

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat percobaan

Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Siliwangi kampus II Mugarsari, berlangsung mulai bulan Oktober sampai November 2021.

3.2 Alat dan bahan percobaan

Alat yang digunakan dalam pembuatan pestisida nabati ekstrak daun kipahit (*Tithonia diversifolia*) diantaranya adalah pisau, nampan, saringan, gelas ukur, blender, oven, botol, corong, pengaduk, kertas saring, *rotary evaporator*, toples, jaring, karet, kapas, timbangan analitik dan kertas.

Bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah daun kipahit, etanol 96%, aquades, perekat, madu, larva ulat bawang (*Spodoptera exigua*) dan daun bawang merah bebas pestisida.

3.3 Metode penelitian

Percobaan ini dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan dan diulang sebanyak 4 kali sehingga terdapat 24 plot. Adapun susunan perlakuan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- p0 : konsentrasi 0% (kontrol)
- p1 : konsentrasi 4,5% ekstrak daun kipahit
- p2 : konsentrasi 5,5% ekstrak daun kipahit
- p3 : konsentrasi 6,5% ekstrak daun kipahit
- p4 : konsentrasi 7,5% ekstrak daun kipahit
- p5 : konsentrasi 8,5% ekstrak daun kipahit

Berdasarkan rancangan yang digunakan, maka dapat dikemukakan model linear dengan rumus :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke – j

μ = rata-rata umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke- j

ε_{ij} = pengaruh acak pada perlakuan ke – j ulangan ke – j

Dari model linier tersebut selanjutnya dilakukan pengujian analisis sidik ragam dengan menggunakan tabel ANOVA

Tabel 1. Daftar sidik ragam

Sumber keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F tabel 0.5
Perlakuan (k)	5	$\frac{\Sigma(Y_{ij})^2}{r} - FK$	$\frac{JKP}{DbP}$	$\frac{KTP}{KTG}$	2,77
Galat (g)	18	JKT-JKp	$\frac{JGK}{DbG}$		
Total (T)	23	$\Sigma(x_{ij})^2 - FK$			

Sumber: Gomez dan Gomez (2007)

Kaidah pengambilan keputusan didasarkan pada nilai F hitung yang dibandingkan dengan nilai F tabel (uji F) sebagai berikut :

Tabel 2. Kaidah pengambilan keputusan

Hasil Analisis	Analisis	Kesimpulan Percobaan
F hit \leq F 0,05	Tidak Berbeda Nyata	Tidak ada perbedaan pengaruh antar perlakuan
F hit $>$ F 0,05	Berbeda Nyata	Terdapat perbedaan pengaruh antar perlakuan

Jika hasil analisis keragaman menunjukkan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5% dengan rumus sebagai berikut :

$$LSR = SSR (\alpha, dbg, p) \cdot S_x$$

Untuk mencari S_x dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$S_x = \sqrt{\frac{KT \text{ Galat}}{r}}$$

Keterangan :

LSR = *Least Significant Range*

SSR = *Studentized Significant Range*

KTG	= Kuadrat Tengah Galat
α	= Taraf Nyata
<i>dbg</i>	= Derajat Bebas Galat
<i>p</i>	= Range (Perlakuan)
Sx	= Simpangan baku rata rata perlakuan

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Pembuatan ekstrak daun kipahit

Daun kipahit diperoleh dari Majalengka sebanyak 10 kg dicuci dan dikering anginkan dalam suhu ruang lalu dioven pada suhu 50°C selama 3 hari. Daun yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, serbuk diayak menggunakan pengayak kasa, menghasilkan 1000 gram serbuk daun kipahit.

Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak daun kipahit adalah metode maserasi (Dadang dan Prijono, 2008), maserasi dilakukan sebanyak 2 kali dengan perbandingan setiap kalinya 1:10 (w/v) selama 24 jam. Serbuk daun kipahit direndam dengan 10 L larutan etanol 96% selama 24 jam sambil sesekali di aduk lalu disaring dengan kertas saring (filtrat 1). Residu direndam lagi dengan 10 L etanol 96% selama 24 jam sambil sesekali diaduk lalu disaring (filtrat 2). Hasil saringan diuapkan menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 50°C dan tekanan 240 mbar sehingga diperoleh ekstrak daun kipahit, ekstrak yang diperoleh disimpan dalam lemari es pada suhu 4°C (Firmansyah, Dadang dan Anwar, 2017).

3.4.2 Penyediaan ulat bawang

Indukan ulat bawang diperoleh dari Brebes Jawa Tengah diperbanyak di Balai Penelitian Tanaman Sayuran (BALITSA) Lembang. ulat bawang dipelihara dalam toples plastik yang atasnya ditutup dengan kain tile. Larva diberi pakan daun kubis bunga yang bebas pestisida. Saat memasuki stadia pupa, toples dialasi dengan serbuk gergaji yang halus, selanjutnya dialasi kembali dengan kertas. Imago yang muncul dipindahkan ke dalam tempat rearing dan diberi pakan berupa madu dengan cara kapas yang telah dicelupkan dalam madu digantung didalam kotak rearing, tanaman kubis bunga disimpan kedalam kotak rearing agar imago

dapat hinggap dan menyimpan telurnya. Saat telur menetas, ulat bawang dipelihara sampai instar ke 3, setelah instar ke 3 ulat bawang dipanen lalu dijadikan sebagai objek percobaan (Rifai dkk, 2016).

