

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

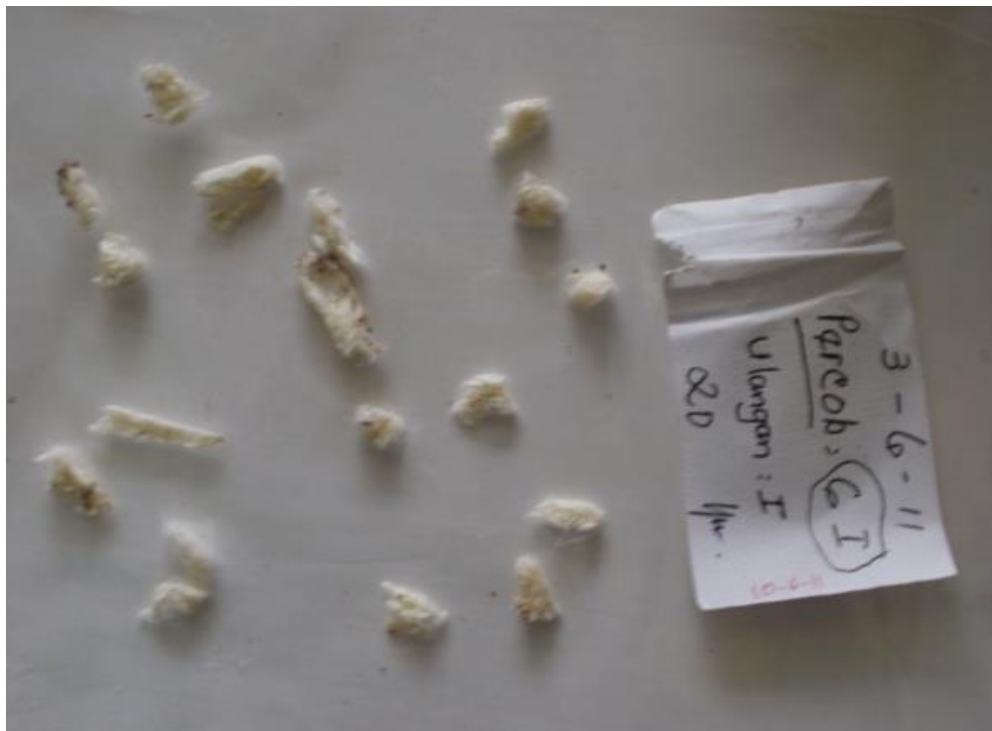
Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *Biocontrol*, Divisi *Research and Development*, PT Gunung Madu Plantations (PT GMP), Kabupaten Lampung Tengah. Pembiakan dilaksanakan dari bulan Mei sampai Juli 2011. Sedangkan pengolahan dan analisis data dilaksanakan dari bulan Agustus 2011 sampai Mei 2012.

B. Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung plastik (ukuran 20 cm x 10 cm), cawan petri, gelas tabung ukuran 20 cm x 3 cm, gelas Erlenmeyer 1000 ml, tali, kertas saring, pisau, pinset, kantong plastik, nampan, alat tulis, kertas label, tissue, gunting dan perekat. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah potongan batang tebu muda atau sogolan, pelepah daun tebu yang masih segar, *bagasse* yaitu sogolan tebu yang digiling dan dijemur, kapas, aquades, madu dengan konsentrasi 10% sebagai pakan parasitoid, media kacang hijau, larva penggerek batang, gulungan pelepah daun tebu, dan kokon parasitoid *Cotesia flavipes* yang diperoleh dari lapangan.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan membiakkan beberapa generasi koloni parasitoid *C. flavipes* di laboratorium dengan mengumpulkan kokon (Gambar 1) parasitoid dari lapangan, menyiapkan inang, memelihara parasitoid, menginokulasikan parasitoid ke serangga inang, dan mengamati perkembangannya. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap beberapa karakteristik biologi dari koloni-koloni *C. flavipes* yang berasal dari generasi berbeda, yaitu : hasil pembiakan di laboratorium generasi 7, generasi 5, dan koloni liar yang diambil dari lahan pertanian tebu. Karakteristik biologi yang diamati adalah : jumlah kelompok kokon, jumlah imago, seks rasio jantan dan betina, dan lama hidup maksimum imago jantan dan betina.



Gambar 1. Kelompok kokon *C. flavipes* diperoleh dari lahan PT GMP yang digunakan untuk starter pembiakan

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan koloni generasi keturunan liar (G1), G5, dan G7 parasitoid *C. flavipes* berperan sebagai perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak lima kali.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengumpulan Kelompok Kokon *C. flavipes*

Pengumpulan kelompok kokon dilakukan dengan cara mengambil kelompok kokon dari pertanaman tebu yang terserang oleh hama penggerek batang *Chilo sacchariphagus* Bojer. Kelompok kokon yang diperoleh dari lapang disimpan di dalam kantung plastik untuk dibawa ke laboratorium. Selanjutnya kelompok kokon *C. flavipes* yang terkumpul dimasukkan ke dalam wadah tabung plastik (ukuran 20 cm x 10 cm) (Gambar 2) dan diamati selama dua hari.



