

III. METODE PELAKSANAAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Mei sampai November 2017.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, tabung kaca untuk perlakuan (d=6,5 cm, t=9,5 cm), tabung plastik untuk sterilisasi pakan (d=16,7 cm, t=17,5 cm), tabung perbanyak serangga (d=12 cm, t=11 cm), cawan petri kaca (d=11 cm, t=1,5 cm), timbangan digital, karet gelang, kain kasa, *freezer*, lemari pendingin, kuas, pinset, kertas label, *hand counter*, sangkar preferensi (d=18 cm, t=3,5 cm), tabung kecil (d=2,8 cm, t=2,7 cm), kotak kaca (p= 40 cm, l=25 cm, t=25 cm), pisau skapel, kamera, gunting, plastik c-tik dan peralatan menulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang hijau varietas Kutilang, Kenari, Murai, Perkutut, Sriti, Vima-2, dan Vima-3 yang diperoleh dari Balai Penelitian Aneka Tanaman Kacang dan Umbi di Jl. Raya Kendalpayak No. 66, Desa Kendalpayak, Kecamatan Pakisaji, Kabupaten Malang. Serangga *C. chinensis* yang diperoleh dari Unit Pelaksana Teknis (UPT) Pengembangan Benih Palawija Singosari, Malang.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian meliputi penyediaan pakan, sterilisasi pakan, perbanyak serangga, analisis proksimat, analisis fenol, dan uji kekerasan pakan.

Penyediaan Pakan Serangga

Penyediaan pakan serangga terdiri dari dua jenis yaitu penyediaan pakan untuk perbanyak serangga dan penyediaan pakan untuk perlakuan. Pakan serangga yang digunakan untuk perbanyak (*rearing*) yaitu kacang hijau varietas Kutilang, sedangkan pakan serangga yang digunakan untuk perlakuan penelitian ini ada enam varietas yaitu kacang hijau varietas Kenari, Murai, Perkutut, Sriti, Vima-2, dan Vima-3. Pakan yang telah diperoleh kemudian

dilakukan pemisahan dari kotoran seperti batu, kulit kacang, dan kontaminasi serangga lain.

Sterilisasi Pakan Serangga

Sterilisasi pakan bertujuan agar pakan yang digunakan dalam penelitian tidak terkontaminasi oleh organisme lain. Sterilisasi pakan meliputi pakan yang digunakan untuk perbanyakan (*rearing*) dan pakan yang digunakan untuk perlakuan. Sebelum disterilisasi pakan dimasukkan kedalam tabung plastik (d=16,7 cm, t=17,5 cm). Sterilisasi dilakukan menggunakan *freezer* dengan suhu -15°C selama tujuh hari kemudian dipindahkan ke lemari pendingin dengan suhu 5°C selama tujuh hari. Pakan yang sudah disterilkan disimpan di dalam ruangan dengan suhu $27^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama dua minggu sebelum digunakan untuk penelitian (Heinrichs *et al.*, 1985).

Perbanyakan Serangga

Perbanyakan serangga dilakukan di Laboratorium Hama Tumbuhan. perbanyakan serangga dimulai dengan pemeliharaan didalam tabung perbanyakan serangga (d=11,2 cm t=16,5 cm). Serangga yang digunakan untuk perbanyakan diperoleh dari kacang hijau varietas Vima-1 yang sudah terinfestasi serangga yang berasal dari UPT. Pengembangan Benih Palawija Singosari, Malang. Selanjutnya dilakukan identifikasi untuk menentukan spesiesnya sebelum dilakukan perbanyakan serangga.

Perbanyakan *C. chinensis* menggunakan pakan kacang hijau varietas Kutilang. Kacang hijau varietas Kutilang dimasukkan kedalam tabung plastik (d=12 cm, t=11 cm) kemudian diinfestasikan imago *C. chinensis* sebanyak 100 imago tanpa membedakan jantan dan betina. Permukaan tabung plastik kemudian ditutup dengan menggunakan kain kasa dan diikat dengan menggunakan karet gelang. Imago dikeluarkan dari dalam tabung plastik setelah tujuh hari infestasi. Telur yang diletakkan oleh imago *C. chinensis* pada pakan dibiarkan hingga berkembang menjadi imago baru. Imago yang baru muncul langsung digunakan untuk penelitian.

