

## **I. MATERI DAN METODE**

### **1.1. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2014 di Laboratorium Patologi, Entomologi dan Mikrobiologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.

### **1.2. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain adalah larva instar 3 ulat grayak, buah sirih hutan (*Piper aduncum* L.), pakan serangga uji, aquades, serbuk gergaji, dan methanol p.a.

Alat yang digunakan diantaranya adalah blender, kotak plastik, plastik, spatula, beaker glas, timbangan analitik, ayakan, tabung gelas, karet, botol semprot, pipet volume, kertas saring, kertas label, alat tulis, pisau, kain kasa, Erlenmeyer, seperangkat alat destilasi, batang pengaduk, cawan petri, nampan, pinset, botol gelap, corong, kuas lukis, tisu, dan kamera.

### **1.3. Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan faktor pertama berupa metode perlakuan, terdiri dari: M1 = metode celup daun dan M2 = metode kontak tabung gelas. Faktor kedua berupa konsentrasi (P), terdiri dari:  $P(0) = 0\%$ ;  $P(1) = 2,5\%$ ;  $P(2) = 5\%$ ;  $P(3) = 7,5\%$ ; dan  $P(4) = 10\%$ . Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga didapat kombinasi perlakuan sebanyak 30 unit perlakuan.

Selanjutnya analisa dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (UJD) pada taraf 5%. Parameter yang diamati dalam penelitian ini antara lain: Mortalitas larva harian (%) dan perilaku larva setelah perlakuan.

#### **1.4. Pelaksanaan Penelitian**

##### **1.4.1. Persiapan Pestisida Nabati Sirih Hutan**

Ekstraksi buah sirih hutan dilakukan dengan menggunakan metanol. Buah sirih hutan ini diperoleh dari desa Paloh, Kec. Merangin, Kab. Bangkinang Barat, Riau. Buah yang telah dipetik, kemudian dikeringanginkan selama 12 hari pada suhu ruangan tanpa terkena sinar matahari secara langsung. Buah yang telah kering kemudian dicincang dengan menggunakan pisau sampai menjadi potongan yang kecil-kecil. Hasil dari cincangan tersebut kemudian dibuat tepung atau dihaluskan dengan menggunakan blender dengan kondisi kering. Setelah diblender, maka serbuk tepung tersebut dimasukkan ke dalam kotak plastik kemudian dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan berjalin 0,5 mm. Tepung buah sirih hutan ditimbang dengan menggunakan timbangan digital dengan berat 100 gram. Tepung tersebut kemudian dilarutkan dengan menggunakan 1000 ml methanol 50% dan dimaserasi selama 24 jam dalam beaker glas yang ditutup dengan alumunium foil. Hasil pelarutan tersebut kemudian disaring dengan menggunakan corong yang dialasi kertas saring. Ekstrak hasil saringan kemudian didestilasi pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 3 jam. Hasil penelitian Tohir (2010) menyatakan bahwa pelarut yang baik untuk mengekstrak bahan nabati adalah metanol dengan penurunan aktifitas makan rata-rata 41,30%.

#### **1.4.2. Pembiakan Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.)**

Berdasarkan penelitian Laoh *et al.* (2003) pembiakan ulat grayak dilakukan dengan menetasakan telur ulat grayak di dalam kotak plastik yang bagian atasnya ditutup dengan menggunakan kain kasa. Telur larva ulat grayak diambil dari kebun sayur-sayuran yang berada di desa Buana Makmur, Kec. Dayun, Kab. Siak Sri Indrapura. Kelompok telur ulat grayak ini terdapat pada permukaan bawah daun papaya berwarna kuning kemerahan yang ditutup dengan bulu seperti beludru. Satu kelompok telur ini kemudian dimasukkan ke dalam kotak plastik yang berukuran 22 x 13,5 x 13 cm kemudian ditutup dengan menggunakan kain kasa. Larva ulat grayak diberi pakan daun bayam. Telur yang telah menetas dipindahkan ke kotak plastik lainnya dan diberi pakan daun bayam. Larva yang telah menetas ini kemudian diidentifikasi untuk memastikan bahwa larva tersebut adalah larva ulat grayak yang akan digunakan sebagai serangga uji. Pakan diganti setiap hari hingga didapat larva instar 3 sebagai serangga uji.

