

#### IV. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Pengendalian Hama dan Penyakit PG. Madukismo Yogyakarta. Tinggi tempat penelitian kurang lebih 80 m dari permukaan laut. Suhu ruangan antara 25-31°C, sedang kelembaban ruang minimum 67 persen dan maximum 87 persen. Kegiatan penelitian berlangsung sejak bulan Pebruari sampai Juni 1992.

##### A. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan :
  - Tanaman tebu muda umur 3-6 bulan
  - Larva penggerek pucuk, *S. nivella intacta* Sn.
  - Parasitoid *E. zehntneri* F.
  - Larutan gula 20 % dan 50 %
  - Larutan madu 20 %, 50 % dan 100 %
  - Akuadest
  - Kapas
2. Alat :
  - Pisau roges
  - Pisau bedah serangga
  - Jarum
  - Gelas benda
  - Cawan petri
  - Botol pembunuh
  - Tabung reaksi

- Handcounter
- Mikroskop binokuler
- Plastik mika
- Kuas kecil
- Spons
- Tali rafia
- Sangkar kelambu ukuran  $30 \times 30 \times 30 \text{ Cm}^3$  dan ukuran  $15 \times 15 \times 15 \text{ Cm}^3$
- Kantong plastik
- Penggaris

## B. Cara Kerja :

### 1. Pemeliharaan Parasitoid

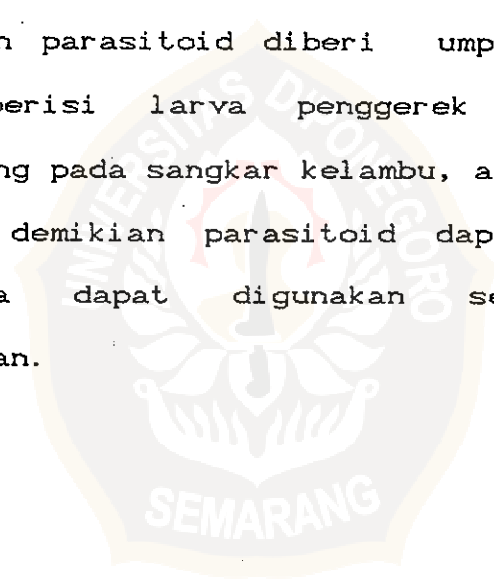
Parasitoid yang dikumpulkan dari lapangan, baik fase larva maupun pupa dipelihara pada sangkar kelambu yang berukuran  $30 \times 30 \times 30 \text{ Cm}^3$ , dengan cara sebagai berikut :

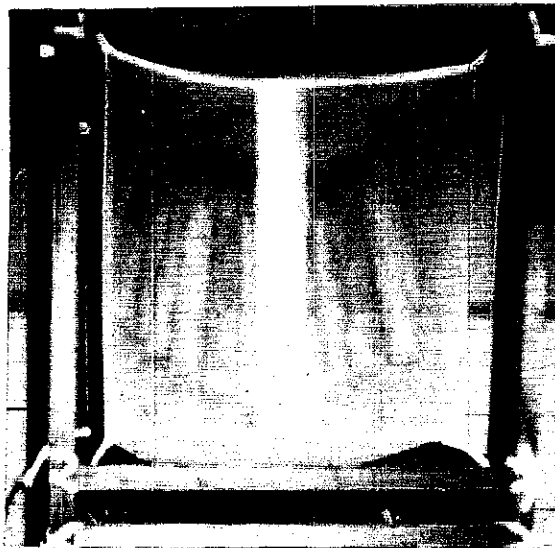
- a. Parasitoid yang dalam fase larva, dibiarkan tetap dalam pucuk tebu. Pucuk tebu-pucuk tebu yang berisi larva tersebut digantung dengan tali rafia pada sangkar kelambu. Untuk memberi kelembaban yang cukup, diatas sangkar kelambu diberi spons yang telah dibasahi air dan disemprot air setiap hari. Larva parasitoid ini dibiarkan tetap dalam pucuk tebu sampai menjadi pupa. Setelah larva menjadi pupa, dikeluarkan dari pucuk tebu dengan menggunakan kuas kecil.

