades masing-masing sebanyak 9 ml, kemudian teteskan masing-masing 1 ml ke masing-masing tabung reaksi lalu ambil sampel *B.bassiana* yang telah diencerkan tersebut lalu amati dengan *Haemocytometer*, kemudian apabila sudah ditemukan konidia yang sudah ditentukan 10^2 , 10^4 , 10^6 , 10^8 , maka selanjutnya, membuat suspensi larutan yang akan dipersiapkan untuk dilakukan pengaplikasian dilapangan.

3.4.3. Pemasangan *disc on corm trap*

Waktu yang efektif untuk pemasangan *disc on corm trap* pada sekeliling batang pisang yakni pada sore hari, dikarenakan suhu dan kelembaban pada sore hari sudah mulai menurun, karena pada sore hari kumbang *C.sordidus* dan *O.longicollis* mulai aktif mencari makanannya, karena kumbang *C.sordidus* dan *O.longicollis* bersifat aktif pada sore dan malam hari atau aktifitas hidupnya dimulai pada sore dan malam hari (Nocturnal). Maka dari itu mengapa alasan yang tepat untuk memasang *disc on corm trap*, cara pembuatan trap sangat sederhana dengan menggunakan batang semu pisang barangan yang masih segar dan sudah dipanen, panjangnya kira-kira 25-50 cm lalu bersihkan permukaannya dan kemudian batang pisang tersebut dibelah dua, lalu trap tersebut diletakkan dimasing-masing tanaman pisang sesuai perlakuan lalu diaplikasikan dengan

disemprotkan suspensi *B.bassiana* sesuai dengan perlakuan masing-masing perangkap, kemudian di letakkan trap tersebut di dekat akar atau disekitar tanaman pisang, trap ditutup dengan batang pisang yang berguna untuk menjaga kelembaban batang pisang.(Gambar 3.1)



Gambar 3.1. Perangkap bonggol pisang untuk menangkap hama penggerek batang dan bonggol pisang. Sumber Mairawita, *et al* 2012.

Setelah 2 hari kemudian perangkap akan dikunjungi oleh hama penggerek bonggol dan penggerek batang pisang, serangga kemudian dipelihara didalam toples yang berukuran 25 cm x 20 cm. Pengumpulan serangga penggerek batang masuk kedalam perangkap dikumpulkan setiap 2 hari selama 6 hari, setelah itu ditempatkan di Laboratorium pada suhu 23°C dan kelembaban 80%. Penggantian sumber makanan berupa potongan batang pisang dilakukan setiap 2 hari sekaligus dilakukan penghitungan jumlah serangga yang mati.

3.4.4. Pemeliharaan Serangga yang Terinfeksi *B.bassiana* di Laboratorium

Selanjutnya hasil penangkapan serangga *C.sordidus* dan *O.longicollis* di lapangan kemudian dibawa ke laboratorium untuk dipelihara guna untuk mengetahui efektifitas *B.bassiana* yang menginfeksi serangga *C.sordidus* dan *O.longicollis* yang terperangkap di trap, kemudian diamati dan mengganti makanan setiap 2 kali sehari sampai serangga *C.sordidus* dan *O.longicollis* seluruh bagian tubuhnya terinfeksi *B.bassiana*.



Gambar 3.2. Pemeliharaan *C.sordidus* dan *O.longicollis* di laboratorium (Dokumentasi Pribadi 2014)

3.5. Parameter yang diamati

3.5.1. Pengamatan morfologi *B. bassiana*

Morfologi hifa dan konidia diamati dengan menggunakan mikroskop binokular dengan perbesaran 60 x 10. Warna koloni diamati secara visual dan pertumbuhan koloni diamati dengan mengukur pertambahan diameter koloni *B. bassiana* pada umur 3-10 hari setelah inkubasi.

3.5.2. Kepadatan populasi *C.sordidus* gemar dan *O.longicollis* Oliver

Serangga penggerek bonggol dan serangga penggerek batang pisang yang didapatkan setelah diidentifikasi dihitung jumlahnya kemudian dilakukan : analisis komposisi dari serangga tersebut yang meliputi : kepadatan populasi dan frekwensi relatif dihitung digunakan rumus-rumus berikut :

$$K = \frac{\text{Jumlah individu suatu genus}}{\text{Luas unit sampel}} \quad (\text{Michael, 1984})$$

3.5.3. Persentase Mortalitas Serangga *C.sordidus* dan *O.longicollis*

Mortalitas serangga dewasa *C.sordidus* dan *O.longicollis* diamati pada hari 3 sampai pada hari ke 30 setelah inokulasi dengan interval 2 hari dilakukan penggantian makanan cacahan batang pisang barangan.

Persentase mortalitas serangga stadia dewasa dan pradewasa dihitung dengan menggunakan rumus:

$$M = A/D \times 100\%$$

Keterangan :

M = Persentase Mortalitas

A = Jumlah serangga pradewasa atau dewasa yang mati terinfeksi jamur.

D = Jumlah serangga pradewasa atau dewasa yang diuji

Persentase yang diperoleh kemudian dikoreksi dengan menggunakan rumus Abbott's :

$$P = \frac{PO - PC}{100 - PC} \times 100 \%$$

Keterangan :

P = persentase banyak serangga uji yang mati setelah koreksi

P_o = persentase serangga uji yang mati pada perlakuan

P_o = Persentase serangga yang mati pada kontrol

3.5.4. Efektifitas bioinsektisida *B.bassiana*

$$\begin{aligned} &= \frac{ET - EK}{EK} \times 100 \\ &= 100 \% \end{aligned}$$

Keterangan :

E_T : Efektifitas Perlakuan

E_K : Efektifitas kontrol

3.6. Metode Analisis Data

Analisis dilakukan secara statistik terhadap banyaknya konidia yang menginfeksi serangga, rata-rata penambahan serangga yang terkena infeksi *B.bassiana*, penambahan konidia pada serangga, selanjutnya diuji dengan rumus regresi.

