III. BAHANDAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Gadingrejo, Kecamatan Gadingrejo Kabupaten Pringsewu Provinsi Lampung, berlangsung dari bulan September sampai dengan Desember 2012.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang diperlukan adalah WBC, benih tanaman padi sawah (varietas Ciherang, Pelita I/1, Mudgo, ASD-7, dan Rathu Heenati), pupuk kimia (urea, Superfos, KCl), kertas saring, etanol, *bromocresol green*, kapas, kain kasa, pot plastik kecil, ember plastik, kurungan serangga, bak semai, gelas plastik transparan, lembaran plastik mika, kertas label, selotip putih. Sedangkan alat-alat yang digunakan adalah aspirator, loup, *hand counter*, pisau, gunting, alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dalam tiga set percobaan, yaitu: *honeydew test* (uji sekresi embun madu), metode pengurungan (*rearing*), dan uji skrining massal. Masingmasing set percobaan dilaksanakan dalam rancangan teracak kelompok lengkap (RTKL) dengan 8 perlakuan dan 3 ulangan, dan menggunakan 4 varietas padi standar (varietas pembeda) untuk mengkonfirmasi biotipe WBC. Perlakuan

terdiri atas 8 koloni WBC (8 lokasi asal pengambilanWBC dari lapangan) seperti yang tertera pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Tabel 2. Kode koloni dan asal koloni WBC.

No.	Kode Koloni	Asal Koloni
1.	W1	Desa Banyu Urip Kecamatan Wonosobo, Kabupaten Tanggamus (koloni Tanggamus)
2.	W2	Desa Candi Retno Kecamatan Pagelaran, Kabupaten Pringsewu (koloni Pringsewu I)
3.	W3	Desa Podomoro Kecamatan Pringsewu, Kabupaten Pringsewu (koloni Pringsewu II)
4.	W4	Desa Sukabanjar Kecamatan Gedong Tataan, Kabupaten Pesawaran (koloni Pesawaran)
5.	W5	Desa Tajimalela Kecamatan Kalianda, Kabupaten Lampung Selatan (koloni Lampung Selatan)
6.	W6	Desa Bangunrejo Kecamatan Gunungsugih, Kabupaten Lampung Tengah (koloni Lampung Tengah I)
7.	W7	Desa Rejobasuki Kecamatan Seputih Raman, Kabupaten Lampung Tengah (koloni Lampung Tengah II)
8.	W8	Desa Tamansari Kecamatan Purbolinggo, Kabupaten Lampung Timur (koloni Lampung Timur)



Gambar 3. Peta wilayah asal koloni WBC yang diuji

Keterangan:

W1 = WBC koloni Tanggamus, W2 = WBC koloni Pringsewu I, W3 = WBC koloni Pringsewu II, W4 = WBC koloni Pesawaran, W5 = WBC koloni Lampung Tengah I, W7 = WBC koloni Lampung Tengah II, W8 = WBC koloni Lampung Timur.

Kemudian, 4 varietas pembeda yang digunakan untuk mengidentifikasi biotipe WBC adalah Pelita I/1, Mudgo, ASD-7, dan Rathu Heenati, selengkapnya ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Varietas pembeda dan biotipe WBC hasil uji.

No.	Varietas Pembeda	Gen Ketahanan	Biotipe WBC hasil uji
1.	Pelita I/1	-	Biotipe 1, 2, 3 atau 4
2.	Mudgo	Bph 1	Biotipe 2,3 atau 4
3.	ASD-7	bph 2	Biotipe 3 atau 4
4.	Rathu Heenati	Bph 3	Biotipe 4

Data yang diperoleh diuji menggunakan analisis ragam pada taraf nyata 5% dan 1%, namun sebelumnya dilakukan uji kesamaan ragam menggunakan uji Bartlett dan kemenambahan data menggunakan uji Tukey. Kemudian uji lanjutan untuk membedakan nilai tengah antarperlakuan dilakukan menggunakan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penyediaan SeranggaWBC

Wereng batang coklat untuk kebutuhan penelitian ini diambil dari 8 lokasi hamparan pertanaman padi sawah yang mengalami *hopperburn* akibat serangan WBC, yaitu di wilayah Kabupaten Tanggamus (1 lokasi), Kabupaten Pringsewu (2 lokasi), Kabupaten Pesawaran (1 lokasi), Kabupaten Lampung Selatan (1 lokasi), Kabupaten Lampung Tengah (2 lokasi), dan Kabupaten Lampung Timur (1 lokasi). Selanjutnya, untuk memenuhi jumlah WBC yang dibutuhkan pada penelitian ini, WBC yang diperoleh dari lapangan dipelihara (*rearing*) dalam kurungan kain kasa. Varietas tanaman padi yang digunakan sebagai sumber makanan WBC pada penyediaan serangga uji ini adalah varietas tanaman padi yang sama dengan varietas asalnya di lapang, yaitu menggunakan varietas Ciherang.

