

III METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang dan Kebun Belimbing di Desa Karang Sari, Kecamatan Sukorejo, Kabupaten Blitar. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Mei sampai Agustus 2017.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi mikroskop binokuler, kamera digital, cawan petri (d=10 cm), sangkar perbanyakan lalat buah (p=45 cm, l=35 cm, t=50 cm), sangkar perlakuan mortalitas (p=20 cm, l=15 cm, t=20 cm), sangkar perlakuan uji *repellent* (p=29 cm, l=9 cm, t=8 cm) nampan plastik besar (p=35 cm, l=27 cm, t=10 cm), nampan plastik kecil (p=20 cm, l=15 cm, t=3 cm), gelas plastik (240 ml), blender, botol semprot, kuas, dan ayakan (ukuran 2 mm²). alat tulis, spon, shaker, rotary vacuum evaporator, timbangan analitik, tabung Erlenmeyer 250 mL, gelas ukur, corong, oven, pisau, kertas label, gunting, kertas saring, gelas plastik, botol air mineral dan sumbu kompor.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kulit bawang merah didapatkan dari hasil pengumpulan limbah industri rumah tangga yang ada di Kabupaten Nganjuk, bunga krisan didapatkan dari Desa Poncokusumo, Pestisida (sipermetrin), kertas, kapas, spons, protein hidrolisat, gula, nipagen, sodium benzoate, ragi roti, gula pasir, dedak gandum, metanol, metil eugenol dan imago lalat buah.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

a. Pembuatan Ekstraksi Kulit Bawang Merah dan Bunga Krisan

Kulit bawang merah dan bunga krisan diekstraksi menggunakan metode maserasi dan evaporasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang biasa digunakan untuk ekstraksi, metode ini dilakukan dengan cara perendaman serbuk dengan pelarut yang sesuai. Proses maserasi bertujuan untuk memecah dinding sel akibat perbedaan tekanan didalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Metode ini mengekstraksi komponen tanpa pemanasan, sehingga dapat mengurangi rusaknya komponen dalam sampel. Masing-masing bahan yang telah terkumpul dibersihkan kemudian dikering anginkan hingga kering. Bahan yang telah kering dihaluskan dengan blender. Kulit bawang merah ditimbang

sebanyak 20 gram dan masukkan ke dalam botol 250 ml kemudian tambahkan pelarut metanol sebanyak 200 ml, dengan perbandingan 1:10 (Amarinta, 2015). Botol ditutup rapat supaya tidak terjadi penguapan. Kulit bawang merah diaduk menggunakan *Orbital Shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dievaporasi dengan suhu 65°C yang berfungsi untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya, sehingga didapatkan ekstrak kasar. Hasil ekstraksi disimpan pada lemari pendingin (Indrawati, 2016). Bunga krisan diekstrak dengan menggunakan metanol dan metode yang digunakan sama dengan maserasi kulit bawang merah.

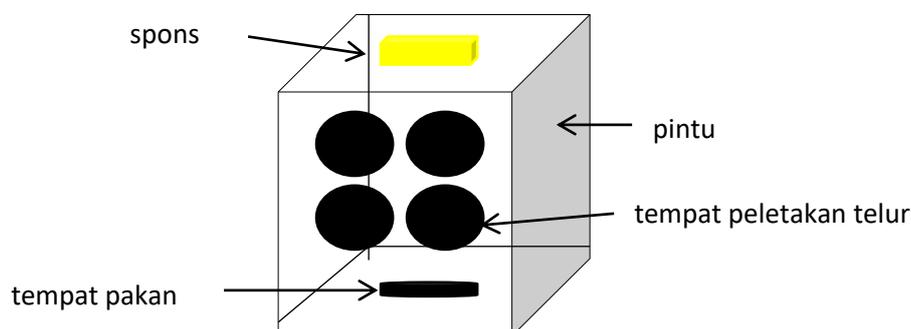
a. Perbanyak Lalat Buah

Pupa *Bactrocera carambolae* diperoleh dari Laboratorium Entomologi Dasar, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pupa ditempatkan pada sangkar perbanyakan yang telah dibuat. Sangkar perbanyakan terbuat dari kayu dengan satu pintu dan empat lubang pada dinding dengan diameter 5 cm yang berfungsi untuk peletakan telur lalat buah. Bagian atas sangkar dipasang lampu (TL 40 Watt) pada ketinggian 30 cm diatas sangkar. Fungsi pemberian lampu TL supaya lalat buah aktif bereproduksi.

