

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian jangka panjang kerjasama Unila dengan Yokohama National University Jepang yang dilaksanakan di Kebun Percobaan Lapangan Terpadu Universitas Lampung. Sampel tanah diambil pada petak-petak percobaan dan proses laboratorium dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dari bulan April sampai dengan Oktober 2014.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan- bahan yang digunakan dalam ekstraksi nematoda adalah sampel tanah, aquades, dan larutan gula, sedangkan bahan yang digunakan untuk fiksasi nematoda adalah larutan Golden X (campuran aquades, formalin, dan *glycerin*). Alat- alat yang digunakan dalam pengambilan sampel tanah adalah sekop kecil, nampan, plastik, dan label. Alat yang digunakan dalam ekstraksi nematoda adalah gelas ukur, botol suspensi nematoda, botol semprot, ember, kertas label, saringan 1 mm, 53 μ m, 38 μ m pipet tetes, botol aquades, *centrifuge* dan *stopwacth*. Bahan

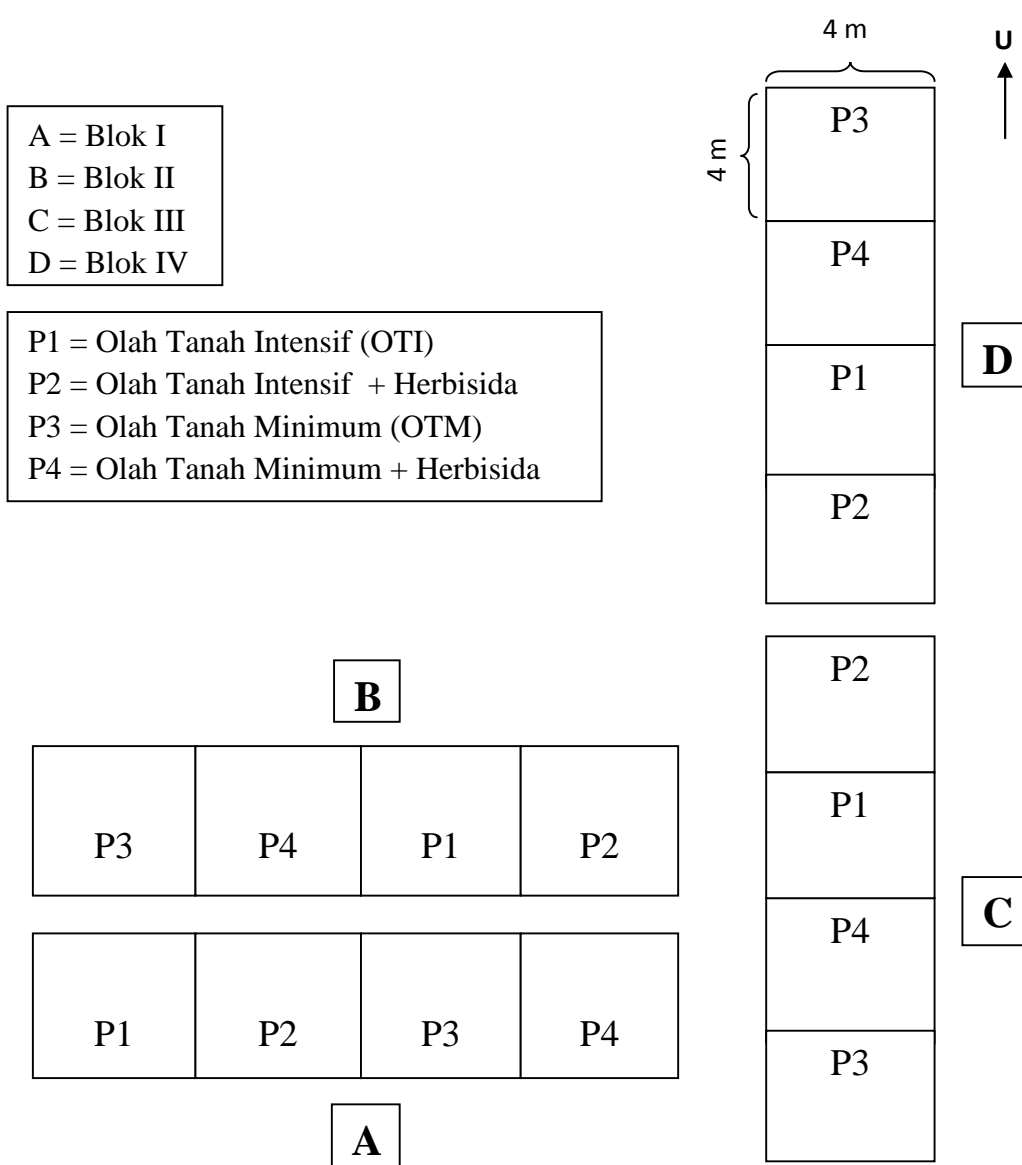
dan alat yang digunakan dalam penghitungan dan identifikasi nematoda adalah spesimen nematoda, *hand counter*, mikroskop *stereo binokuler* dan *compound*, kaca preparat, cover gelas, cawan Petri, dan pengait nematoda.