3.4.2 Pelaksanaan Percobaan dan Pengamatan

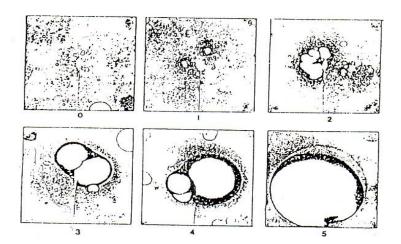
(a) Honeydew test (uji sekresi embun madu)

Uji sekresi embun madu dilakukan untuk mengetahui reaksi varietas pembeda terhadap WBC, yaitu berdasarkan banyaknya jumlah sekresi yang dihasilkan berupa embun madu. Banyaknya embun madu yang dihasilkan diamati melalui kertas indikator (Pathak dan Heinrichs, 1982 *dalam* Baco, 1984). Pelaksanaan uji sekresi embun madu adalah sebagai berikut (Pathak dan Heinrichs, 1982 *dalam* Baco, 1984; Heinrichs dkk., 1985):

- Penyiapan kertas indikator, dengan cara merendam kertas saring selama 2
 menit dalam larutan bromocresol green (2 mg bromocresol green dalam 1 ml
 etanol), kemudian dikeringanginkan selama 1 jam, lalu direndam dan
 dikeringanginkan sekali lagi.
- 2. Penyemaian benih varietas pembeda yang sudah berkecambah pada pot-pot plastik kecil masing-masing2 benih, kemudian dilakukan penjarangan sehingga disisakan 1 tanaman yang tumbuh normal setiap pot dan dipelihara sampai tanaman berumur 40 hari setelah semai (HSS).
- 3. Pengeringan pot-pot yang berisi varietas pembeda berumur 40 HSS sehingga tidak ada air yang tersisa di permukaan media tanamnya (tanah), kemudian tanaman dibersihkan dari pelepah-pelepah yang kering. Selanjutnya pangkal batang tanaman padi dilapisi menggunakan selotip putih 0,5 cm di atas permukaan tanah.
- 4. Pemasangan kertas saring di atas permukaan tanah dalam pot yang berisi varietas pembeda agar permukaan tanah tertutup untuk menahan uap air yang

berasal dari pot. Kemudian di atas kertas saring diletakkan lembaran plastik mika yang berukuran 10 cm x 10 cm, menutupi permukaan pot. Selanjutnya di atas lembaran plastik mika diletakkan kertas indikator, dan pot disungkup dengan tutup transparan (gelas plastik transparan).

- 5. Peletakan WBC betina dewasa yang telah dipuasakan terlebih dahulu selama 2 jam ke dalam pot-pot yang sudah disiapkan pada langkah nomor 4, masingmasing pot sebanyak 5 ekor WBC instar IV.
- 6. Pengamatan banyaknya sekresi (embun madu) WBC setelah 48 jam WBC dimasukkan, yaitu dengan cara memperkirakan luas bercak yang tampak pada kertas indikator menggunakan skor antara 0 sampai 5 (Gambar 4) serta menentukan kriteria reaksi varietas pembeda terhadap WBC sesuai dengan pedoman pada Tabel 4.



Gambar 4. Standar skoring sekresi *honeydew* WBC pada kertas indikator (Subroto dkk., 1992).

Tabel 4. Skoring berdasarkan sekresi *honeydew*WBC dan reaksi varietas pembeda (Subroto dkk., 1992).

Rerata skor bercak	Reaksi varietas
≤ 0,1	Sangat Tahan
0,1-1,0	Tahan
1,1-2,0	Agak Tahan
2,1 – 3,0	Agak Rentan
3,1-4,0	Rentan
4,1 – 5,0	Sangat Rentan

(b) Metode pengurungan (rearing)

Metode pengurungan dilakukan untuk mengetahui perkembangan populasi koloni WBC pada masing-masing varietas pembeda. Pelaksanaan metode kurungan dilakukan dengan mengikuti metode perbanyakan (*rearing*) WBC yang sudah dikembangkan di Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB-Padi) Sukamandi (Baehaki, 2012), dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

- 1. Padi masing-masing varietas pembeda disemaikan pada bak semai, dan setelah tanaman padi berumur 21 HSS dipindahtanam ke dalam ember-ember plastik yang berisi media tanam (tanah). Bibit yang ditanam sebanyak 5 batang setiap ember, kemudian dipelihara sehingga tanaman tumbuh baik.
- Pada saat tanaman padi telah berumur 30 hari setelah tanam (HST), rumpun padi pada masing-masing ember dibersihkan dari daun-daun/pelepah yang kering, kemudian diinfestasi dengan 5 ekor imago WBC bunting. Selanjutnya,

- masing-masing tanaman dalam ember disungkup menggunakan sungkup plastik mika yang berventilasi.
- 3. Populasi WBC generasi I yang dihasilkan dari 5 ekor imago WBC yang diinvestasikan pada masing-masing varietas pembeda dihitung secara manual dengan bantuan *hand counter*.