Pupa *B. carambolae* akan menjadi imago kurang lebih 7 hari. Imago *B. carambolae* diberi makan buatan berupa campuran protein hidrolisat dan gula dengan perbandingan 1:4 sebagai sumber energi dan sumber protein pada lalat buah. Pakan diletakkan dalam sangkar menggunakan cawan petri dan diatas sangkar diletakkan spon jenuh air yang berfungsi sebagai air minum imago lalat buah *B. carambolae*. Setelah imago *B. carambolae* berumur 8 hari, diletakkan gelas plastik pada salah satu bagian samping sangkar sebagai tempat peletakan telur. Gelas plastik dilubangi kecil-kecil dengan diameter 0,5 mm dan diberi spon jenuh air untuk mempertahankan kelembapan telur sehingga telur tetap hidup. Gelas plastik dipasang selama 24 jam dari pukul 08.00. Telur dipanen dengan cara menyemprotkan air dengan sprayer pada permukaan gelas plastik kemudian ditampung menggunakan kain kasa hitam.

Larva *B. carambolae* diberi pakan buatan yang tercantum pada Tabel 1. Pembuatan pakan buatan pertama memanaskan akuades yang telah dicampur dengan ragi roti sampai mendidih. Setelah agak dingin, dimasukkan natrium benzoate, nipagin, gula pasir, dan dedak gandum. Pakan buatan dicampur menjadi satu dan diletakkan pada nampan plastik kecil. Nampan plastik kecil

kemudian diletakkan pada nampan plastik besar yang telah diisi dengan serbuk gergaji setebal 2 cm sebagai tempat larva instar 3 membentuk pupa dan ditutup dengan kain kasa.



Gambar 1. Sangkar Perbanyakan *B. Carambolae*

Tabel 1 Komposisi pakan buatan larva *B. carambolae* (Himawan *et al.* 2013)

Bahan	Jumlah
Gula Pasir	12 g
Natrium Benzoat	0,1 g
Dedak Gandum	26 g
Nipagen	0,1 g
Ragi Roti	3,6 g
Air	60 ml

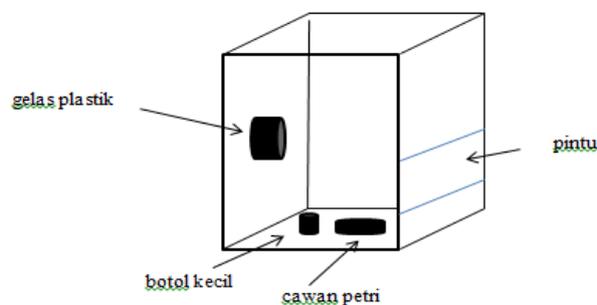
Pengumpulan pupa dilakukan setelah tujuh hari inokulasi telur dengan cara mengayak serbuk gergaji untuk memisahkan pupa dari serbuk gergaji menggunakan ayakan 2 mm. Pupa diletakkan pada cawan petri dan dimasukkan ke dalam sangkar perbanyakan.

b. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Bawang Merah Dan Bunga Krisan terhadap Mortalitas *B. carambolae* di Laboratorium

Konsentrasi ditentukan dengan uji pendahuluan terlebih dahulu. Konsentrasi Ekstrak kulit bawang merah dan Bunga Krisan yang digunakan untuk uji pendahuluan adalah 1:4, 3:4, 5:4, dan 6:4. Hasil uji pendahuluan didapatkan LC_{50} pada bunga krisan 0,5 ml dan LC_{50} kulit bawang merah adalah 0,6 ml, sehingga pada uji laboratorium tetap menggunakan konsentrasi yang sama. Konsentrasi kulit bawang merah dan bunga krisan diperoleh dengan cara mencampurkan ekstrak kedalam botol kecil berukuran 5 ml kemudian ditambahkan dengan akuades. Metode pembuatan konsentrasi ekstrak kulit bawang merah dan bunga krisan :