Analisis Proksimat Pakan

Analisis proksimat pakan dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi

Pertanian, Universitas Brawijaya. Analisis proksimat bertujuan untuk mengetahui nilai kandungan karbohidrat, protein, lemak, kadar air dan abu pada pakan.

Analisis Fenol Pakan

Analisis fenol pada kacang hijau dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Uji ini bertujuan untuk mengetahui tingkat fenol total yang menjadi salah satu senyawa volatil yang dikeluarkan oleh pakan untuk ketertarikan serangga dalam memilih pakan yang disukai.

Uji Kekerasan Biji

Uji kekerasan biji pada kacang hijau dilakukan di Laboratorium Teknologi Panen dan Pascapanen, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Uji kekerasan bertujuan untuk mengetahui tingkat kekerasan biji pada kacang hijau yang digunakan dalam penelitian.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua penelitian yaitu (1) Penelitian preferensi *C. chinensis* pada enam varietas kacang hijau dan (2) Penelitian pertumbuhan populasi dan perkembangan *C. chinensis* pada enam varietas kacang hijau. Penelitian ini terdiri dari enam perlakuan (Tabel 1).

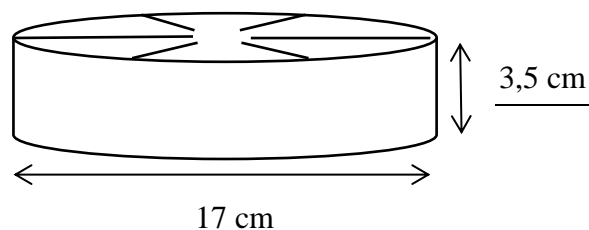
Tabel 1. Perlakuan Enam Varietas Kacang Hijau pada Penelitian Preferensi, Pertumbuhan Populasi dan Perkembangan *C. chinensis*.

Kode perlakuan	Perlakuan pakan
P1	Varietas Kenari
P2	Varietas Murai
P3	Varietas Perkutut
P4	Varietas Sriti
P5	Varietas Vima-2
P6	Varietas Vima-3

Penelitian 1. Preferensi *C. chinensis* pada Enam Varietas Kacang Hijau

Penelitian preferensi menggunakan metode *free choice test* yang bertujuan untuk mengetahui preferensi hadir dan peletakkan telur imago *C. chinensis* pada enam varietas yaitu kacang hijau varietas Kenari, Murai, Perkutut, Sriti, Vima-2, dan Vima-3. Penelitian preferensi diatur dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari enam perlakuan dan diulang sebanyak empat kali.

Penelitian preferensi dilakukan dengan menggunakan sangkar preferensi (Gambar 7). Sangkar preferensi berbentuk lingkaran yang di dalamnya terbagi menjadi enam ruang untuk setiap perlakuan. Masing masing ruang diisi pakan sebanyak 30 g. Imago *C. chinensis* diinfestasikan sebanyak 30 pasang. Imago yang diinfestasikan adalah imago yang baru muncul. Perbedaan imago *C. chinensis* jantan dan betina yaitu pada imago jantan memiliki antena *Pectinate* dan betina memiliki antena *serrate* (Gambar 5) (Shoutgate, 1958). Imago dilepaskan secara bersamaan di bagian tengah sangkar preferensi, kemudian sangkar ditutup dengan menggunakan kain kasa untuk mencegah agar imago *C. chinensis* tidak keluar dan tidak terkontaminasi organisme lain.



