

III. METODOLOGI

Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Hama, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT), Fakultas Pertanian (FP), Universitas Brawijaya (UB). Penelitian dimulai pada bulan Februari sampai dengan bulan Juni 2015.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung kaca untuk perlakuan ($d=6,5$ cm, $t=9$ cm), tabung kaca untuk perbanyakan serangga ($d=15$ cm, $t=17$ cm), cawan Petri kaca ($d=9$ cm, $t=1,5$ cm), nampan, timbangan digital, termohigrometer, alat penghitung tangan, *Grain Moisture Tester* tipe Riceter F511, mikroskop, oven, inkubator ($p=72$ cm, $l=40$ cm, $t=33$ cm), kain kasa, kertas label, kuas, dan kamera digital.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah imago *T. castaneum*, beras varietas IR 64, tepung terigu, dan ragi.

Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu persiapan dan pelaksanaan penelitian. Tahap pertama yaitu persiapan penelitian meliputi penyediaan pakan serangga, sterilisasi pakan, dan perbanyakan serangga. Tahap kedua yaitu pelaksanaan penelitian meliputi pengamatan terhadap pertumbuhan dan perkembangan *T. castaneum* pada berbagai tingkatan suhu.

Penyediaan Pakan Serangga

Pakan serangga yang digunakan dalam penelitian ini yaitu beras varietas IR 64 yang diperoleh dari petani di Desa Ngajum, Kecamatan Ngajum, Kabupaten Malang. Benih padi berasal dari bantuan pemerintah melalui Sekolah Lapang Pengelolaan Tanaman Terpadu (SLPTT). Kadar air beras diukur sebanyak tiga kali ulangan dengan menggunakan *Grain Moisture Tester*, kemudian dihitung reratanya. Kadar air beras yang digunakan pada penelitian ini yaitu 13,8%.



Gambar 6. Grain Moisture Tester Tipe Ricoter F511 yang Digunakan dalam Penelitian

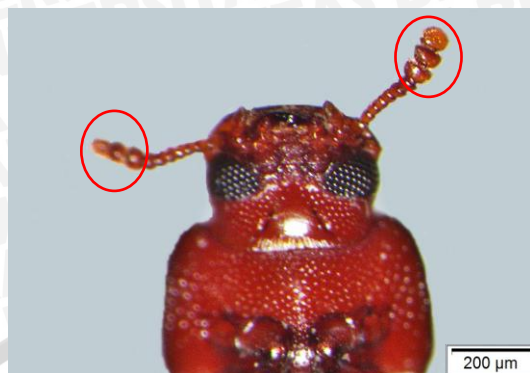
Sterilisasi Pakan

Sterilisasi bertujuan agar pakan yang digunakan dalam penelitian tidak terkontaminasi oleh organisme lain. Beras IR 64 dan tepung terigu masing-masing dimasukkan ke dalam tabung kaca sebelum disterilkan menggunakan oven. Beras yang akan digunakan dalam penelitian disterilkan menggunakan suhu 40°C selama 4 jam (Bekele *et al.*, 1995), sedangkan tepung terigu untuk perbanyakan *T. castaneum* disterilkan menggunakan suhu 60°C selama 30 menit (Sidabutar, 1994).

Pakan yang sudah steril dikeluarkan dari oven dan dikeringanginkan, kemudian permukaan tabung kaca ditutup dengan kain kasa. Pakan didiamkan selama lebih kurang 24 jam pada suhu ruang, lebih kurang 27°C dan kelembaban nisbi sekitar 70%, sebelum digunakan.