1. Kontrol menggunakan aquades
2. 1:4 ekstrak kulit bawang merah dan bunga krisan sebanyak 0,5 ml dicampur dengan aquades sebanyak 2 ml.
3. 3:4 ekstrak kulit bawang merah dan bunga krisan sebanyak 1,5 ml dicampur dengan aquades sebanyak 2 ml.
4. 5:4 ekstrak kulit bawang merah dan bunga krisan sebanyak 2,5 ml dicampur dengan aquades sebanyak 2 ml.
5. 6:4 ekstrak kulit bawang merah dan bunga krisan sebanyak 3 ml dicampur dengan aquades sebanyak 2 ml.

Uji pendahuluan digunakan untuk mengetahui LC_{50} dimana serangga uji mati sebanyak 50% yang kemudian digunakan untuk konsentrasi pada perlakuan uji yang dilaksanakan di Laboratorium. Penelitian di Laboratorium menggunakan sangkar perlakuan berukuran 20x15x20 cm (Gambar 9). Setiap sangkar perlakuan diinokulasikan 20 serangga uji yang terdiri dari 10 betina dan 10 jantan. Metode pengujian yang dilakukan di Laboratorium dengan cara memberikan cairan ekstrak pada botol berukuran 5 ml yang diberi sumbu kompor. Fungsi sumbu kompor agar larutan ekstrak dapat meresap dan digunakan untuk minum lalat buah. Penelitian menggunakan 5 perlakuan yang didapatkan dari uji pendahuluan dan 6 kali ulangan. Imago *B. carambolae* yang digunakan dalam penelitian ini adalah imago yang baru menetas atau keluar dari pupa serta berumur sama. Untuk memperoleh imago dengan umur sama, maka dibutuhkan pupa *B. carambolae* yang dipanen pada hari yang sama sehingga imago yang keluar pada hari sama dianggap sebagai imago yang sama umurnya.



Gambar 2. Sangkar percobaan lalat buah di Laboratorium

Pengamatan dan pengumpulan data yang dilakukan meliputi data mortalitas dan keperidian. Pengamatan hama *B. carambolae* dilakukan dengan pengamatan terhadap jumlah imago *B. carambolae* yang hidup pada awal investrasi dan jumlah yang mati pada setiap perlakuan dengan interval waktu 5 hari. Tingkat mortalitas serangga dapat dihitung menggunakan rumus :

$$M = \frac{\sum \text{Imago yang mati}}{\sum \text{total Imago yang diamati}} \times 100\%$$

M merupakan persentase mortalitas hama dalam bentuk persen (%) (Damayanti *et al.*, 2013).

Apabila pada kontrol terdapat kematian (tidak lebih dari 20%) hama *B. carambolae* maka perlu dilakukan perhitungan persen koreksi kematian dengan rumus Abbot (1987) sebagai berikut:

$$\% \text{ MT} = \frac{X-Y}{X} \times 100\%$$

MT adalah mortalitas terkoreksi, X adalah serangga yang hidup pada kontrol dan Y adalah jumlah serangga yang hidup pada perlakuan. Jika tidak terjadi mortalitas pada lalat buah maka akan dilakukan dengan pengamatan keperidian dan fertilitas lalat buah.

Keperidian *B. carambolae* merupakan jumlah telur yang diletakkan oleh imago betina selama fase hidupnya dan jumlah telur dalam ovarium. Jumlah telur *B. carambolae* yang diletakkan imago betina dihitung dan dicatat. Telur yang masih didalam ovarium diketahui dengan cara membedah abdomen imago betina. Telur yang telah diletakkan oleh imago betina dijumlahkan dengan telur yang ada dalam ovarium sehingga diperoleh jumlah telur yang dihasilkan oleh imago betina. (Widiyana, 2006).