Gambar 2. Kelompok kokon *C. flavipes* dikumpulkan dalam tabung plastik untuk dibawa ke laboratorium

Untuk memastikan bahwa parasitoid *C. flavipes* berkembang dengan baik yang ditandai dengan perubahan warna kokon dari putih menjadi coklat kehitaman. Kelompok kokon yang mulai berwarna hitam selanjutnya dipindahkan tabung gelas berukuran 20 x 3 cm (Gambar 3).



Gambar 3. Kelompok kokon *C. flavipes* dimasukkan dalam tabung gelas untuk memastikan bahwa parasitoid berkembang dengan baik

2. Pembiakan *C. sacchariphagus* dan *C. flavipes*

Penggerek batang tebu berkilat *C. sacchariphagus* (Lepidoptera: Pyralidae) yang dibiakkan di laboratorium digunakan untuk pengembangan dan inang musuh alami. Ngengat (imago penggerek batang tebu berkilat) diletakkan di dalam toples yang telah berisi pelepah daun tebu segar untuk dikawinkan (Gambar 4). Ngengat selanjutnya menghasilkan telur berwarna putih cerah dan menempel pada daun tebu secara berkelompok (Gambar 5). Telur *C. sacchariphagus* yang menempel pada daun diinfestasi selama dua hari. Dua hari kemudian telur-telur

dilepaskan dari pelepah daun tebu dan dipindahkan ke dalam cawan petri. Telur *C. sacchariphagus* yang ada pada cawan petri diinfestasikan kembali selama 2-3 hari, hingga telur berubah warna menjadi gelap dan siap diinfestasikan ke dalam media kacang hijau selama 15 hari (Gambar 6). Setelah diinfestasi dilakukan pengumpulan larva *C. sacchariphagus* yang selanjutnya dikumpulkan dan digunakan sebagai inang parasitoid *C. flavipes* (Gambar 7). Dalam pembiakan ini digunakan 20 larva *C. sacchariphagus* (inang) untuk setiap generasi dan diulang sebanyak lima kali, sehingga jumlah larva penggerek batang yang dibutuhkan adalah 100 ekor larva setiap generasi. Prosedur pembiakan disajikan pada bagan Gambar 8.



Gambar 4. Wadah untuk memelihara dan mengawinkan ngengat yang telah berisi pelepah daun tebu segar



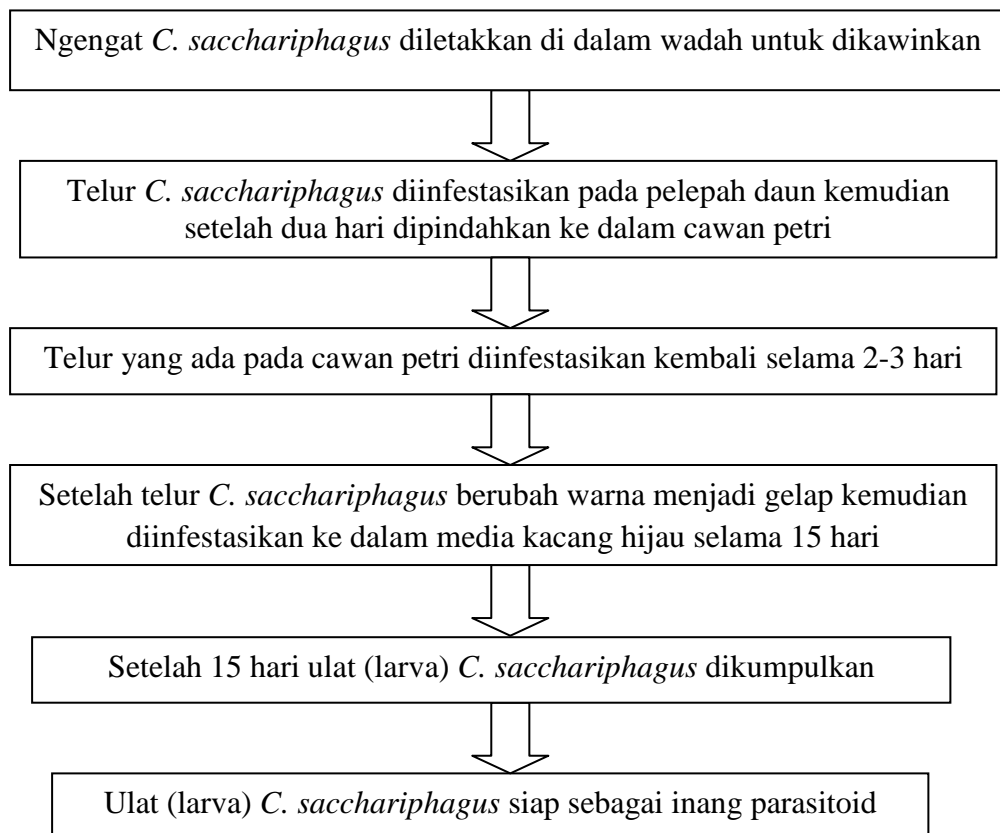
Gambar 5. Telur ngengat penggerek batang berwarna putih yang menempel pada daun tebu



