

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Riau dan Rumah Kasa Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Riau, dari bulan September sampai dengan November 2008.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva ulat api *S. nitens* instar III yang sehat, isolat *B. bassiana* lokal Riau, PDA (*potato dextrose agar*), bibit kelapa sawit umur 1 tahun yang berada dalam *polybag*, jagung pecah dan aquades steril.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hand sprayer* 1 liter, kain kasa, gelas ukur 5ml, gelas ukur 50ml, gelas piala 1000ml, pinset, batang pengaduk, botol kecil, tisu, kompor, dandang, sendok, mikroskop, loupe, jarum ose, cawan petri, lampu bunsen, *laminar air flow*, *termohyrometer* dan alat tulis, pipet tetes, *haemocytometer*.

3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 kali ulangan, sehingga diperoleh 20 unit percobaan, setiap perlakuan terdiri dari 10 ekor larva instar III.

Perlakuannya adalah sebagai berikut :

B₁ = Konsentrasi *Beauveria bassiana* 15gr/l air

B₂ = Konsentrasi *Beauveria bassiana* 20gr/l air

B₃ = Konsentrasi *Beauveria bassiana* 25gr/l air

B₄ = Konsentrasi *Beauveria bassiana* 30gr/l air

B₅ = Konsentrasi *Beauveria bassiana* 35gr/l air

Model linear yang digunakan dalam percobaan ini adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Nilai pengamatan pada perlakuan konsentrasi *Beauveria bassiana* ke-i terhadap satuan percobaan pada ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum.

T_i = Pengaruh perlakuan konsentrasi *Beauveria bassiana* ke-i.

E_{ij} = Pengaruh perlakuan konsentrasi *Beauveria bassiana* ke-i terhadap galat pada satuan percobaan ulangan ke-j

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Pengujian lanjutan dilakukan dengan DNMRT (*Duncan's New Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Penyediaan Bibit Kelapa Sawit.

Bibit tanaman kelapa sawit yang digunakan sebagai makanan larva berumur 1 tahun yang berada dalam *polybag*. Bibit kelapa sawit diperoleh dari pembibitan kelapa sawit varietas Dura x Pisifera. Bibit kelapa sawit diletakkan dirumah kaca Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Riau sebagai tempat penelitian dengan jarak antar bibit 1,5 meter.



Gambar 3. Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq)

3.4.2. Penyediaan ulat api (*Setora nitens*)

Ulat api *Setora nitens* yang dijadikan sebagai serangga uji adalah larva instar III yang diambil dari areal perkebunan PTP N V Kebun Sei Rokan. Larva diamati sejak fase telur secara serentak sehingga didapat fase perkembangan larva instar III yang sama. Ciri-ciri larva instar tiga ditandai dengan bagian tubuh yang awalnya berwarna hijau kekuningan berubah menjadi hijau dan sudah mengalami

dua kali ganti kulit, serta adanya satu garis membujur ditengah punggung berwarna biru keunguan. Larva instar tiga dikumpulkan kemudian diletakkan di dalam kotak (kardus) bekas ukuran 10cm x 30cm yang sudah diberi daun kelapa sawit kemudian dibawa kerumah kasa.

3.4.3. Reisolasi Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana*

Isolat cendawan entomopatogen *B. bassiana* lokal Riau di peroleh dari Laboratorium Hama Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Riau. Cendawan entomopatogen *B. bassiana* tersebut tersedia dalam bentuk isolat yang diperbanyak pada media jagung pecah. Untuk itu perlu dilakukan reisolasi pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) supaya tingkat patogenesitas *B. bassiana* tetap tinggi.



Gambar 4. Cendawan *B.bassiana* pada medium PDA

3.4.4. Perbanyak Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana*

Isolat *B. bassiana* dari media PDA (*Potato Dextrose Agar*) diperbanyak pada media jagung pecah. Cendawan *B. bassiana* diinokulasikan pada media jagung kemudian diinkubasikan selama 5-10 hari supaya cendawan tumbuh dan dapat digunakan.



Gambar 5. *Beauveria bassiana* pada medium jagung

3.4.5. Pembuatan Larutan Stok

Cendawan entomopatogen *B. bassiana* yang telah diperbanyak pada media jagung pecah ini diambil sebanyak 15gr, 20gr, 25gr, 30gr dan 35gr sesuai dengan konsentrasi perlakuan dengan menggunakan timbangan. Cendawan *B. bassiana* tersebut dicampur dengan aquades steril sebanyak 1 liter lalu diaduk kemudian disaring dengan menggunakan kain kasa.



Gambar 6. Pembuatan larutan stok

3.4.6. Larutan untuk Perlakuan

Larutan cendawan *B. bassiana* ini diambil dari larutan stok masing-masing sebanyak 1 liter sesuai dengan konsentrasi perlakuan dengan menggunakan gelas ukur. Kemudian ditambah gula pasir 7,5gr untuk konsentrasi 15gr/l air, 10gr untuk konsentrasi 20gr/l air, 12,5gr untuk konsentrasi 25gr/l air, 15gr untuk konsentrasi 30gr/l air dan 17,5gr untuk konsentrasi 35gr/l air. Gula pasir berfungsi sebagai cadangan makanan bagi konidia *B. bassiana* sebelum berhasil menginfeksi inang. Larutan Cendawan *B. bassiana* yang telah jadi dishaker selama 24 jam sebelum digunakan untuk mempercepat pembelahan sel.



