

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis Penelitian ini adalah penelitian experimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu dengan pemberian insektisida golongan IGR dengan jenis bahan aktif dan konsentrasi yang berbeda pada *Steinernema* spp. sebagai perlakuannya. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Pemberian aquades digunakan sebagai kontrol. Rancangan penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

Tabel 3.1 Rancangan penelitian Uji viabilitas *Steinernema* spp.

Perlakuan/Ulangan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
A				
B				
C				
D				
Kontrol				

Tabel 3.2 Rancangan penelitian Uji Virulensi *Steinernema* spp..

Perlakuan/Ulangan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
A				
B				
C				
D				
Kontrol				

Tabel 3.3 Jenis bahan aktif IGR yang digunakan sebagai perlakuan.

No	Perlakuan		Formulasi	Bahan aktif	Konsentrasi bahan aktif
1	A	Insektisida IGR	75 WP	Siromazin	Rekomendasi produk (0,2%)
2	B	Insektisida IGR	75 WP	Siromazin	Rendah (0,1%)
3	C	Insektisida IGR	10 WP	Buprofezin	Rekomendasi produk (0,06%)
4	D	Insektisida IGR	10 WP	Buprofezin	Rendah (0,003%)
5	Kontrol	Aquades	-	-	-

3.1.1 Variabel Penelitian

Penelitian ekperimental ini memiliki 3 jenis variabel yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel kontrol.

- Variabel Bebas:** Pemberian jenis dan konsentrasi bahan aktif insektisida golongan IGR pada Setiap cawan petri yang berisi *Steinernema* spp.
- Variabel Terikat:** Viabilitas dan virulensi dari *Steinernema* spp. setelah pemberian jenis dan konsentrasi bahan aktif insektisida golongan IGR.
- Variabel Kontrol :** Nematoda entomopatogen dalam cawan petri yang tidak diberikan perlakuan apapun.

3.1.2 Parameter yang diamati

Parameter utama dalam penelitian ini adalah jumlah juvenil infektif (JI) *Steinernema* spp. yang bertahan hidup (*survive*), setelah pemberian jenis dan konsentrasi bahan aktif insektisida golongan IGR dalam waktu 24 jam. Selain itu tingkat virulensi dari *Steinernema* spp. terhadap mortalitas larva *C. cephalonica* setelah pemberian IGR juga menjadi parameter utama. Selain itu juga dilakukan pengukuran suhu dan kelembaban ruangan sebagai parameter pendukung.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2014 bertempat di Laboratorium Proteksi Tanaman Balai Besar Perbenihan dan Proteksi tanaman Perkebunan (BBPPTP) Surabaya.

3.3 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pengaduk, *plastic wrap*, wadah plastik, enlenmeyer, neraca analitik, pH Meter, inkubator, gelas ukur, gunting, kertas label, autoclave, mikroskop komputer, *hand counter*, cawan penghitung NEP (*Counter dish*).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Nematoda entomopatogen (*Steinernema* spp.) juvenil infeksi (JI) hasil kultur *in vitro* di BBPPTP Surabaya, larva *Corcyra cephalonica*, tisu, aquades, alkohol, kertas saring, kapas, aquades, insektisida sintetik golongan IGR berbahan aktif Buprofezin (merk dagang: Applaud 10 WP) dan Siromazin (merk dagang: Triggard 75 WP)

3.4 Kegiatan Penelitian

3.4.1 Persiapan alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dicuci dengan menggunakan sabun dan dicuci kembali dengan air bersih yang mengalir. Semua peralatan yang digunakan disterilisasi dengan menggunakan Autoclaf pada suhu 120° C dengan tekanan 15 atm selama 15 menit. Sterilisasi dilakukan dengan cara membungkus alat dan bahan menggunakan alimunium foil.

Nematoda (*Steinernema* spp.) juvenil infeksiif didapatkan dari laboratorium proteksi tanaman BBPPTP Surabaya. *Steinernema* spp. yang digunakan adalah hasil dari pembiakan secara *in vitro* (medium buatan kultur padat) yang di formulasikan kedalam spons. Pengujian virulensi *Steinernema* spp. menggunakan larva *C. cephalonica* yang di biakkan dalam media jagung. Sedangkan insektisida IGR diperoleh dari toko pestisida.

3.4.2 Perhitungan Pestisida

Konsentrasi insektisida IGR yang digunakan adalah konsentrasi bahan aktifnya. Konsentrasi bahan aktif yang digunakan adalah yang direkomendasikan dari produk insektisida dan juga konsentrasi bahan aktif dengan dosis rendah atau setengah dari yang direkomendasikan produk. Konsentrasi bahan aktif dapat diperoleh dengan rumus sebagai berikut (Djojsumarto, 2008):

A. Buprofezin (Merk Dagang Applaud 10 WP)

Untuk mengendalikan hama pada pertanaman seluas 1 Ha, diperlukan bahan aktif 1 Kg buprofezin dalam 500 Liter Larutan jadi/Aplikasi. Dalam 1 kg Applaud 10 WP terdapat 10/100 atau 0,1 kg bahan aktif atau bahan aktif yang terkandung dalam Applaud 10 WP adalah 10 %.