3.4.3 Penyediaan pakan

Pakan ulat bawang pada saat percobaan menggunakan daun bawang merah yang bebas pestisida dan tidak terserang hama ataupun penyakit. Untuk memenuhi kebutuhan pakan, bawang merah ditanam di dalam *greenhouse*, saat berumur 2 minggu bawang merah dipindahkan ke luar ruangan. Setiap akan dilakukan pergantian pakan, daun bawang merah dipanen dan dicuci pada air yang mengalir. Pergantian pakan dilakukan setiap 24 jam selama 5 hari.

3.4.4 Pelaksanaan penelitian

Uji pendahuluan bertujuan untuk menentukan LC_{50} dilakukan dengan cara memberikan daun bawang merah yang sudah diberi perlakuan kedalam toples yang sudah berisi larva ulat bawang instar ke 3 (Yudiawati, 2019). Taraf konsentrasi uji pendahuluan diambil berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sapotro dkk, (2019) yaitu 0%, 3%, 6%, 9%, 12% dan 15%, pengamatan dilakukan setiap 24 jam, selama 5 hari.

Data yang didapat dari hasil pengamatan uji pendahuluan digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} ekstrak daun kipahit dengan cara membandingkan banyaknya ulat bawang yang mati dengan jumlah ulat bawang yang diujikan dikali dengan 100%, lalu mencari garis regresi probit. Hasil LC_{50} tersebut digunakan untuk pengujian lanjutan pada ulat bawang, cara pengujian lanjutan menurut Sumampouw (2012) adalah dengan memotong daun sepanjang 5 cm dan ditimbang sebanyak 3 gram untuk setiap toples, daun dicelupkan ke dalam masing masing konsentrasi dengan volume tiap perlakuan sebanyak 100 ml dan dibiarkan selama 1 menit lalu dikering anginkan menggunakan kertas. Larva uji dipuaskan selama 5 jam, selanjutnya 10 ekor larva uji dimasukkan ke dalam masing-masing toples diikuti dengan memasukkan daun bawang merah yang telah diberi perlakuan, toples ditutup dengan kain tile dan diikat menggunakan karet. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam sekali selama 5 hari.

3.5 Parameter pengamatan

3.5.1 Pengamatan penunjang

a) Suhu dan kelembaban

Suhu dan kelembaban diukur menggunakan *Thermohygrometer* untuk mengetahui kondisi lingkungan yang dijadikan tempat pengujian ulat bawang.

b) Analisis GC-MS ekstrak daun kipahit

Analisis menggunakan uji GC-MS (Gas Kromatografi Masa Spektroskopis) digunakan untuk mengetahui dan mengukur jenis kandungan senyawa dalam suatu sampel baik secara kualitatif dan kuantitatif.

3.5.2 Pengamatan utama

Pengamatan utama adalah pengamatan yang dilakukan pada setiap variabel dan datanya dianalisis secara statistik untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan yang dilakukan. Adapun variabel pengamatan utama terdiri dari:

a) Mortalitas larva ulat bawang

Larva dari ulat bawang yang mati dihitung setiap 24 jam sekali, dibandingkan dengan jumlah hama yang ada selama 5 hari, lalu dinyatakan dalam bentuk persentase. Untuk menghitung persentasenya dihitung dengan menggunakan rumus Abbot (1925) dalam Hastuti, Rusbana dan Hidayatullah (2017) sebagai berikut:

$$P = \frac{r}{n} \times 100 \%$$

Keterangan :

P = mortalitas larva

r = jumlah larva yang mati setelah perlakuan

n = jumlah seluruh larva yang dipelihara

Jika dalam waktu 5 hari tidak ditemukan kematian pada setiap perlakuan maka pestisida tersebut tidak efektif dan apabila dalam perlakuan kontrol terjadi kematian antara 5% sampai 20% dilakukan penghitungan menurut formula *Abbot* (WHO, 1975) dalam Fuadzy dan Hendri (2015) sebagai berikut :

$$P_t = \frac{P_o - P_c}{100 - P_c} \times 100\%$$

Keterangan:

Pt = persentase banyaknya larva yang mati setelah dikoreksi

Po = persentase banyaknya larva yang mati pada perlakuan

Pc = persentase banyaknya larva yang mati pada kontrol

b) Intensitas serangan larva ulat bawang

Pengamatan intensitas serangan bertujuan untuk mengetahui jumlah pakan yang dikonsumsi oleh larva ulat bawang setiap 24 jam setelah perlakuan. Sisa pakan yang tidak termakan setelah 24 jam ditimbang dengan timbangan analitik. Intensitas serangan dihitung dengan rumus :

$$I = \frac{bo - bt}{bo} \times 100 \%$$

Keterangan :

I = intensitas serangan

bo = bobot daun awal (gram)

bt = bobot daun setelah 24 jam (gram)

c) Penurunan aktivitas makan ulat bawang

Pengamatan dimulai dengan menimbang bobot pakan (daun bawang merah) yang habis dimakan larva ulat bawang. Variabel ini digunakan untuk mengetahui tingkat palatabilitas ulat bawang yang diamati berdasarkan tingkat penurunan persentase aktivitas makan yang dihitung dengan rumus (Pujiono, 1988 *dalam* Setiawan dan Supriyadi 2014) sebagai berikut:

$$P = 1 - \left(\frac{T}{C}\right) \times 100\%.$$

Keterangan :

P : Persentase penurunan aktivitas makan

T : bobot pakan yang dimakan dari perlakuan

C : Bobot pakan yang dimakan dari kontrol