

III. METODE PELAKSANAAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya mulai bulan Juni hingga Desember 2017.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan Petri kaca (d=9,5 cm, t=1,5 cm), tabung kaca untuk sterilisasi pakan (d=15 cm, t=7 cm), tabung kaca perlakuan (d=6,5 cm, t=9,5 cm), kotak perbanyakan serangga (p=11,5 cm, l=11,5 cm, t=12 cm), karet gelang, kain kasa, sangkar preferensi (d=17,5 cm, t=3,5 cm), mikroskop, *hand counter*, *freezer*, lemari pendingin, kuas ukuran 00, kamera digital, nampan, saringan 50 mesh (0,297 mm), timbangan analitik, dan fial film (d=3 cm, t=3,5 cm).

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah tepung jagung varietas Pioneer 32, tepung atta, dua jenis tepung gandum protein tinggi (TGP-T1 dan TGP-T2), satu jenis tepung gandum protein sedang (TGP-S), dua jenis tepung gandum protein rendah (TGP-R1 dan TGP-R2) ragi dan imago *T. castaneum*.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

a. Penyediaan Pakan Serangga

Pakan serangga yang digunakan untuk perbanyakan adalah tepung jagung varietas Pioneer 32. Jagung varietas Pioneer 32 tersebut diperoleh dari salah satu petani di daerah Jatikerto, Malang kemudian ditepungkan. Pakan serangga yang akan digunakan untuk penelitian terdapat 6 jenis tepung gandum yaitu tepung atta (TA), dua jenis tepung gandum protein tinggi (TGP-T1 dan TGP-T2), satu jenis tepung gandum protein sedang (TGP-S), dan dua jenis tepung gandum protein rendah (TGP-R1 dan TGP-R2). Tepung gandum tersebut diproduksi oleh PT. Bogasari Flour Mills, Tanjung Perak Surabaya.

b. Sterilisasi Pakan Serangga

Sterilisasi pakan bertujuan untuk membersihkan pakan dari kontaminasi organisme lain atau benda lain. Sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi dingin. Pakan yang akan disterilisasi dimasukkan dalam tabung kaca (d=15 cm,

t=7 cm). Tabung kaca yang berisi pakan disimpan dalam *freezer* dengan suhu -15°C selama 7 hari, kemudian dipindahkan kedalam lemari pendingin dengan suhu 5°C selama 7 hari dan dipindahkan diruangan dengan suhu $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 2 minggu (Heinrichs *et al.*, 1985).

c. Analisis Proksimat Pakan

Analisis proksimat pakan dilaksanakan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian (FTP), Universitas Brawijaya (UB), dengan tujuan untuk mengetahui persentase kandungan protein, lemak, karbohidrat, kadar air dan abu yang terdapat pada pakan yang akan digunakan untuk penelitian.

d. Analisis Fenol Pakan

Analisis fenol pakan dilaksanakan di Laboratorium Uji Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian (FTP), Universitas Gadjah Mada (UGM). Analisis fenol pakan bertujuan untuk mengetahui tingkat fenol total yang merupakan salah satu senyawa volatil yang dikeluarkan oleh pakan yang dapat mempengaruhi ketertarikan serangga dalam memilih pakan.

e. Perbanyak Serangga

Serangga *T. castaneum* yang digunakan untuk perbanyak diperoleh dari koleksi Laboratorium Hama Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Sebelum diperbanyak, serangga diidentifikasi terlebih dahulu untuk menentukan bahwa spesies yang diperbanyak adalah *T. castaneum*. Serangga *T. castaneum* memiliki ciri morfologi yang hampir sama dengan *T. confusum*. Untuk membedakan kedua serangga tersebut dapat dengan mudah dilihat dari bentuk antena. Antena *T. castaneum* membesar pada tiga segmen terakhir sedangkan antena *T. confusum* membesar secara teratur mulai dari pedikel hingga ujung segmen (Calvin, 2001).