1. dosis pestisida untuk 1 kali aplikasi

$$\frac{1}{0,1} \times 1 \text{ kg} = 10 \text{ kg}$$

Jadi Dosis/Ha/Aplikasi = 10 Kg Applaud

2. konsentrasi formulasinya

$$\frac{10000 \text{ g}}{500 \text{ L}} = 20 \text{ g/Ltr}$$

3. konsentrasi bahan aktifnya

$$\frac{20}{1000} \times 10 \% = 0,2 \%$$

B. Siromazin (Merk Dagang Triggard 75 WP)

Untuk mengendalikan hama pada pertanaman seluas 1 Ha, diperlukan 0,3 Kg Applaud dalam 500 Liter Larutan jadi/Aplikasi. dalam 1 kg Siromazin 75 WP terdapat 0,75 kg atau bahan aktifnya sebesar 75 %

1. Dosis pestisida untuk 1 kali aplikasi

$$\frac{0,3}{0,75} \times 1 \text{ Kg} = 0,4 \text{ Kg}$$

Jadi Dosis/Ha/Aplikasi = 0,4 Kg

2. Konsentrasi formulasinya

$$\frac{400 \text{ g}}{500 \text{ ltr}} = 0,8 \text{ g/Ltr}$$

3. Konsentrasi bahan aktifnya

$$\frac{0,8}{1000} \times 75 \% = 0,06 \%$$

3.4.3 Pengujian Jenis Insektisida

Insektisida yang digunakan dengan 2 konsentrasi bahan aktif yang berbeda yaitu buprofezin dan siromazin dengan konsentrasi rendah dari bahan aktif dan konsentrasi yang direkomendasikan dari produk tersebut . Setiap Jenis insektisida di campur dengan aquades pada gelas ukur. Sebanyak 2 ml cairan yang mengandung 1500 juvenil infektif (JI) di campur dengan 1 ml setiap larutan pestisida sintetis kedalam cawan petri (Arun, 2010). Cawan petri di tutup dengan *plastic wrap*

kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 Jam (Radova, 2010). Satu cawan petri diisi dengan aquades dan dicampur 2 ml cairan yang berisi 1500 JI sebagai kontrol.

3.4.4 Penghitungan Viabilitas nematoda entomopatogen (NEP)

Setelah inkubasi selama 24 Jam dilakukan uji viabilitas (kemampuan untuk bertahan hidup) dari *Steinernema* spp. setelah pemberian Jenis dan konsentrasi bahan aktif Insektisida Golongan IGR. Setiap cawan petri dihitung jumlah nematoda yang masih bertahan hidup dengan rumus (Radova, 2011):

$$\text{Viabilitas : } \frac{\sum \text{NEP Total} - \sum \text{NEP Mati}}{\sum \text{Total NEP}} \times 100 \%$$

Penghitungan dilakukan dengan menggunakan cawan penghitung NEP dan diamati dibawah mikroskop komputer pada suhu 25° C. Nematoda yang tidak bergerak setelah diberikan goyangan terhitung sebagai nematoda yang mati, dengan bentuk tubuh kaku seperti jarum (Radova, 2010)

3.4.4 Uji Virulensi Nematoda entomopatogen

Pengamatan selanjutnya adalah untuk mengetahui virulensi *Steinernema* spp.. Uji virulensi dilakukan dengan menggunakan larva *Corcyra Cephalonica*. Sebanyak 5 ekor Larva *C. Cephalonica* diletakkan pada cawan petri yang telah dilapisi dengan kertas tisu, kemudian ditetesi *Steinernema* spp. yang masih bertahan hidup setelah pemberian jenis bahan aktif insektisida IGR. Pemberian aplikasi NEP tanpa pengaruh insektisida digunakan sebagai kontrol.

Virulensi NEP adalah kemampuan nematoda menyebabkan kematian pada serangga hama. Virulensi NEP bisa dilihat dari mortalitas larva *Corcyra cephalonica*

setelah diaplikasi dengan nematoda, dan dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Radova, 2011):

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Larva mati}}{\text{Jumlah larva Total}} \times 100 \%$$

Pengamatan mortalitas larva *C. cephalonica* dilakukan 24 jam dan 48 jam setelah infeksi *Steinernema* spp (Grewal, 2005).

3.6 Analisa Data

Data Jumlah nematoda yang hidup (Viabilitas) dan virulensinya terhadap mortalitas *Corcyra cephalonica* dianalisa dengan menggunakan uji ANOVA dengan taraf signifikansi 5 %, bila terdapat beda nyata maka akan dilanjutkan dengan uji BNT.