Kemudian pupa tersebut dipindahkan ke cawan petri yang dialasi dengan kapas basah dan lembaran plastik.

b. Parasitoid yang dalam fase pupa langsung dikeluarkan dari pucuk tebu dan ditempatkan pada cawan petri yang dialasi kapas basah dan lembaran plastik.

c. Setelah cukup waktunya, pupa-pupa diatas akan menjadi parasitoid dewasa. Parasitoid yang baru muncul, setelah beberapa saat akan kawin secara alami di dalam sangkar kelambu. Kemudian parasitoid diberi umpan pucuk tebu yang berisi larva penggerek pucuk, yang digantung pada sangkar kelambu, agar diparasit. Dengan demikian parasitoid dapat berkembang sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengujian.





Gambar 01. Tempat Pemeliharaan Parasitoid

## 2. Seleksi Inang Yang Digunakan Untuk Pengujian

Inang yang digunakan untuk pengujian diperoleh dengan cara mencari di pucuk-pucuk tebu yang terserang penggerek. Larva penggerek pucuk tetap dibiarkan hidup dalam pucuk tebu. Di laboratorium, larva penggerek pucuk dipilih yang sehat, belum menunjukkan gejala terserang parasit dan seragam kondisinya.

Larva penggerek pucuk yang seragam dapat diperoleh dengan cara mencari gejala serangan penggerek yang sama, sehingga diharapkan akan diperoleh larva dalam pucuk tebu yang memiliki keadaan hampir serupa dalam hal ukuran, umur dan posisi larva dalam lubang gerek.

Larva penggerek pucuk yang digunakan untuk pengujian adalah larva yang telah menggerek sampai titik tumbuh, dan membuat lorong gerakan pada bagian pucuk tebu. Larva penggerek pucuk dalam kondisi seperti ini ditunjukkan dengan gejala serangan pupus layu, berwarna kecoklatan, tetapi belum kering dan belum gugur, lubang gerakan untuk keluarnya ngengat belum nampak bila dilihat dari pelepah pucuk tebu yang paling luar, dan lubang-lubang kecil bekas gerakan pada daun tebu belum berwarna hitam. Hal ini dimaksudkan agar kemungkinan larva terparasit dari lapangan dapat dihindari.

### 3. Pengamatan Biologi Parasitoid

Morfologi. Pengamatan bentuk, warna dan ciri-ciri spesifik pada tiap-tiap stadium menggunakan mikroskop binokuler. Untuk mengetahui ukuran parasitoid pada tiap-tiap stadium, diukur dengan menggunakan penggaris dibawah mikroskop. Pengamatan dilakukan terhadap 10 pasang parasitoid.

Siklus hidup. Siklus hidup dihitung mulai saat parasitoid betina meletakkan telurnya sampai telur tersebut berkembang menjadi dewasa dan kawin untuk pertama kalinya. Untuk pengujian siklus hidup ini digunakan 10 pasang parasitoid yang

diberi umpan pucuk tebu yang berisi larva penggerek pucuk, dalam sangkar kelambu berukuran  $30 \times 30 \times 30 \text{ Cm}^3$ .

Umur stadium telur dapat diketahui dengan cara menghitung waktu dari parasitoid betina mulai meletakkan telur sampai telur tersebut menetas menjadi larva. Untuk mengetahui saat parasitoid betina meletakkan telur, digunakan 5 ekor parasitoid betina telah kawin, diberi umpan pucuk tebu berisi larva penggerek. Inang diganti setiap hari selama 6 hari. Percobaan ini dilakukan dalam sangkar kelambu berukuran  $15 \times 15 \times 15 \text{ Cm}^3$ , diulang lima kali dan parameter yang diamati adalah hari keberapa inang terparasit, atau hari keberapa parasitoid betina meletakkan telur. Untuk mengetahui jumlah telur yang dihasilkan, induk parasitoid betina yang telah kawin dibedah 5 ekor, mulai umur 1 hari sampai 6 hari.

Perkembangan larva dalam tubuh inang, dihitung mulai saat telur menetas sampai larva menjadi pupa.

Umur pupa diketahui dengan mengeluarkan larva yang telah menjadi pupa tadi, lalu ditempatkan pada cawan petri yang dialasi kapas basah dan lembaran plastik, untuk dicatat sampai parasitoid muncul dari pupa.