Gambar 6. Telur ngengat penggerek batang diinfestasikan ke dalam media kacang hijau selama 15 hari



Gambar 7. Larva *C. sacchariphagus* yang dikumpulkan digunakan sebagai inang parasitoid *C. flavipes*



Gambar 8. Bagan pembiakan penggerak batang tebu berkilat (*C. sacchariphagus*)

3. Perlakuan Pemasaran *C. sacchariphagus* oleh Parasitoid *C. flavipes*

Dari sejumlah kokon parasitoid yang telah terkumpul, beberapa kokon dipilih untuk dimasukkan ke dalam tabung gelas dan diberi pakan tetesan madu dengan konsentrasi 10%, dua hari kemudian kokon-kokon tersebut menetas (Gambar 9).



Gambar 9. Kelompok kokon *C. flavipes* dalam tabung gelas yang diberi pakan tetesan madu dengan konsentrasi 10%

Setelah menetas, tabung biakan yang berisi parasitoid dikumpulkan di tempat yang terang agar parasitoid aktif bergerak. Kain penutup tabung biakan dibuka perlahan-lahan untuk mempermudah proses inokulasi. Inokulasi dilakukan dengan mempersiapkan 20 larva *C. sacchariphagus* hasil dari pembiakan inang yang telah dilakukan. Setelah larva-larva tersebut siap, satu demi satu larva penggerek batang diambil dengan pinset dan kemudian diinfestasikan pada imago betina *C. flavipes* yang berada di dalam tabung. Satu larva penggerek batang diinokulasi dengan satu betina parasitoid (Gambar 10). Larva penggerek batang yang telah diinokulasi kemudian dikumpulkan dan selanjutnya dipindahkan ke

dalam tabung yang berisi media kacang hijau. Setiap tabung tersebut diisi dengan 20 larva *C. sacchariphagus* yang telah terinfestasi betina *C. flavipes* dan dipelihara selama tujuh hari (Gambar 11). Setelah tujuh hari, larva tersebut dipindahkan ke media gulungan pelepah daun kering yang dilapisi kapas. Dalam media tersebut juga diisi dengan larva *C. sacchariphagus* yang berjumlah 20 ekor dan kemudian dibiakkan selama lima hari (Gambar 12). Setelah lima hari, media gulungan pelepah daun kering dibuka dan diamati pupa *C. flavipes* yang berhasil muncul dari larva penggerek batang yang telah terparasit. Kemudian pupa tersebut dikumpulkan dan dihitung jumlah kelompok kokon yang dihasilkan. Setelah kurang lebih selama tiga hari, maka pupa *C. flavipes* akan berubah warna menjadi hitam kecokelatan sebagai tanda bahwa pupa tersebut akan menetas menjadi generasi yang baru. Selanjutnya pupa *C. flavipes* dipindahkan ke dalam tabung yang telah diberi tetesan madu dan ditutup dengan kain kasa untuk menjaga agar imago yang berhasil menetas tidak dapat keluar dari dalam tabung. Setelah pupa tersebut menetas, diamati imago *C. flavipes* yang berhasil muncul dan kemudian dihitung jumlah imago tersebut untuk menentukan seks rasio jantan dan betinanya (Gambar 13). Imago *C. flavipes* yang berada di dalam tabung hanya mendapatkan sumber makanan dari tetesan madu yang disediakan. Dengan sumber makanan yang terbatas, perkembangan imago *C. flavipes* diamati setiap hari dan dicatat berapa lama imago-imago tersebut dapat bertahan hidup. Perlakuan ini diterapkan pada setiap generasi dan semua ulangnya. Generasi yang digunakan dalam percobaan ini adalah generasi keturunan liar (G1), generasi ke-5 (G5), dan generasi ke-7 (G7).