3.3. Metode Penelitian

Plot percobaan dibuat pada lahan percobaan di Kebun Percobaan Lapangan Terpadu Fakultas Pertanian Unila. Perlakuan dalam percobaan disusun dalam rancangan acak kelompok (RAK) faktorial (2x2). Faktor pertama adalah pengolahan tanah yang terdiri dari dua taraf yaitu olah tanah intensif dan olah tanah minimum. Faktor kedua adalah pengelolaan gulma dengan dua taraf yaitu gulma dikendalikan dengan aplikasi herbisida dan gulma dikendalikan secara manual, tanpa aplikasi herbisida. Lahan dibagi menjadi 4 blok dan tiap blok dibagi menjadi 4 petak dengan ukuran tiap petak 4 m x 4 m. Pada setiap blok terdapat empat petak dan diberi simbol A, B, C, dan D yang merupakan perlakuan yang ditempatkan secara acak (Gambar 2). Blok dibuat mengikuti arah kemiringan lahan. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga terdapat 16 satuan percobaan. Keterangan dalam kombinasi perlakuan tertulis dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan penelitian dan keterangannya.

| Perlakuan | Keterangan |
|-----------------------|---|
| P1= OTI non Herbisida | Tanah diolah dengan menggunakan cangkul dan dibuat guludan, gulma dikendalikan dengan cara dibabat |
| P2= OTI + Herbisida | Tanah diolah dengan menggunakan cangkul dan dibuat guludan, gulma dikendalikan dengan cara disemprot dengan herbisida yang berbahan aktif Glifosat dan 2,4 D dengan dosis 100 ml Bimasatar/160 L air – 1 L Bimasatar/Ha. |
| P3= OTM + Herbisida | Tanah tidak diolah namun pencangkulan dilakukan pada lubang tanam ketika akan dilakukan penanaman ubikayu, gulma dikendalikan dengan cara disemprot dengan herbisida yang berbahan aktif Glifosat dan 2,4 D dengan dosis 100 ml Bimasatar/160 L air – 1 L Bimasatar/Ha. |
| P4= OTM non Herbisida | Tanah tidak diolah namun pencangkulan dilakukan pada lubang tanam ketika akan dilakukan penanaman ubikayu, gulma dikendalikan dengan cara dibabat |



Gambar 2. Tata letak petak percobaan (Jamalam, 2014; Komunikasi Pribadi)