(c) Skrining massal

Metode ini dilakukan untuk mengetahui preferensi WBC terhadap varietasvarietas pembeda. Skrining massal dilaksanakan mengikuti prosedur yang dikembangkan di Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB-Padi) Sukamandi (Baehaki, 2012) dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

- Benih padi varietas pembeda disemai pada petakan-petakan pesemaian di rumah kaca. Benih diletakkan satu per satu sebanyak 20 butir pada barisan semai sepanjang 30 cm, setiap 1 barisan semai terdiri dari 1 varietas pembeda, dan antar barisan semai berjarak 5 cm.
- 2. Pesemaian disungkup menggunakan kain kasa setelah tanaman berumur 20 HSS. Antarsatuan percobaan dibatasi menggunakan kain kasa. Kemudian pada setiap satuan percobaan diinvestasikan 400 ekor koloni WBC instar III yang ditempatkan pada cawan petri terbuka.
- Pengamatan dilakukan setelah varietas pembeda Pelita I/1 seluruhnya mati, yaitu mencatat skor berdasarkan gejala kerusakan tanaman oleh WBC (Tabel
 Sebelum melakukan skoring, seluruh WBC yang masih hidup dimatikan menggunakan racun pembunuh nyamuk.

Tabel 5. Skoring berdasarkan kerusakan tanaman pada varietas pembeda (Baehaki, 2012; IRRI, 2013).

Skor	Gejala	Keterangan	
0	Tidak ada kerusakan	Sangat tahan	
1	Kerusakan sangat sedikit (kerusakan ujung daun pertama dan atau kedua tanaman uji kurang dari 1%)	Tahan	
3	Lebih dari 50% tanaman uji, daun pertama dan kedua menguning sebagian	Agak tahan	
5	Tanaman menguning dan kerdil atau 10 – 25% tanaman uji layu	Agak rentan	
7	Lebih dari setengah tanaman uji layu atau mati dan tanaman yang sisa sangat kerdil	Rentan	
9	Semua tanaman uji setiap varietas mati	Sangat rentan	

Tata letak antarsatuan percobaan pada set percobaan *honeydew test* (uji sekresi embun madu), metode pengurungan, dan skrining massal mengikuti skema seperti yang ditampilkan pada Gambar 5.

	X74		X71		X 7.1
	V1		V1		V1
W3		W4	V2	W7	V2
	V3		V3		V3
	V4		V4		V4
	V1		V1		V1
W1	V2 V	W6	V2	W2	V2
	V3		V3		V3
	V4		V4		V4
	V1		V1		V1
W8	V2	W3	V2	W6	V2
	V3		V3		V3
	V4		V4		V4
	V1		V1		V1
W5		W7	V2	W1	V2
,,,,	V3		V3		V3
	V4		V4		V4
	V1		V1		V1
W2		W1	V2	W5	V2
,,,_	V3		V3	,,,	V3
	V4		V4		V4
	V1		V1		V1
W6		W2	V2	W8	V2
****	V3	* * *	V3	****	V3
	V4		V4		V4
	V1		V1		V1
W4		W5	V2	W4	V2
***	V3	110	V3	***	V3
	V3 V4		V3 V4		V3 V4
	V1		V1		V1
W7		W8	V1 V2	W3	V1 V2
** /	V2 V3	** 0	V2 V3	**3	V2 V3
	V3 V4		V3 V4		V 3 V 4
	V ' 1		V '1		v 4

Gambar 5. Tata letak satuan percobaan *honeydew test*, metode pengurungan dan skrining massal

Keterangan:

W1 = WBC koloni Tanggamus
 W2 = WBC koloni Pringsewu I
 W3 = WBC koloni Pringsewu II
 V1 = Varietas Pelita
 V2 = Varietas Mudgo
 V3 = Varietas ASD7

W3 = WBC koloni Pringsewu II V3 = Varietas ASD/ W4 = WBC koloni Pesawaran V4 = Varietas Rathu Heenati

W5 = WBC koloni Lampung Selatan W6 = WBC koloni Lampung Tengah I W7 = WBC koloni Lampung Tengah II W8 = WBC koloni Lampung Timur