Perbanyakan Serangga

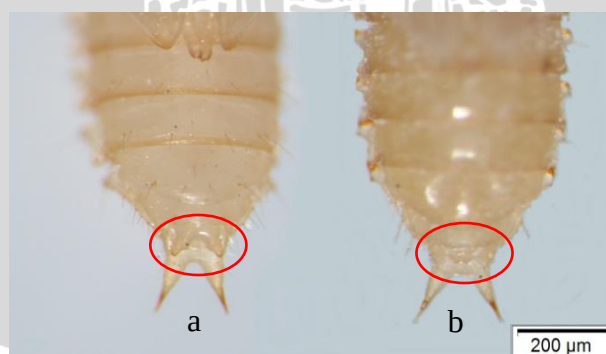
Perbanyakan serangga *T. castaneum* dilakukan di ruangan laboratorium yang bersuhu lebih kurang 27°C dan kelembaban nisbi sekitar 72%. Pemeliharaan serangga menggunakan tabung kaca dengan pakan tepung terigu dan ragi. Serangga yang digunakan untuk perbanyakan berasal dari koleksi Laboratorium Hama Jurusan HPT FP UB. Sebelum dilakukan perbanyakan, terlebih dahulu dilakukan identifikasi untuk menentukan spesies. Identifikasi dilakukan dengan melihat bentuk antena serangga *Tribolium* dengan menggunakan mikroskop. Ciri khusus antena *T. castaneum* yaitu berbentuk gada dengan tiga ruas terakhir yang membesar (Gambar 7).



Gambar 7. Bentuk Antena *T. castaneum* (Perbesaran 50x)

Perbanyakan *T. castaneum* menggunakan 500 g pakan yang terdiri dari 95% tepung terigu dan 5% ragi (Syafique *et al.*, 2006). Tepung terigu dan ragi dimasukkan ke dalam tabung kaca dan dicampur rata, kemudian diinfestasi dengan 100 ekor imago *T. castaneum* (Abebe *et al.*, 2009). Permukaan tabung kaca kemudian ditutup menggunakan kain kasa. Setelah tujuh hari infestasi, imago dikeluarkan dari tabung kaca. Telur yang diletakkan oleh imago *T. castaneum* pada pakan dibiarkan hingga berkembang menjadi pupa.

Pemisahan antara *T. castaneum* jantan dan betina dilakukan saat fase pupa dengan melihat bentuk *genital papilla* (Gambar 8). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop.



Gambar 8. Bentuk *Genital Papilla* Pupa *T. castaneum* (Perbesaran 50x). a: Betina
b: Jantan

Pupa jantan dan betina yang telah diidentifikasi dipindahkan ke tabung kaca yang berbeda hingga menjadi imago baru (F1). Imago baru yang muncul dibiarkan sekitar dua minggu sebelum digunakan untuk penelitian.

Pertumbuhan dan Perkembangan *T. castaneum* pada Berbagai Tingkatan Suhu

Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari lima tingkatan suhu, yaitu $20 \pm 0,5$, $27 \pm 0,5$, $30 \pm 0,5$, $35 \pm 0,5$, dan $40 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Perlakuan suhu $20 \pm 0,5$ menggunakan ruangan berpendingin udara, suhu $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$ menggunakan ruangan Laboratorium Hama, dan untuk suhu $30 \pm 0,5$, $35 \pm 0,5$, dan $40 \pm 0,5^\circ\text{C}$ menggunakan inkubator.

Tabung kaca yang digunakan untuk perlakuan diisi dengan 100 g beras varietas IR 64 dan diinfestasi dengan 15 pasang imago *T. castaneum* yang berumur sekitar dua minggu yang berasal dari hasil perbanyakan massal. Setelah itu, permukaan tabung kaca ditutup dengan kain kasa. Tabung kaca tersebut kemudian ditempatkan di inkubator dan ruang laboratorium sesuai perlakuan. Penelitian diatur menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Setiap tingkatan suhu ditempatkan lima tabung kaca sebagai ulangan, sehingga didapatkan 25 satuan percobaan. Imago *T. castaneum* kemudian dibiarkan selama tujuh hari untuk dihitung mortalitasnya.



