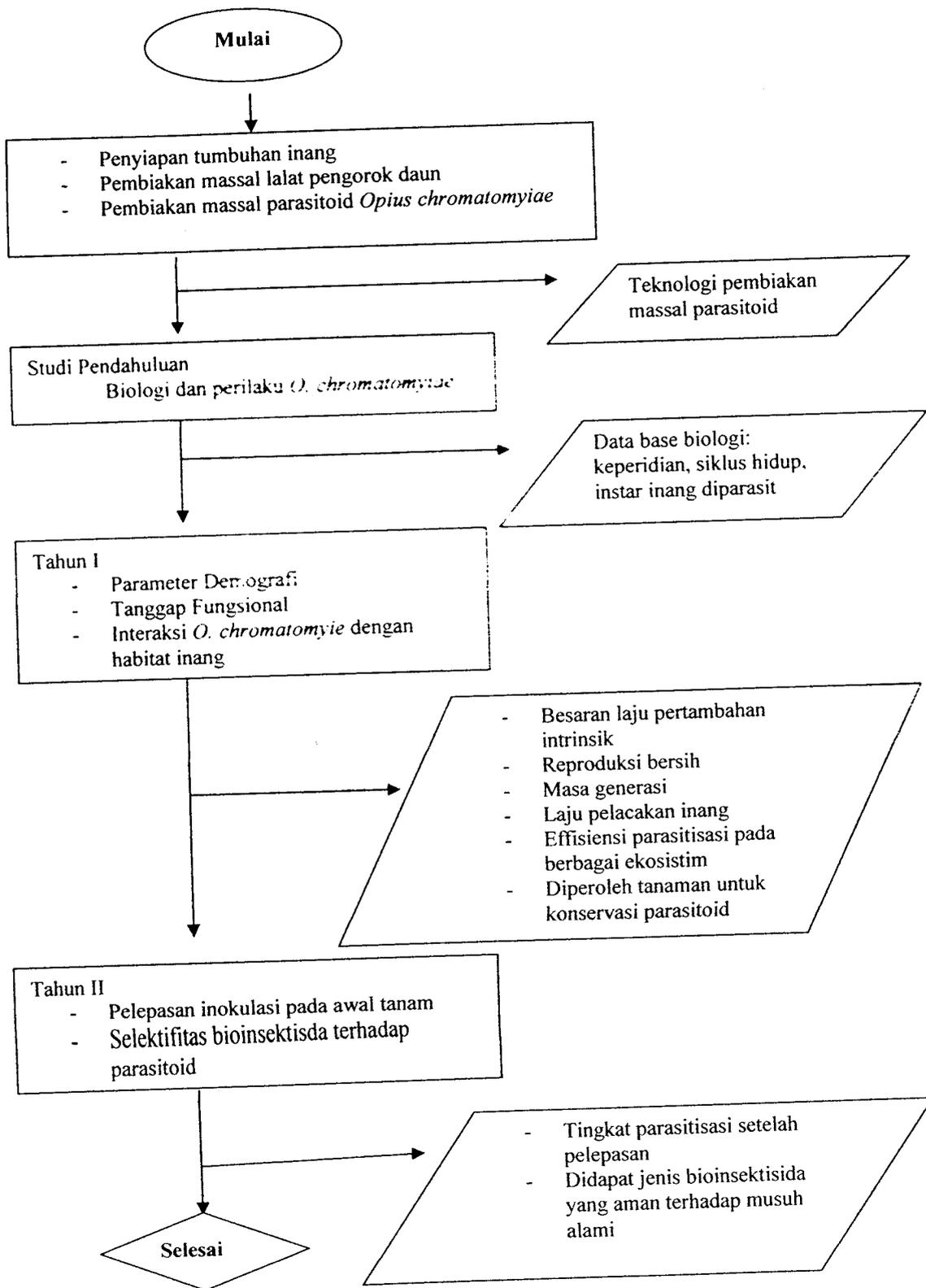


## BAB IV. METODE PENELITIAN

### 4.1. Bagan Alur Penelitian



Gambar 1. Bagan alur penelitian pemanfaatan parasitoid *Opius chromatomyiae*

## 4.2 Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioekologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor dan Sentra Pertanian Sayuran Dataran Tinggi, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat.

