

IV. METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di rumah kaca Laboratorium Pengamatan dan Peramalan Hama Penyakit tanaman Pangan Wilayah Kedu di Temanggung, mulai bulan September sampai Oktober 1994.

B. Bahan dan Alat

1. Bahan

- Biakan murni cendawan *E. bassiana*
- Kumbang daun *A. similis*
- Tanaman semangka varietas "Golden Dragon"
- Tanah steril
- Pupuk (KCl, TSP, ZA, Urea, Pupuk kandang)
- Air steril
- Alkohol 70%
- Medium beras pecah

2. Alat

- Pot dengan diameter 20 cm, tinggi 20 cm
- Kain kasa sebagai sungkup
- Alat semprot tangan
- Haemositometer
- Saringan
- Erlemeyer
- Cawan petri

- Inkubator
- Pipet
- Timbangan analitik
- Kantong plastik (ukuran 0,5 kg dan 1 kg)

C. Cara Kerja

1. Pembiakan Massal *A. similis*

Imago *A. similis* diambil dari lapangan, dipelihara dalam pot yang berisi tanaman semangka, kemudian disungkup dengan kain kasa dan dibiarkan sampai bertelur. Selanjutnya telur-telur tersebut dibiarkan sampai menetas, imago dikeluarkan dari pot. Imago dari F1 inilah yang digunakan dalam penelitian.

2. Persiapan biakan cendawan *B. bassiana*

- Merebus beras sebanyak 1 kg yang akan digunakan sebagai media biakan. Caranya adalah sebagai berikut: beras dicuci bersih, kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml air mendidih, dimasak selama 15 menit sebagai media beras pecah.
- Isolat *B. bassiana* pada media PDA dipindahkan ke dalam media beras pecah dengan cara sebagai berikut; beras dimasukkan ke dalam 10 kantong plastik tahan panas yang berukuran 20 x 10 cm tiap kantong diisi sampai sepertiga bagian, kemudian dilipat dan dimasukkan ke dalam plastik yang lebih besar untuk disterilkan di dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit tekanan 2 atm. Setelah itu diangkat dan dimasukkan ke dalam

ent kas. Cendawan *B. bassiana* yang ada pada media PDA diinokulasikan ke dalam media beras tersebut secara aseptik dengan menggunakan ose steril di atas api spiritus. Kemudian kantong yang berisi beras dikocok-kocok agar konidia menyebar ke seluruh bagian beras. Kantong plastik dilipat dan diinkubasi di dalam inkubator selama empat minggu pada suhu 26°C (Michelia dan Sitepu, 1989).

3. Pembuatan Inokulum menurut Riyatno (1991)

Biakan *B. bassiana* pada media beras yang telah berumur 4 minggu dimasukkan ke dalam air steril dengan cara sebagai berikut :

- Diambil 10 gr cendawan *B. bassiana* dari media biakan dilarutkan dalam 90 ml air steril dan dikocok di atas shaker hingga homogen dan konidianya terlepas dari butiran beras.
- Diambil larutan yang sudah homogen tersebut dengan menggunakan pipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam haemositometer.
- Diamati di bawah mikroskop kemudian dihitung jumlah konidianya dengan rumus sebagai berikut :

Menurut Riyatno (1991)

$$J = \frac{(t \times d)}{(n \times 0,25)} \times 10^6 \times 100$$

Keterangan ; J : Jumlah konidia

t : Jumlah konidia di dalam kotak yang dihitung

d : Faktor pengenceran

n : Jumlah semua kotak kecil yang
dihitung

- Dibuat suspensi dengan berbagai tingkat konsentrasi sebagai perlakuan, sebagai berikut :

K_1 : $1,671 \times 10^5$ konidia / 100 ml

K_2 : $1,821 \times 10^8$ konidia / 100 ml

K_3 : $1,762 \times 10^{10}$ konidia / 100 ml

KO : air steril

4. Aplikasi *B. bassiana*

- Disiapkan pot yang berisi tanah yang sudah dicampur dengan pupuk untuk media tanam, masing-masing pot berisi 4 tanaman semangka.
- Aplikasi dilakukan dengan cara penyemprotan. Setiap unit percobaan disemprot dengan 10 ml suspensi *B. bassiana*.
- Ada dua cara Aplikasi:
 1. W1 : suspensi *B. Bassiana* disemprotkan langsung pada tubuh serangga.
 2. W2 : suspensi *B. Bassiana* disemprotkan pada tanaman yang berada di dalam pot.
(tiap pot berisi 10 ekor serangga).

D. Kegiatan Pengamatan

Pengamatan tingkat kematian *A. similis* dilakukan setiap hari (jam 15.00 WIB) selama 21 hari, dicatat faktor-faktor lingkungan yang mendukung (suhu, kelembaman, curah hujan).

E. Parameter Yang Diamati

1. Prosentase kematian *A. similis*
2. Lama waktu proses kematian.

F. Model Analisis Data

Model percobaan ini disusun dalam rancangan acak lengkap faktorial (RALF), dengan 8 kombinasi perlakuan antara cara aplikasi dengan konsentrasi konidia yang diberikan, masing-masing tiga kali ulangan.

Data yang diperoleh ditransformasikan ke arc sin akar x, selanjutnya data dianalisis dengan tingkat kepercayaan 5 %. Bila antar perlakuan ada beda nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut wilayah ganda Duncan (DMRT) dengan taraf uji 5 % (Hanafiah, 1993).