Gambar 9. Inkubator yang Digunakan dalam Penelitian

Penghitungan mortalitas imago dilakukan dengan cara mengeluarkan imago dari tabung kaca ke nampan dan dipisahkan dari beras. Jumlah imago yang hidup dan yang mati dihitung, kemudian disingkirkan. Beras dimasukkan kembali ke dalam tabung kaca. Setelah itu, langsung dilakukan penghitungan jumlah telur.

Penghitungan jumlah telur *T. castaneum* dilakukan dengan cara menuangkan kembali beras dari tabung kaca ke cawan Petri. Telur *T. castaneum* berada diantara serpihan beras dan ada pula yang melekat pada beras. Telur kemudian diamati di bawah mikroskop dan dihitung satu per satu dengan menggunakan alat penghitung

tangan. Setelah dihitung, telur dan beras dimasukkan kembali ke dalam tabung kaca secara hati-hati. Tabung kaca tersebut kemudian diletakkan kembali sesuai perlakuan dan dibiarkan hingga telur menetas menjadi larva.

Penghitungan jumlah larva *T. castaneum* dilakukan tujuh hari setelah penghitungan jumlah telur atau pada hari ke-14 setelah infestasi imago pada pakan. Cara pengamatan jumlah larva sama seperti pengamatan jumlah telur. Larva kemudian dibiarkan hingga menjadi pupa.

Penghitungan jumlah pupa *T. castaneum* dilakukan dua minggu setelah penghitungan jumlah larva atau pada hari ke-28 setelah infestasi imago pada pakan. Cara pengamatan jumlah pupa sama seperti pengamatan jumlah telur dan larva. Pupa kemudian dibiarkan hingga menjadi imago baru.

Penghitungan jumlah imago baru *T. castaneum* dilakukan setiap hari sejak kemunculan imago baru pertama kali hingga tidak ada lagi imago baru yang muncul. Setelah itu, imago baru dari setiap tabung kaca diambil satu ekor secara acak dan diletakkan pada cawan Petri untuk ditimbang beratnya dengan menggunakan timbangan digital.

Pengamatan lama stadia telur *T. castaneum* diawali dengan menyiapkan tabung kaca yang diisi dengan 30 g beras varietas IR 64 dan diinfestasi dengan 15 pasang imago *T. castaneum* yang berumur sekitar dua minggu. Permukaan tabung kaca tersebut kemudian ditutup dengan kain kasa. Setelah itu, tabung kaca ditempatkan di inkubator dan ruang laboratorium sesuai perlakuan. Dua hari setelah infestasi, pakan diamati di bawah mikroskop untuk mengambil telur *T. castaneum*. Masing-masing diambil sebanyak 10 butir telur dari setiap perlakuan, kemudian diletakkan pada cawan Petri secara hati-hati dengan menggunakan kuas. Cawan Petri tersebut kemudian diberi label dan diletakkan di inkubator dan ruang laboratorium sesuai perlakuan. Pengamatan lama stadia telur dilakukan setiap hari dengan menggunakan mikroskop hingga telur menetas menjadi larva, kemudian dicatat waktunya.

Larva yang terbentuk pada hari yang sama dipindahkan ke cawan Petri dan diberi label. Pengamatan lama stadia larva dilakukan sejak larva terbentuk hingga

menjadi pupa. Cara pengamatan lama stadia larva sama seperti pengamatan lama stadia telur, kemudian dicatat waktunya.

Pengamatan lama stadia pupa dilakukan sejak pupa terbentuk hingga menjadi imago baru. Cara pengamatan lama stadia pupa sama seperti pada pengamatan lama stadia telur dan larva, kemudian dicatat waktunya.

Analisis Data

Data jumlah telur, jumlah larva, jumlah pupa, jumlah imago baru, berat imago baru, lama stadia telur, stadia larva, stadia pupa, dan total waktu perkembangan *T. castaneum* dari telur hingga menjadi imago baru dianalisis menggunakan analisis ragam pada taraf kesalahan 5%. Apabila hasil analisis tersebut menunjukkan pengaruh yang nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kesalahan 5%.