Serangga *T. castaneum* diperbanyak pada kotak perbanyak serangga (p=11,5 cm, l=11,5 cm, t=12 cm). Sebanyak 100 imago *T. castaneum* tanpa dibedakan jenis kelaminnya diinfestasikan pada 200 g pakan berupa campuran tepung dan ragi. Perbandingan antara tepung dan ragi adalah 95% : 5% (Islam dan Roy, 1981; Mendoza *et al.*, 2011). Kotak perbanyak ditutup dengan menggunakan kain kasa dan dibiarkan selama satu minggu untuk memberi waktu oviposisi pada serangga. Setelah satu minggu imago dikeluarkan dari

kotak perbanyakan (Heinrichs *et al.*, 1985). Telur yang diletakkan oleh imago *T. castaneum* pada kotak perbanyakan dibiarkan hingga menjadi pupa. Setelah telur menjadi pupa, dilakukan pemisahan antara *T. castaneum* jantan dan betina dengan melihat bentuk *genital papillae*. *Genital papillae* betina lebih besar daripada *Genital papillae* jantan. Pada pupa betina terdapat struktur menyerupai dua jari pada ujung posterior abdomen sedangkan pupa jantan terdapat struktur seperti satu ujung jari (Sreeramoju *et al.*, 2016). Setelah pupa jantan dan betina selesai diidentifikasi, pupa diletakkan pada tabung yang berbeda dan dibiarkan hingga menjadi imago baru. Imago baru yang telah berumur 1-2 minggu siap digunakan untuk penelitian (Heinrichs *et al.*, 1985).

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari penelitian preferensi, pertumbuhan populasi dan perkembangan *T. castaneum* yang diberi pakan enam tepung gandum yang memiliki kandungan nutrisi berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Perlakuan Enam Jenis Pakan *T. castaneum*

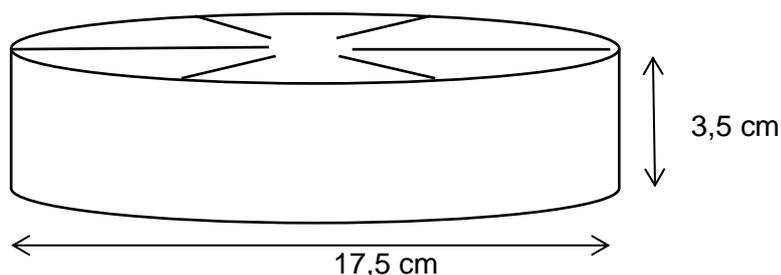
Kode Perlakuan	Jenis Pakan
P1	Tepung Atta
P2	Tepung Gandum Protein Tinggi 1 (TGP-T1)
P3	Tepung Gandum Protein Tinggi 2 (TGP-T2)
P4	Tepung Gandum Protein Sedang (TGP-S)
P5	Tepung Gandum Protein Rendah 1 (TGP-R1)
P6	Tepung Gandum Protein Rendah 2 (TGP-R2)

a. Preferensi *T. castaneum* pada Berbagai Jenis Tepung Gandum

Penelitian preferensi menggunakan metode *free choice test* yang bertujuan untuk mengetahui preferensi hadir imago *T. castaneum* pada berbagai jenis tepung gandum. Penelitian preferensi ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan empat ulangan pada sangkar preferensi. Sangkar preferensi berbentuk lingkaran yang dibagi menjadi enam ruang untuk setiap jenis perlakuan pakan. Pada masing-masing ruang diletakkan pakan sebanyak 30 g dan pada bagian tengah diinfestasikan 30 pasang imago *T. castaneum* (Heinrichs *et al.*, 1985). Sangkar preferensi kemudian ditutup menggunakan kain kasa untuk mencegah masuknya serangga lain dan keluarnya imago *T. castaneum* yang telah diinfestasikan.

Imago *T. castaneum* diinfestasikan selama tujuh hari pada sangkar preferensi kemudian imago dan pakan dikeluarkan dan diletakkan pada tabung

kaca yang berbeda. Pada penelitian preferensi variabel yang diamati adalah jumlah imago yang hadir pada masing-masing perlakuan dan dibedakan antara jumlah imago jantan, betina, jantan dan betina yang hadir, jumlah telur yang diletakkan serta jumlah imago baru *T. castaneum*. Pengamatan jumlah imago jantan, betina, jantan dan betina yang hadir, serta jumlah telur yang diletakkan ini dilakukan tujuh hari setelah infestasi (HSI). Sedangkan jumlah imago baru diamati pada 30 HSI.



