

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada tanggal 1 Februari – 20 Maret 2011 di Laboratorium Biosistemika Entomologi, Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Jawa Barat.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Spesimen yang digunakan dalam penelitian ini adalah koleksi spesimen kering di Ruang Koleksi Kering Laboratorium Biosistemika Entomologi, Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong, Jawa Barat yang didapat dari beberapa lokasi di Indonesia mulai tahun 1921 hingga 2011. Bahan yang dibutuhkan sebagai acuan dalam kegiatan identifikasi adalah buku “The Moths of Borneo Part 5 Lymantriidae”, J.D. Holloway (1999b), “The Moths of Australia” I.F.B. Common (1990), jurnal “A Review of Selected Species of *Lymantria* Hübner [1819] (Lepidoptera: Noctuidae: Lymantriinae) from Subtropical and Temperate Regions of Asia, Including the Descriptions of Three New Species”, Michael G. Pogue dan Paul W. Schaefer (2007), dan literatur lainnya.

Perlengkapan yang dibutuhkan untuk melakukan pembuatan slide adalah ethanol 30%, 70%, dan 96%, larutan chlorazol black, dan KOH 10%, pinset (Dumont #5), pipet, gunting vanna, tisu (Kimwipes), spatula, tabung reaksi, kuas (No. 0.00), watch glass, petridish, slide mikroskop dan cover glass, euparal, mikroskop Epifluoresens Nikon Optiphot 2, dan Kamera Olympus Plapo 1x-4.

#### 3.3. Pelaksanaan

Identifikasi morfologi luar lebih ditekankan pada motif sisik sayap. Spesimen koleksi sudah disertakan label yang berisi data tentang nama lokasi, keterangan geografis, tahun dimana spesimen tersebut ditemukan. Dari label tersebut, lokasi penemuan ditabulasi sehingga didapatkan lokasi persebarannya.

Ngengat yang akan didiseksi diambil abdomennya. Abdomen ngengat diambil dengan cara menekan pinset ujung lancip dipebatasan antara thorax dan abdomen, kemudian abdomen dipatahkan dengan pinset ujung bengkok. Prosedur

yang dilakukan dalam pembuatan slide preparat genitalia adalah melalui tahap *clearing*, *staining*, *rinsing*, *dissecting*, *dehydrating*, dan *mounting*. Prosedur yang dilakukan dalam tahap *clearing* yaitu: memasukkan abdomen dalam tabung reaksi yang berisi KOH 10% hingga seluruh abdomen terendam, ditutup dengan penutup karet, dan direbus dalam panci selama 5 menit (spesimen yang sudah tua dan besar mungkin membutuhkan waktu yang lebih lama). Tahap *clearing* ini dilakukan untuk membuat abdomen menjadi transparan dan lunak. Abdomen yang sudah di *clearing* warnanya menjadi transparan, oleh karena itu perlu diberi warna pada tahap *staining* yang dilakukan dengan cara mencelupkan abdomen tersebut pada larutan Chlorazol black selama beberapa detik. Setelah itu abdomen dibersihkan dari sisa-sisa sisik dan larutan Chlorazol black pada tahap *rinsing*. Pengerjaan pada tahap ini dan tahap-tahap selanjutnya dilakukan dibawah mikroskop. Abdomen diletakkan pada watch glass yang berisi alkohol 30% kemudian dibersihkan pelan dengan kuas lembut. Lakukan tahap ini berulang – ulang hingga abdomen benar-benar bersih.

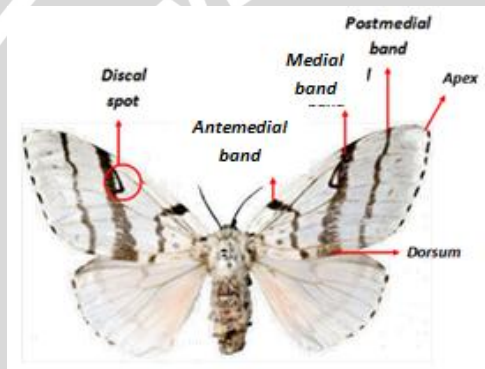
Setelah bersih, abdomen dibedah pada tahap *dissecting*. Tahap ini dilakukan pada *watch glass* yang berisi alkohol 70% supaya tidak mengambang sehingga mudah untuk membedahnya. Bagian lateral abdomen digunting dengan menggunakan mikrotom disepanjang spirakel. Setelah abdomen terbuka, bagian dalam dibersihkan dari lemak, usus, dan lain lain. Organ genitalia terletak pada ujung abdomen pada segmen ke 8 dan 9. Organ genitalia tersebut dipisahkan dengan cara ditarik dengan menggunakan piset lancip. Setelah itu, aedeagus dipisahkan dari bagian organ genitalia lain. Setelah itu tahap *dehydrating* yaitu mengatur posisi genitalia di dalam petridish yang berisi ethanol 96% setelah itu ditutup dengan coverglass dan dibiarkan hingga mengeras (kurang lebih 1 jam), hal yang sama juga dilakukan pada abdomen. Tahap yang terakhir adalah *mounting*. Pada tahap ini, yang dilakukan adalah mengoleskan beberapa tetes euparal diatas slide mikroskop, setelah itu meletakkan organ genitalia dan abdomen diatasnya, kemudian ditutup dengan coverglass. Setelah selesai, slide diberi label. Setelah pembuatan slide preparat genitalia selesai, preparat tersebut kemudian dipotret.