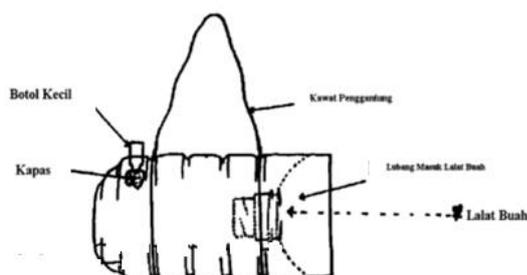
c. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Bawang Merah Dan Bunga Krisan terhadap Mortalitas *B. carambolae* di Lapang

Pengujian konsentrasi di laboratorium untuk menentukan LC₉₀ yang akan digunakan pada uji lapang. Pembuatan konsentrasi untuk pengujian dilapang :

1. 1:4 pestisida kimia berbahan aktif sipermetrin sebanyak 0,06 ml dicampur dengan metil eugenol sebanyak 0,25 ml.
2. 6:4 ekstrak pestisida nabati sebanyak 0,4 ml dicampur dengan metil eugenol sebanyak 0,25 ml.

Perangkap

dipasang pada



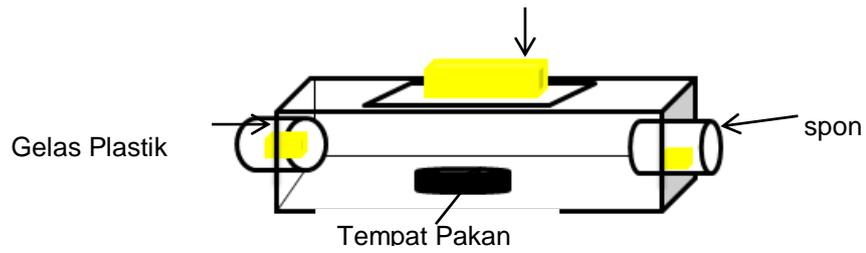
pohon belimbing dengan ketinggian rata-rata 1,5 m dipermukaan tanah. Perangkap dipasang dengan jarak pemasangan 25 m setiap perangkap.

Gambar 3. Perangkap Lalat Buah

Perangkap terbuat dari botol air mineral bekas 1,5 liter (Gambar 6). Bagian dalam botol dipasang kapas sebagai tempat peletakkan campuran ekstrak bunga krisan dan metil eugenol serta campuran pestisida berbahan aktif sipermetrin 100 g/l dan metil eugenol. Perlakuan yang digunakan pada uji lapang didapatkan dari penentuan LC_{90} uji mortalitas di Laboratorium. Perangkap lalat buah dipasang pada saat lalat buah aktif mencari makan yaitu pukul 07.00 dan diambil pada pukul 10.00 untuk diamati mortalitasnya kemudian dihitung jumlah lalat buah yang tertangkap serta yang mati. Setelah semua data terkumpul maka selanjutnya adalah melakukan identifikasi spesies lalat buah yang telah tertangkap pada perangkap yang telah dipasang.

d. Uji Repelensi Ekstrak Kulit Bawang Merah

Uji repelensi dilakukan untuk lalat buah *B. carambolae* yang sudah siap bertelur. Pengujian menggunakan 3 pasang imago lalat buah yang diletakkan pada sangkar. Uji repelensi bertujuan untuk mengetahui apakah kandungan dalam kulit bawang merah dapat menolak lalat buah betina untuk meletakkan telurnya. Tempat pengujian repelensi terbuat dari kardus berukuran 29x9x8 cm (Gambar 7). Sisi kiri dan kanan sangkar diletakkan gelas plastik yang diberi lubang-lubang kecil sebagai tempat lalat buah meletakkan telurnya. Gelas plastik diberi busa yang dibasahi dengan air untuk menjaga kelembapan pada tempat peneluran karena lalat buah cenderung menyukai tempat bertelur yang lembab. Tambahkan gula kedalam sangkar sebagai makanan lalat buah dan protein hidrolisat untuk memenuhi nutrisi lalat buah, kemudian pada bagian atas sangkar uji ditambahkan busa yang dibasahi sebagai minum lalat buah.



Gambar 4. Sangkar untuk uji repellensi

3.4 Analisis data

Data dari hasil pengamatan dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan jika hasilnya berbeda nyata pada setiap perlakuan maka diuji lanjut menggunakan BNT pada taraf kepercayaan 95%. Penentuan LC_{50} dan LC_{90} dianalisis menggunakan software Probit Hsin Chi 1997.