Gambar 1. Sangkar Preferensi yang Digunakan untuk Penelitian Preferensi

b. Pertumbuhan Populasi dan Perkembangan *T. castaneum* pada Berbagai Jenis Tepung Gandum

Metode yang digunakan dalam penelitian pertumbuhan Populasi dan perkembangan *T. castaneum* adalah metode *no choice test* yang dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian pertumbuhan menggunakan enam perlakuan dan lima ulangan. Sebanyak 30 g pakan dimasukkan kedalam tabung kaca (d=6,5 cm, t=9,5 cm) dan diinfestasikan 15 pasang imago *T. castaneum* dari hasil perbanyakan (Heinrichs *et al.*, 1985). Tabung kaca yang berisi pakan dan imago *T. castaneum* ditutup menggunakan kain kasa. Setelah tujuh hari imago *T. castaneum* dipisahkan dari pakan. Variabel yang diamati dalam penelitian pertumbuhan meliputi mortalitas imago, jumlah telur, jumlah larva, jumlah pupa, jumlah imago baru, berat imago baru dan indeks pertumbuhan hama. Indeks pertumbuhan dihitung dengan menggunakan rumus (Howe, 1971; Shires, 1979) sebagai berikut:

$$\text{Indeks Pertumbuhan (\%)} = \frac{\text{Log S}}{\text{T}} \times 100$$

dengan S adalah imago baru yang terbentuk

T adalah waktu perkembangan dari telur sampai menjadi imago

Variabel yang diamati pada penelitian perkembangan adalah lama stadium telur, lama stadium larva, lama stadium pupa, lama perkembangan pra dewasa dan siklus hidup *T. castaneum*.

Pengamatan mortalitas imago dan jumlah telur dilakukan pada 7 HSI, pengamatan jumlah larva dan jumlah pupa dilakukan pada 23 dan 28 HSI. Sedangkan jumlah imago dihitung sejak kemunculan imago pertama hingga tidak muncul imago baru lagi. Penghitungan berat larva, berat pupa dan berat imago dilakukan dengan cara mengambil sampel sebanyak 10 ekor pada setiap perlakuan kemudian dihitung berat rata-rata setiap sampel dengan menggunakan persamaan rerata berat sebagai berikut:

$$\text{Rerata Berat (mg)} = \frac{\sum \text{Berat 10 sampel (mg)}}{\text{Banyak sampel}}$$

Pengamatan stadium telur dilakukan dengan cara mengambil 10 butir telur *T. castaneum* dari imago hasil penelitian pertumbuhan populasi yang telah berumur dua minggu kemudian diinfestasi selama satu hari pada masing-masing perlakuan. Telur pada tepung diambil dengan menggunakan saringan nylon berukuran 50 mesh (0,297 mm). Stadium telur diamati setiap hari hingga telur menetas menjadi larva. Larva kemudian dipindahkan ke dalam fial film (d=3 cm, t=3 cm), setiap fial film diinfestasikan satu larva. Pengamatan stadium larva diamati setiap hari sejak larva terbentuk hingga menjadi pupa. Pengamatan stadium pupa dilakukan setiap hari sejak pupa terbentuk hingga menjadi imago baru. Pengamatan lama perkembangan pra dewasa dilakukan mulai dari telur hingga menjadi imago baru. Pengamatan siklus hidup dilakukan dari telur hingga imago meletakkan telur pertama kali. Fial film yang digunakan untuk penelitian diberi label untuk mencatat waktu perkembangan masing-masing stadium.

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 maka diuji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kesalahan 5% menggunakan perangkat lunak Microsoft Office Excel 2010 dengan program tambahan DSAASTAT versi 1.101. Uji normalitas data menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics 20.