## 4.3. Persiapan Penelitian

### 4.3.1. Penyiapan Tumbuhan Inang

Tumbuhan inang yang digunakan untuk membiakkan *L. huidobrensis* adalah kacang jogo. Benih di tanam dalam polibag (tinggi 20 cm, diameter 13 cm) dengan menggunakan medium tanah yang dicampur pupuk kandang dengan perbandingan 3:1. Bibit tanaman disiram setiap hari agar tumbuh subur. Untuk keperluan pembiakan *L. huidobrensis* akan digunakan bibit yang berumur 14 hari, yaitu yang memiliki empat helai daun yang telah berkembang sempurna.

### 4.3.2. Pembiakan Massal Lalat Pengorok Daun

Lalat pengorok daun, *L. huidobrensis*, akan dibiakkan dalam kurungan berkerangka kayu yang berukuran panjang 80 cm, lebar 40 cm dan tinggi 65 cm. Alas kurungan terbuat dari papan kayu sebagai tempat untuk meletakkan tanaman. Bagian samping kurungan terbuat dari kain kasa, sedangkan bagian depan dan belakang serta atas terbuat dari lembaran plastik bening. Pada bagian depan terdapat pintu untuk memasukkan tanaman dan serangga.

Ke dalam kurungan pembiakan dimasukkan delapan polibag tanaman kacang jogo, dan selanjutnya dimasukkan populasi lalat pengorok daun hasil pengumpulan dari lapangan. Setelah 24 jam, tanaman yang telah diteluri oleh lalat pengorok daun dikeluarkan dan diganti dengan tanaman yang baru. Selama dalam pembiakan lalat diberi makan larutan madu 10% yang diresapkan pada kapas yang digantung dengan benang pada atap kurungan.

Tanaman yang telah diinfestasi telur *L. huidobrensis* dimasukkan ke dalam kurungan pembiakan lain yang bebas serangga, dan dipelihara hingga telur menetas menjadi larva. Menjelang larva keluar dari korokan untuk berkepompong, tangkai daun dipotong dan daun kemudian disimpan dalam wadah plastik bercorong (tinggi 15 cm, diameter 24 cm). Imago *L. huidobrensis* yang muncul dan terkumpul pada corong lalu digunakan lagi untuk pembiakan.

Sebagian dari tanaman yang telah terinfestasi larva pengorok digunakan untuk pembiakan parasitoid seperti diuraikan di bawah ini.

#### **4.3.3. Pembiakan Massal Parasitoid *Opius chromatomyiae***

Parasitoid *O. chromatomyiae* akan dipelihara dalam kurungan pembiakan, dan diberi larutan madu 10% sebagai makanan. Ke dalam kurungan kemudian dimasukkan sebanyak delapan polibag tanaman kacang jogo yang daunnya telah terinfestasi larva *L. huidobrensis* instar-3. Setelah 24 jam tanaman dikeluarkan dari kurungan dan diganti dengan tanaman yang baru. Larva instar-3 yang telah diparasit dimasukkan ke dalam kurungan pembiakan lain yang bebas serangga. Setelah larva membentuk pupa (sekitar 7 hari), tanaman kacang jogo dipotong dan dimasukkan ke dalam wadah plastik. Parasitoid yang muncul digunakan untuk percobaan.

#### **4.4. Parameter Demografi *Opius chromatomyiae* parasitoid lalat pengorok daun**

Untuk menentukan sintasan pradewasa ke dalam sebuah kurungan kasa yang berisikan lebih kurang 100 imago *O. chromatomyiae*, dimasukkan sebanyak dua puluh tanaman (10 pot), dengan masing-masing tanaman terinfestasi oleh sekitar 20-30 larva inang instar-3. Pemasaran dilakukan berlangsung selama 2 jam (pk. 9.00-11.00 WIB). Setiap tanaman kemudian dipindahkan ke kurungan lain dan selanjutnya dipelihara. Setiap hari perkembangan dan mortalitas pradewasa *O. chromatomyiae* akan diamati dengan membedah korokan dan inang (larva atau pupa) di bawah mikroskop binokuler.