Gambar 7. Sangkar Preferensi (Tampak Samping) yang Digunakan dalam Penelitian Preferensi

Imago *C. chinensis* diinfestasikan selama tujuh hari dalam sangkar preferensi. Tujuh hari setelah infestasi semua imago dikeluarkan dan diletakkan secara terpisah dengan pakan. Variabel yang diamati dalam penelitian preferensi yaitu jumlah imago jantan, betina, jantan dan betina yang hadir, serta jumlah telur yang diletakkan. Pengamatan jumlah imago yang hadir dan jumlah telur yang diletakkan pada setiap jenis pakan dilakukan tujuh hari setelah infestasi.

Penelitian 2. Pertumbuhan Populasi dan Perkembangan *C. chinensis* pada Enam Varietas Kacang hijau.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *no choice test* yang bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan populasi dan perkembangan *C. chinensis* pada enam varietas kacang hijau. Penelitian pertumbuhan populasi *C. chinensis* dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari enam perlakuan dan diulang sebanyak tiga kali. Sedangkan penelitian perkembangan *C. chinensis* dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari enam perlakuan dan diulang sebanyak lima kali. Penelitian diawali dengan menimbang masing-masing

varietas kacang hijau sebanyak 30 g dan dimasukkan dalam tabung kaca ($d= 6,5$ cm, $t= 9,5$ cm) kemudian diinfestasikan 15 pasang imago *C. chinensis*. Imago *C. chinensis* yang diinfestasikan adalah imago yang baru muncul. Permukaan tabung ditutup dengan kain kasa dan diikat dengan menggunakan karet gelang. Infestasi *C. chinensis* dilakukan selama 7 hari sampai semua imago mati. Variabel yang diamati dalam pengamatan pertumbuhan populasi *C. chinensis* adalah jumlah telur, jumlah imago baru, berat imago baru, persentase penurunan berat pakan, dan indeks kepekaan. Sedangkan variabel yang diamati dalam pengamatan perkembangan *C. chinensis* adalah lama stadium telur, lama stadium larva, lama stadium pupa, lama perkembangan dan siklus hidup *C. chinensis*.

Pengamatan jumlah telur dilakukan pada 7 hari setelah infestasi atau pada saat semua imago *C. chinensis* sudah mati. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah telur *C. chinensis* yang diletakan pada permukaan kacang hijau dan diamati menggunakan mikroskop.

Pengamatan jumlah larva dan jumlah pupa tidak dilakukan karena larva dan pupa *C. chinensis* berada didalam biji.

Pengamatan jumlah imago baru dilakukan setiap hari sejak munculnya imago pertama kali hingga tidak ada lagi imago baru yang muncul. Semua imago yang muncul dipindahkan, dimasukkan dalam tabung yang berbeda dan dihitung jumlahnya.

Penghitungan berat imago baru dilakukan pada saat kemunculan imago baru pertama kali. Penghitungan berat imago baru meliputi berat imago baru jantan dan berat imago baru betina. Penghitungan berat imago baru dilakukan dengan pengambilan sampel sebanyak 10 ekor per perlakuan kemudian dihitung berat rata-rata setiap perlakuan.

Pengamatan penurunan berat pakan dilakukan di akhir penelitian. Biji kacang hijau pada masing-masing perlakuan dipisahkan antara biji yang rusak dan biji yang tidak rusak, kemudian dihitung jumlahnya dan ditimbang beratnya. Penurunan berat pakan dihitung dengan menggunakan rumus yang dikembangkan oleh Adams dan Schulten (1976 dalam Astuti *et al.*, 2013) sebagai berikut:

$$\text{Kehilangan berat (\%)} = \frac{(UNd) - (DNu)}{U(Nd+Nu)} \times 100$$

Keterangan : U adalah berat butiran utuh

Nu adalah jumlah butiran utuh

D adalah berat butiran rusak

Nd adalah jumlah butiran rusak

Pengamatan kepekaan dihitung dengan menggunakan rumus indeks kepekaan. Indeks kepekaan dihitung dengan menggunakan metode Dobie dan Kilminster (1977 *dalam* Astuti *et al.*, 2013) sebagai berikut:

$$\text{Indeks Kepekaan (IK)} = [(\log_e F)/D \times 100]$$

Keterangan: F adalah jumlah imago baru (F_1) yang dihasilkan dari sejumlah telur yang diletakkan oleh 15 pasang imago *C. chinensis* selama tujuh hari