#### **1.4.3. Uji Toksisitas Ekstrak Buah Sirih Hutan**

Uji toksisitas ekstrak dilakukan berdasarkan penelitian Lina *et al.* (2013) menggunakan metode residu pada daun. Daun bayam ukuran 4x4 cm dicelupkan pada larutan ekstrak buah sirih hutan sesuai dengan masing-masing konsentrasi perlakuan yaitu kontrol (air aquades), 2,5%, 5%, 7,5%, dan 10%, kemudian dikeringanginkan. Setelah itu diinfestasikan 5 ekor larva ulat grayak instar 3, setiap perlakuan diulang 3 kali. Larva dibiarkan makan daun perlakuan selama 48 jam setelah itu diganti dengan daun tanpa perlakuan. Pengamatan mortalitas larva dilakukan setiap 24 jam. Data mortalitas larva kemudian diolah dengan menggunakan program analisis probit.

Selanjutnya dilakukan uji kontak pada tabung gelas. Setiap konsentrasi ekstrak perlakuan diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet volume kemudian disebarkan secara merata pada permukaan dalam tabung gelas kemudian dikeringanginkan. Sebagai perlakuan kontrol, permukaan dalam tabung gelas hanya diberi aquades. Tabung gelas yang sudah kering kemudian diinfestasikan serangga uji yaitu larva ulat grayak instar 3 sebanyak 5 ekor lalu tabung gelas tersebut ditutup dengan penutup gelas yang di atasnya terdapat lubang agar udara tetap dapat masuk dalam tabung dan dipaparkan selama 2 jam. Setelah 2 jam, serangga uji dipindahkan ke dalam cawan petri dan diberi makan daun bayam tanpa perlakuan. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan menghitung jumlah mortalitas larva kemudian dianalisis dengan metode probit.

### **1.5. Pengamatan**

Pengamatan dilakukan 1 hari setelah aplikasi pestisida nabati. Parameter yang diamati meliputi: mortalitas larva (%) dan perubahan larva setelah perlakuan.

#### **a. Mortalitas Larva**

Mortalitas larva dihitung setiap 24 jam, dalam pengamatan ini dihitung jumlah larva yang mati dan tersisa dari masing-masing perlakuan. Mortalitas dihitung dengan rumus:

$$Mortalitas = \frac{a}{a + b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Jumlah larva yang mati.

b = Jumlah larva yang tersisa

#### **b. Perubahan larva setelah perlakuan**

Pengamatan dilakukan dengan memperhatikan perilaku yang terjadi pada larva seperti awal gejala kematian, aktivitas makan, pergerakan larva, warna larva, ukuran larva, dan kondisi permukaan tubuh larva. Setiap perubahan yang terjadi pada larva setelah diberi perlakuan hingga larva mati dicatat sebagai perilaku larva setelah perlakuan.

#### **1.6. Analisis Data**

Data yang telah didapat dari hasil pengamatan kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis probit dan ANOVA yang dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan pada taraf 5%. Analisis probit ini digunakan untuk mendapatkan nilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{95}$ .

Analisis probit mulai diperkenalkan oleh Chester Ittner Bliss (1899-1979) pada tahun 1934 dalam sebuah artikel Science tentang bagaimana mengolah data persentase pengaruh pestisida terhadap hama. Sebagai unit persentase tewas dikenal dengan istilah “probabilitas unit” atau “probit” (Theadiokecenter, 2012).

Nilai  $LC_{50}$  didapat dengan cara mencatat angka mortalitas larva akibat perlakuan. Angka mortalitas larva dari masing-masing perlakuan dihubungkan dengan konsentrasi ekstrak dengan menggunakan analisis probit. Utami *et al.*, (2010) melakukan uji hubungan konsentrasi ekstrak kasar daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) dan mortalitas larva *Spodoptera litura* menggunakan metode probit.

##### **A. Lethal Concentration 50 ( $LC_{50}$ )**

*Lethal Concentration 50 ( $LC_{50}$ )* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui konsentrasi pestisida yang efektif membunuh larva ulat grayak hingga

50%. Keefektifan ini dapat diketahui dari mortalitas larva dari masing-masing perlakuan.

B. *Lethal Concentration 95 (LC<sub>95</sub>)*

*Lethal Concentration 95 (LC<sub>95</sub>)* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui konsentrasi pestisida yang efektif membunuh larva ulat grayak hingga 95%. Keefektifan ini dapat diketahui dari mortalitas larva dari masing-masing perlakuan.