Untuk menentukan sintasan imago dan banyaknya keturunan, sepasang imago *O. chromatomyiae* yang baru muncul dimasukkan ke dalam kurungan stoples yang berisi daun kacang merah dengan sekitar 15 larva inang. Setiap 24 jam dilakukan penggantian larva inang sampai imago parasitoid mati. Jantan yang mati segera diganti dengan yang baru. Percobaan dilakukan pada 20 imago betina. Telur yang diletakkan setiap hari diperiksa dengan membedah korokan dan inang (larva atau pupa) di bawah mikroskop dan dihitung jumlahnya.

Parameter demografi *O. chromatomyiae* akan diduga dengan menggabungkan data perkembangan dan sintasan pradewasa, data masa hidup

imago dan reproduksi, serta data nisbah kelamin seperti yang dilakukan oleh Lysyk (2000). Usia sejak lahir hingga mati dihitung sebagai  $x_t$  (masa perkembangan pradewasa + usia imago saat mati,  $x$ ). Sintasan dari saat lahir hingga usia  $x_t$  ( $l_{x_t}$ ) ditentukan sebagai hasil perkalian sintasan pradewasa dengan sintasan sejak imago muncul hingga berumur  $x$ . Parameter demografi yang akan dihitung adalah (Lysyk 2000):

$$\text{Laju reproduksi bersih (Ro)} = \sum l_{x_t} \cdot m_{x_t}$$

$$\text{Masa generasi (T)} = \sum x_t \cdot l_{x_t} \cdot m_{x_t} / \text{Ro}$$

Laju pertumbuhan intrinsik ( $r$ ) akan diduga secara iterasi dengan persamaan

$$\sum e^{rx_t} \cdot l_{x_t} \cdot m_{x_t} = 1$$

#### 4.5. Tanggapan Fungsional Parasitoid *Opius chromatomyiae* Terhadap Peningkatan Kelimpahan Larva Inang

Ke dalam cawan petri (diameter 15 cm) akan dimasukkan sehelai daun kacang jogo yang terserang larva pengorok instar-3. Sepasang parasitoid yang berumur 3 hari kemudian dimasukkan ke dalam petri selama 24 jam. Pupa inang yang terbentuk akan didiseksi untuk menentukan apakah terparasit atau tidak. Dalam percobaan ini, banyaknya larva inang yang akan diuji adalah 2, 4, 8, 10, 12, 16, 20, 24, dan 30 ekor. Percobaan akan diulang sebanyak 10 kali.

Tanggapan fungsional parasitoid akan dianalisis dalam dua tahap seperti yang disarankan oleh Juliano (1993). Untuk menentukan bentuk tanggapan fungsional akan dilakukan regresi logistik antara kerapatan inang dengan proporsi inang yang diparasit atau diparalisis, dengan menggunakan prosedur CATMOD dari program SAS (SAS Institute 1990). Regresi logistik ini berguna untuk membedakan antara tanggapan fungsional tipe-2 dengan tipe-3. Setelah bentuk tanggapan fungsional yang sesuai dapat ditetapkan, maka kemudian akan digunakan regresi non-linear untuk menduga parameter dari model tanggapan fungsional. Karena larva yang telah diparasit diperkirakan tidak akan dikunjungi lagi oleh parasitoid, maka model tipe-2 yang sesuai adalah yang mengandung unsur acak (Rogers 1972) sebagai berikut:

$N_a = N_o(1 - \exp[a(ThN_a - T)])$ , dengan

$N_a$  = banyaknya larva inang yang diparasit atau diparalisis/diisap

$N_o$  = banyaknya larva inang yang disediakan

$a$  = laju pencarian inang

$T$  = lama waktu inang terpapar pada parasitoid

$Th$  = lama waktu penanganan

Untuk model tipe-3, nilai  $a$  tergantung pada kerapatan inang ( $N_o$ ) yaitu  $a = (d + bN_o)/(1 + cN_o)$ , dengan  $b$ ,  $c$ ,  $d$  adalah konstanta (Juliano 1993). Oleh karena itu persamaan tanggap fungsional tipe-3 adalah:

$$N_a = N_o(1 - \exp[(d + bN_o)(ThN_a - T)/(1 + cN_o)])$$

Parameter-parameter tersebut ( $a$ ,  $Th$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$ ) akan diduga secara iterasi dengan metode Newton (Juliano 1993), dengan menggunakan prosedur PROC NLIN dari SAS (SAS Institute 1990).

#### 4.6. Interaksi Parasitoid *Opius chromatomyiae* dengan Habitat Inang

**Survei tingkat parasitisasi pada berbagai ekosistem sayuran.** Survei akan dilaksanakan di wilayah pertanaman sayuran di daerah Bogor dan Cianjur. Untuk maksud tersebut setiap minggu, daun-daun tumbuhan sayuran dan tumbuhan liar yang memperlihatkan gejala korokan oleh *Liriomyza* spp. akan dikumpulkan. Contoh daun kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik yang berisi kertas tisu. Di laboratorium daun-daun dibersihkan dengan kuas halus untuk menghilangkan kotoran dan serangga yang menempel pada daun. Setelah itu daun dimasukkan ke dalam wadah plastik (diameter 30 cm, tinggi 15 cm) yang didalamnya diberi kawat peyangga agar daun sampel tanaman tidak cepat membusuk. Pada bagian alas wadah diberi kertas tisu agar air dari daun yang mengembun dapat terserap dan tidak mengakibatkan busuknya daun. Setiap wadah diisi dengan 10 - 20 helaian daun, tergantung kepada ukuran daun sampel. . Setiap wadah diamati setiap hari, dan banyaknya parasitoid *O. chromatomyiae* dan parasitoid lainnya serta lalat pengorok daun yang muncul dihitung. Seluruh serangga yang muncul daun contoh akan dimasukkan ke dalam vial berisi alkohol 70% untuk kemudian diidentifikasi. Dari survei ini diharapkan dapat ditentukan tingkat parasitisasi *O. chromatomyiae* dan parasitoid lainnya untuk setiap jenis tumbuhan inang.

**Efisiensi Parasitisasi pada Berbagai Habitat Inang.** Habitat inang yang akan diuji dalam penelitian ini adalah tanaman ketimun, kacang jogo, tomat, dan caylan dan bawang daun. Masing-masing tanaman inang ditanam dalam polibag. Pada saat tanaman berumur 3-5 minggu, 10 polibag tanaman inang masing-masing dimasukkan ke dalam kurungan kasa 1 x 1 x 1 m secara terpisah. Ke dalam tiap kurungan kemudian dimasukkan 50 pasang imago *L. huidobrensis* yang berumur empat hari. Setelah 24 jam, tanaman dikeluarkan dan disimpan dalam kurungan lain yang bebas serangga. Setelah tanaman menunjukkan gejala korokan instar-3 (kira-kira 4 hari setelah infestasi), masing-masing satu polibag tanaman dimasukkan ke dalam kurungan (1 m x 1 m x 1 m). Kemudian ke dalam tiap kurungan tadi segera dimasukkan 5 pasang imago parasitoid *O. chromatomyiae* selama 24 jam. Kemudian tanaman dipelihara dan larva yang muncul dari tanaman di ambil dan dipelihara sampai parasitoid muncul serta dihitung jumlah liriomyza dan parasitoid yang muncul. Dalam percobaan ini banyaknya larva inang pada tiap jenis tanaman uji akan diupayakan seragam (total sekitar 40 ekor larva *L. huidobrensis*) Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima ulangan. Analisis ragam akan diterapkan untuk menguji pengaruh perbedaan habitat inang terhadap efisiensi parasitisasi, yang akan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5% untuk membandingkan perbedaan parasitisasi antar habitat inang.