Gambar 7. Pembuatan larutan untuk Perlakuan

3.4.7. Infestasi Larva untuk Perlakuan

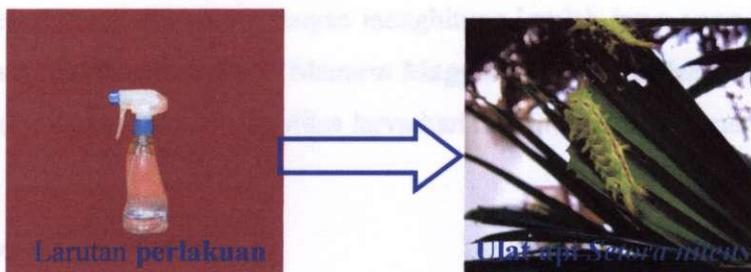
Larva ulat api *Setora nitens* di infestasikan kebibit kelapa sawit sebelum disemprot dengan cendawan entomopatogen *B. bassiana*. Larva ulat api *S. nitens* dibiarkan pada bibit kelapa sawit selama 24 jam agar dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan barunya.



Gambar 8. Larva Ulat Api (*Setora nitens*)

3.4.8. Aplikasi Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana*

Penyemprotan cendawan entomopatogen *B. bassiana* dilakukan dengan menggunakan *hand sprayer*. Penyemprotan dilakukan pada sore hari sekitar pukul 18.00 wib, karena cendawan entomopatogen *B. bassiana* tidak tahan sinar ultra violet secara langsung. Cendawan entomopatogen *B. bassiana* diaplikasikan ke bibit yang telah diinfestasi larva *S. nitens* sesuai dengan plot perlakuan. Penyemprotan *B. bassiana* sebanyak 150ml untuk setiap bibit kelapa sawit. Cendawan entomopatogen *B. bassiana* disemprotkan merata ke bibit kelapa sawit dan tubuh larva ulat api *S. nitens* sampai kondisi basah.



Gambar 9. Aplikasi Cendawan Entomopatogen *Beauveria bassiana*

3.5. Pengamatan

3.5.1. Waktu Muncul Gejala Awal (Jam)

Pengamatan dilakukan dengan cara melihat gejala awal yang terlihat dari larva *S. nitens* setelah aplikasi cendawan entomopatogen *B. bassiana*.

Pengamatan dilakukan setiap 6 jam setelah aplikasi sampai terlihat gejala awal, seperti gerakan hama menjadi lambat, aktivitas makan turun sampai tidak mau makan dan warna tubuh berubah menjadi pucat.

3.5.2. Waktu Gejala Awal sampai Larva Mati (Jam)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung waktu yang dibutuhkan sejak larva memperlihatkan gejala awal sampai larva mati, pengamatan dilakukan setiap 6 jam. Ciri-ciri larva yang mati adalah tubuh hama mengeras, tidak bergerak dan tidak melakukan aktifitas makan.

3.5.3. Lethal Concentration 50% (LC₅₀) (%)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung larva uji yang mati sebanyak 50% pada tiap konsentrasi perlakuan *B. bassiana* setelah aplikasi. Pengamatan dilakukan setiap 6 jam setelah aplikasi.

3.5.4. Lethal Time 50% (LT₅₀) (Jam)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung waktu yang dibutuhkan dari perlakuan yang ada untuk mematikan 50% larva. Pengamatan dilakukan setiap 6 jam.

3.5.5. Persentase Mortalitas Harian Larva (%)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah larva yang mati setiap hari setelah diberikan perlakuan. Menurut **Magguran (1988) dalam Kusnadi dan Sanjaya (2003)** persentase mortalitas larva harian dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$M = \frac{X - Y}{X} \times 100\%$$

M= Persentase mortalitas harian larva *S. nitens*

X= Jumlah larva *S. nitens* yang diuji

Y= Jumlah larva uji *S. nitens* yang masih hidup

3.5.6. Persentase Mortalitas Larva Kumulatif (%)

Untuk menghitung persentase mortalitas *S. nitens* dapat digunakan rumus sebagai berikut :

$$PM = \frac{b}{a} \times 100\%$$

PM = PersentaseMortalitas

a = Jumlah larva *S. nitens* sebelum aplikasi

b = Jumlah larva *S. nitens* setelah aplikasi

3.5.7. Pengamatan Pendukung (Tanpa Analisis)

3.5.7.1. Suhu dan Kelembaban Udara Tempat Penelitian

Suhu dan kelembaban udara ditempat penelitian dilakukan dengan meletakkan *termohygrometer* ditempat penelitian. Suhu dan kelembaban akan diamati dan dicatat setiap harinya pada setiap pengamatan.

3.5.7.2. Perubahan Tingkah Laku dan Morfologi

Perubahan tingkah laku dan morfologi larva ulat api *Setora nitens* diamati setelah disemprot dengan *B. bassiana*. Perubahan tingkah laku dan morfologi larva ulat api diamati setiap hari.