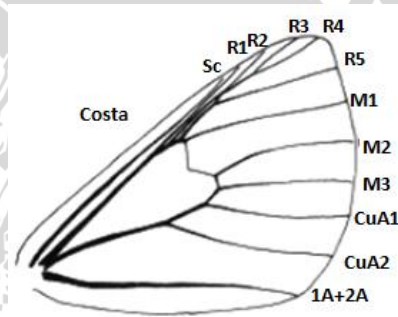
### 3.4. Terminologi

Kegiatan identifikasi ini mengikuti terminologi dari beberapa buku. Untuk menggambarkan karakter sayap, digunakan terminologi dari Holloway (1999b) dalam buku “The Moths of Borneo part 5: Lymantriidae” dan untuk menggambarkan karakter genitalia, digunakan terminologi dari Holloway (1999b) dalam buku “The Moths of Borneo part 5: Lymantriidae” dan I.F.B Common (1990) dalam buku “Moths of Australia”.

Pada sayap depan, biasanya ada tiga garis utama (melintang) yang menjadi karakter sayap. Mulai dari basal adalah *antemedial band*, setelah itu terdapat *medial band*, dan yang paling ujung adalah *postmedial band*. Karakter lain adalah *discal spot* yang terdapat pada *discal cell*.



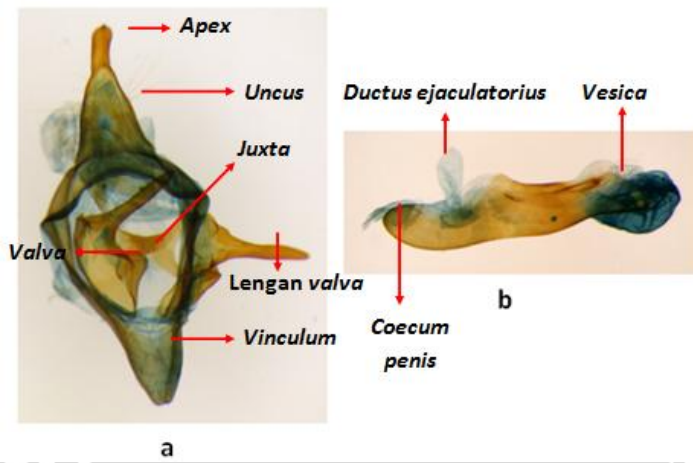
Gambar 3.1. Spesimen segar *L. lunata* betina (Anonymous, 2011b)



Gambar 3.2. Venasi sayap *Redoa* sp. (Holloway, 1986)

Genitalia ngengat jantan, yang terdapat pada segmen ke tujuh hingga ke sepuluh, sangat penting untuk membedakan tiap spesies. Bagian paling atas dari genitalia jantan adalah *uncus*, yang bentuknya menonjol keluar, biasanya tidak bercabang. Di bagian lateral terdapat sepasang *valvae* (singular: *valva*), menyambung pada *tegumen* dan *vinculum*, yang berfungsi sebagai *clasp ing organ*. Diantara kedua *valvae* terdapat membran melintang yang disebut diafragma, dimana *aedeagus* terletak disana. Di permukaan dalam aedeagus terdapat *cornutus* (singular: *cornuti*) yang berbentuk seperti duri. Area pada diafragma disekitar *aedeagus* biasanya mengalami sklerotisasi yang disebut *fultura superior* (diatas aedeagus) dan *fultura inferior* (dibawah aedeagus).

Terkadang fulcra superior berbentuk pita yang melintang yang disebut *transtilla*, dan *aedeagus* biasanya menempel atau menyatu dengan *juxta* (lihat gambar 3.3).



Gambar 3.3. *Genital capsule* (a) dan *aedeagus* (b) *Lymantria* sp. 7 ♂

