#### III. BAHAN DAN METODE

# 3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Medan Area yang berlokasi di Jalan kolam No. 1 Medan Estate, Kecamatan Percut Sei Tuan, yang dengan ketinggian 25 meter diatas permukaan laut.

## 3.2 Bahan Dan Alat

#### **3.2.1** Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : larva *Spodoptera litura*, *Metharizium anisopliae*, air bersih dan aquades, alkohol 70 %, dan daun bawang sebagai pakan larva.

#### 3.2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : cawan petri, kotak isolasi, lampu bunsen, jarum ose, toples, handsprayer, *Haemocytometer*, mikroskop, timbangan elektrik, kertas label, kain kassa, karet gelang, tabung reaksi, gunting, kertas wrap, alumininum foil, tisu, masker, alat tulis, serta alat-alat lain yang dapat diperlukan saat penelitian berjalan.

### 3.3 Metode penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL) Faktorial yaitu :

1. Instar *Spodoptera litura* yang digunakan, terdiri dari 2 taraf perlakuan:

 $I_1 = S$ . litura instar 3 - 4

 $I_2 = S$ . litura instar 5 - 6

2. Kerapatan *Metarhizium anisopliae*, terdiri dari 4 taraf perlakuan:

 $M_0$ = Tanpa menggunakan *Metarhizium anisopliae*.

 $\mathbf{M_{1}}$ = kerapatan spora *Metarhizium anisopliae* 10<sup>2</sup> (25 spora/ml)

**M**<sub>2</sub>= kerapatan spora *Metarhizium anisopliae* 10<sup>4</sup>( 50 spora/ml)

**M**<sub>3</sub>= kerapatan spora *Metarhizium anisopliae* 10<sup>6</sup> (100 spora/ml)

Sehingga diperoleh 8 kombinasi perlakuan sebagai berikut:

 $I_1M_0$   $I_2M_0$ 

 $I_1M_1$   $I_2M_1$ 

 $I_1M_2$   $I_2M_2$ 

 $I_1M_3$   $I_2M_3$ 

Satuan Penelitian:

Jumlah ulangan : 4 ulangan

Jumlah toples : 32 toples

Jumlah larva per toples : 10 larva

Jumlah larva keseluruhnya : 320 larva

Ukuran toples : 16 cm x 19 cm

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

## 3.4.1 Persiapan Bahan Penelitian

Ulat grayak sebagai bahan penelitian diperoleh dengan cara mencari dan mengumpulkan larva ulat grayak (*Spodoptera litura*) dari lapangan instar 3-4 dan 5-6, dan dipelihara pada tanaman bawang merah. Larva dari masing-masing instar tersebut kemudian ditempatkan

di dalam toples yang berdiameter 16 x 19cm, serta diberi pakan daun bawang merah segar bebas dari pestisida.

## 3.4.2 Penyiapan Metarhizium anisopliae

Cendawan *M. anisopliae* berasal dari koleksi BPTPH (Balai Perlindungan Tanaman Pangan Dan Hortikultura) Medan. Kemudian dibiakkan pada PDA (*PotatoDextrose Agar*) di laboratorium HPT (Hama Penyakit Tumbuhan) Universitas Medan Area. Setelah berumur 14 hari hasil biakkan selanjutnya dihitung kerapatan sporanya dan dilakukan pengenceran berseri (serial dilution methode) sesuai dengan perlakuan.

## 3.4.3Aplikasi Metarhizium anisopliae Pada Larva Spodoptera litura

Larva *S. litura* dari hasil biakkan (rearing) masing-masing sebanyak 10 ekor diletakkan dalam stoples yang berisi pakan daun bawang merah segar seberat 10 gr, selanjutnya daun bawang merah dan larva yang ada dalam toples disemprot dengan larutan *M. anisopliae* dengan kerapatan spora sesuai perlakuan sebanyak 10ml dengan memakai hands prayer. Toples kemudian ditutup dengan kain kasa dan diamati keadaan serangga uji tersebut. Pakan setiap hari diganti sebanyak 10gr dari daun bawang merah organik.

## 3.4.4 Parameter Pengamatan

## 3.4.4.1 Perubahan Morfologi dan Tingkah Laku Serangga Uji S. litura

Pengamatan perubahan tingkah laku serangga uji dilakukan setiap hari, mulai dari 1 HSA (Hari setelah aplikasi) seperti pergerakan, nafsu makan, warna tubuh, dan lain-lain.

## 3.4.4.2 Persentase Mortalitas Serangga UjiS. litura

Pengamatan dilakukan setiap hari sampai ditemukan 100% kematian larva *S. litura* yang diuji terhadap cendawan *M. anisopliae*. Mortalitas di hitungdengan Rumus:

$$P = \frac{A}{B} \times 100 \%$$

Dimana:

P = Persentase mortalitas serangga uji

A = Jumlah serangga yang mati

B = jumlah serangga keseluruhan/serangga awal

Bila terdapat kematian serangga uji pada perlakuan kontrol maka dikoreksi dengan rumus :

$$Ms = \frac{Mp - Mk}{100 - Mk} \times 100 \%$$

Dimana:

Ms = Persentase mortalitas sebenarnya

Mp = Persentase mortalitas perlakuan

Mk = Persentase mortalitas kontrol (Faisal, 2011).