D adalah median waktu perkembangan yang diestimasi sebagai waktu mulai dari pertengahan masa oviposisi sampai terbentuknya 50% imago generasi pertama (F_1)

Penentuan kategori tingkat kepekaan berdasarkan pada nilai dari IK dengan kisaran antara 0-11 yang diklasifikasikan dalam empat kategori (Tabel 2) (Dobie, 1974 *dalam* Astuti *et al.*, 2013) sebagai berikut:

Tabel 2. Kategori Indeks Kepekaan

Nilai Indeks Kepekaan	Kategori
0-3	Tahan
4-7	Agak Tahan
8-10	Peka
≤ 11	Sangat Peka

Pengamatan lama stadium telur dilakukan pada kacang hijau yang sudah terinfestasi *C. chinensis* selama satu hari. Biji kacang hijau yang sudah terinfestasi telur *C. chinensis* pada masing-masing perlakuan diambil kemudian diletakkan kedalam tabung kecil (d=2,8 cm, t=2,7 cm). Biji Kacang hijau yang diambil adalah biji kacang hijau yang terinfestasi satu telur *C. chinensis*. Pengamatan lama stadium telur dilakukan dengan menggunakan mikroskop dan dilakukan setiap hari sampai telur menetas menjadi larva dan dilakukan pencatatan waktunya. Penentuan waktu awal telur menetas menjadi larva

dilakukan dengan cara mengamati telur yang menempel pada permukaan kacang hijau. Kulit telur yang menempel pada permukaan kacang hijau diamati dan dibuka untuk melihat lubang pada permukaan biji kacang hijau. Apabila kulit telur yang menempel sudah kosong dan terdapat lubang pada permukaan biji kacang hijau berarti menandakan telur sudah menetas menjadi larva (Chakraborty dan Mondal, 2015). Selain itu juga dilakukan dengan menggunakan sampel destruktif. Sampel destruktif diambil dari biji kacang hijau yang sudah terinfestasi telur *C. chinensis* kemudian biji kacang hijau dipecah dengan menggunakan skapel dan dilakukan pengamatan dibawah mikroskop.

Pengamatan lama stadium larva dilakukan dengan menggunakan sampel destruktif. Sampel destruktif diambil dari biji kacang hijau yang sudah terinfestasi telur *C. chinensis* kemudian biji kacang hijau dipecah dengan menggunakan skapel dan diamati dibawah mikroskop. Pengamatan dilakukan setiap hari sejak terbentuknya larva sampai berkembang menjadi pupa dan dilakukan pencatatan waktunya. Penentuan waktu awal larva berkembang menjadi pupa dilakukan dengan mengamati permukaan biji kacang hijau. Apabila permukaan biji kacang hijau terlihat transparan atau tipis berarti menandakan larva sudah berubah menjadi pupa.

Pengamatan lama stadium pupa *C. chinensis* dilakukan dengan menggunakan sampel destruktif. Sampel destruktif diambil dari biji kacang hijau yang sudah terinfestasi larva *C. chinensis* kemudian biji kacang hijau dipecah dengan menggunakan skapel dan diamati dibawah mikroskop. Pengamatan dilakukan setiap hari sejak terbentuknya pupa sampai berkembang menjadi imago dan dilakukan pencatatan waktunya.

Pengamatan siklus hidup dilakukan dengan menghitung total waktu yang dibutuhkan oleh serangga *C. chinensis* pada masing-masing perlakuan mulai dari telur diletakkan hingga imago F_1 meletakkan telur pertama kali.

3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan Analisis ragam (ANOVA) pada taraf kesalahan 5%. Apabila hasil analisis menunjukkan pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kesalahan 5%.