Umur parasitoid dewasa dihitung mulai parasitoid muncul sampai mati. Pengamatan dilakukan setiap hari.

Partenogenesis. Uji partenogenesis ini bertujuan untuk mengetahui apakah telur dari induk betina dapat berkembang tanpa dibuahi jantannya. Pada percobaan ini digunakan betina yang masih perawan 1, 2, 3, 4, dan 5 ekor, dan diberi umpan pucuk tebu yang berisi larva penggerek sebanyak 5 buah, dilakukan dalam sangkar kelambu berukuran  $15 \times 15 \times 15 \text{ Cm}^3$ . Untuk masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Parameter yang diamati adalah besarnya parasitasi dan kemunculan parasitoid dewasa. Pengamatan dilakukan setelah 14 hari.

#### 4. Uji Parasitasi

Uji parasitasi. Uji parasitasi terhadap penggerek pucuk menggunakan 10 pasang parasitoid dengan diberi umpan 10 pucuk tebu yang berisi larva penggerek pucuk. Percobaan ini dilakukan dalam sangkar kelambu berukuran  $30 \times 30 \times 30 \text{ Cm}^3$ . Pengamatan inang yang terparasit dilakukan setelah 14 hari. Percobaan diulang 5 kali. Penghitungan daya parasitasi menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Daya pasitasi} = \frac{\text{jumlah larva terparasit}}{\text{jumlah larva seluruhnya}} \times 100\%$$

Uji Pengaruh Jenis Pakan Terhadap Daya Parasitasi. Pengujian ini menggunakan lima jenis pakan, yaitu larutan gula 20 %, 50 % serta larutan madu 20 %, 50 % ,100 % dan parasitoid tidak diberi pakan sebagai kontrol. Pakan diberikan dengan dioleskan pada plastik mika, lalu digantung dalam sangkar kelambu yang berukuran  $15 \times 15 \times 15 \text{ Cm}^3$ . Pada tiap sangkar dimasukkan 5 pasang parasitoid umur nol hari, dan diberi 5 larva penggerek pucuk. Pakan diganti setiap hari, sedang pengamatan jumlah inang yang terparasit dilakukan setelah 14 hari. Percobaan ini diulang 5 kali.

Uji Pengaruh Kombinasi Sex Ratio Terhadap Daya Parasitasi. Pada uji ini digunakan perlakuan dengan perbandingan jantan dan betina sebesar 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 dan 1:10. Tiap perlakuan diberi umpan pucuk tebu berisi larva penggerek pucuk dengan jumlah yang sama dengan betinanya. Untuk uji ini digunakan sangkar kelambu berukuran  $15 \times 15 \times 15 \text{ Cm}^3$ . Pengamatan dilakukan setelah 14 hari, dengan menghitung inang yang terparasit dan berakhir sampai munculnya parasitoid dewasa. Percobaan diulang sebanyak 5 kali.



### C. Analisis Data

Data hasil pengamatan biologi parasitoid yaitu : morfologi, siklus hidup dan ciri-ciri spesifik pada tiap-tiap stadium dianalisis secara diskriptif kualitatif.

Rancangan percobaan yang digunakan untuk uji partenogenesis serta uji parasitasi pada berbagai jenis pakan dan sex ratio adalah Rancangan Acak Lengkap atau CRD. Analisis data menggunakan ANOVA, dan untuk melihat adanya beda nyata antar perlakuan, dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan, pada jenjang kesalahan 5 persen.

Data parasitasi pada uji partenogenesis, uji parasitasi pada berbagai jenis pakan dan sex ratio dalam persen, sebelum dianalisis, dilakukan transformasi, bila diluar range 30-70 persen. Transformasi yang digunakan adalah transformasi arc. Sin akar x. Bila ada data nol, sebelum ditransformasi diubah dulu menjadi  $1/4 n$ , dimana n adalah besarnya unit yang digunakan untuk menentukan persentase, sedangkan bila ada data 100 diubah dulu menjadi  $100-1/4n$ . Sedangkan data kemunculan parasitoid sebelum dianalisis ditransformasi ke akar x. Bila data kurang dari 10 ditransformasi ke akar  $x + 0,5$  (Gomes dan Gomes, 1983; Raghavarao, 1983).