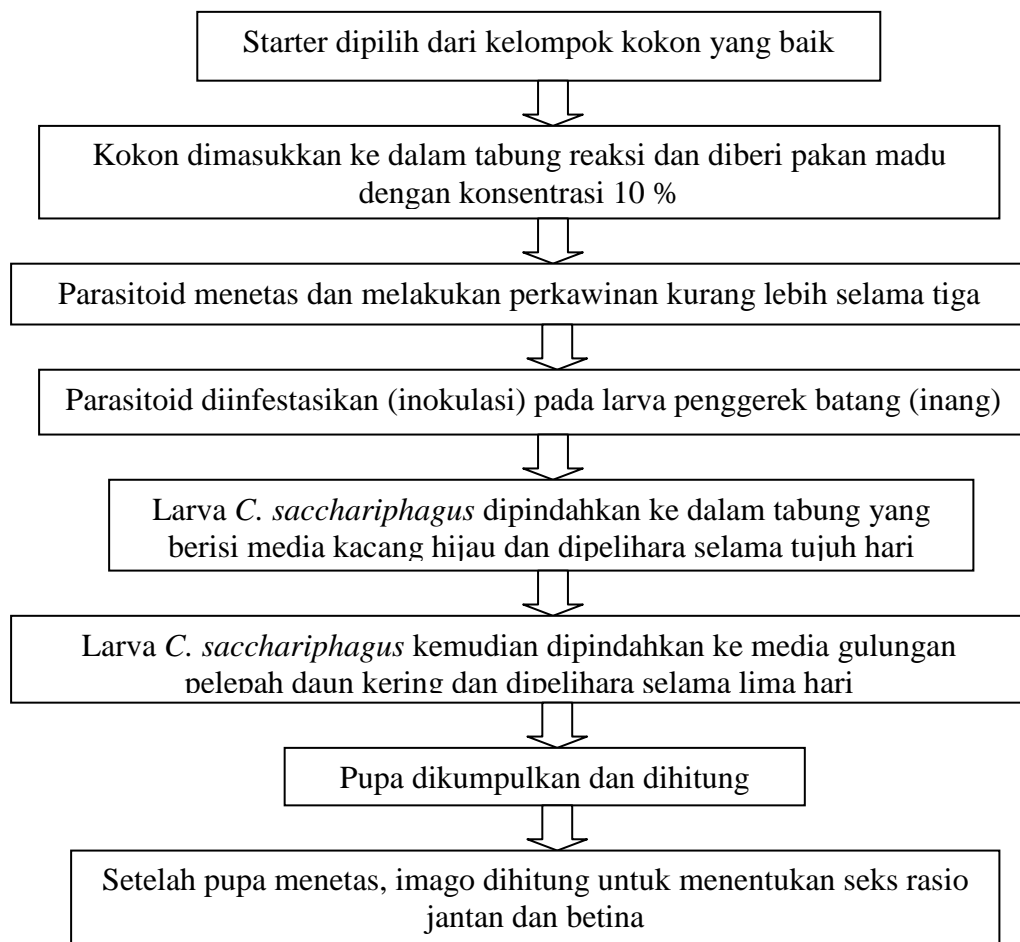
Gambar 10. Parasitoid diinfestasikan pada inang (larva penggerek batang)



Gambar 11. Larva penggerek batang dipelihara dalam tabung yang berisi media kacang hijau



Gambar 12. Larva *C. sacchariphagus* pada media gulungan pelepah daun kering



Gambar 13. Bagan perlakuan pamarasitan *C. sacchariphagus* oleh *C. flavipes*.

4. Pengamatan

Pengamatan dilakukan dalam beberapa tahap dengan mengamati :

- (1) Jumlah kelompok kokon : diamati dengan cara menghitung jumlah kelompok kokon yang terdapat pada tubuh inang terparasit.
- (2) Jumlah serangga dewasa (imago) : diamati dengan cara menghitung jumlah imago yang berhasil keluar dari kokon yang terdapat di dalam setiap tabung biakan.
- (3) Seks rasio jantan dan betina : ditentukan dengan cara menghitung jumlah *C. flavipes* jantan dan betina. Serangga jantan ditandai dengan antenanya yang berukuran lebih panjang daripada serangga *C. flavipes* betina.
- (4) Lama hidup maksimum serangga jantan dan betina dari parasitoid *C. flavipes* koloni generasi liar (G1), generasi ke-5 (G5), dan generasi ke-7 (G7). Lama hidup maksimum *C. flavipes* dari setiap generasi biakan ditentukan dengan cara mencatat lama hidup dari individu terakhir yang bertahan dari masing-masing tabung biakan.

5. Analisis Data

Data yang diperoleh disusun dalam bentuk tabel, dan dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji perbandingan nilai tengah (BNT dengan taraf nyata $\alpha = 0,05$) dengan menggunakan perangkat pengolah data SAS versi 6.12.0.1 (Sas Institute, 1989).