3.4 Pelaksanaan Penelitian

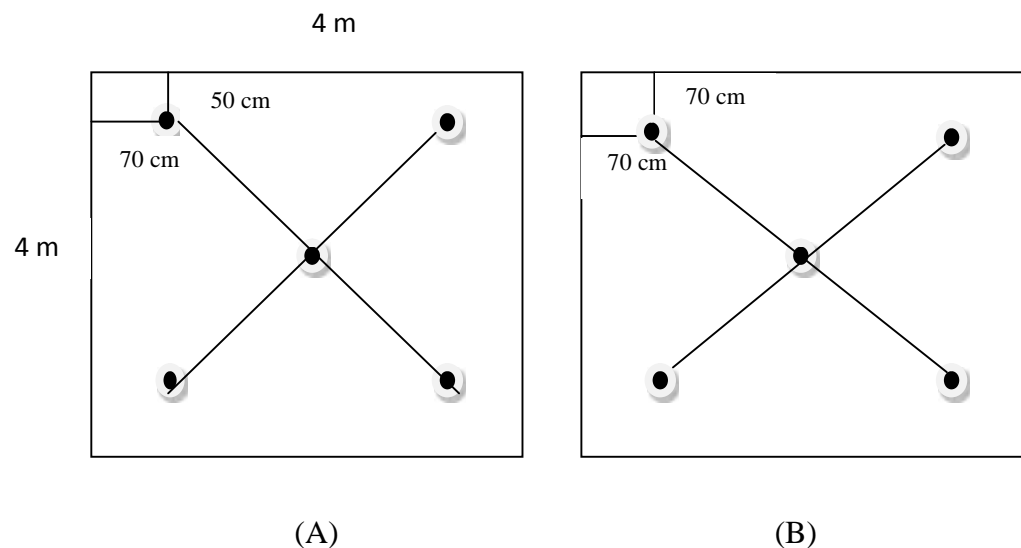
3.4.1 Pengolahan Tanah dan Penanaman

Penelitian ini menggunakan plot percobaan penerapan sistem pengolahan tanah dan pengelolaan gulma yang sebelumnya sudah ditanami jagung. Tanaman ubikayu varietas UJ-5 Cassesart/kasesa ditanam pada tanggal 6 Mei 2014. Penyiapan lahan dimulai dengan membagi 16 petak percobaan dengan ukuran tiap petaknya 4 m x 4 m. Setelah itu lahan diolah sesuai dengan perlakuan yang telah dijelaskan dimuka. Pada setiap plot percobaan diaplikasikan pupuk kompos sebanyak 10 ton/ha sebagai pupuk dasar sebelum dilakukan penanaman. Ubikayu yang digunakan untuk penanaman menggunakan stek, kemudian ditanam dengan jarak tanam 70 cm x 40 cm sehingga dalam satu petak terdapat 5 baris tanaman, dan dalam satu baris terdapat 9 tanaman ubikayu. Pupuk yang diaplikasikan berikutnya yaitu pupuk anorganik berupa Urea sebanyak 300 kg/ha, SP-36 sebanyak 100 kg/ha, dan KCl sebanyak 200 kg/ha.

3.4.2 Pengambilan Sampel Tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan dua kali yaitu pada bulan April dan bulan Agustus 2014. Ketika pengambilan sampel pertama ubikayu belum ditanam, lahan masih ditumbuhi jagung yang sudah siap dipanen. Dengan demikian hasil pengamatan pertama merupakan data bersama-sama dengan saudari Wika Ma'rifatul Fitriyah yang mengamati nematoda pada fase tanam jagung.

Pengambilan sampel kedua dilakukan bulan Agustus yaitu ketika tanaman ubikayu telah berumur 3 bulan setelah tanam. Dari setiap petak percobaan sampel tanah diambil pada 5 titik sub sampel secara diagonal dengan menggunakan skop. Sampel tanah diambil sampai kedalaman 20 cm dan kemudian dicampur sebagai sampel komposit. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam kantung plastik dan diberi label. Sampel tanah diambil pada 5 titik antara lain 4 titik di sudut petak dan 1 titik di pusat petak, seperti tampak pada Gambar 3.



Keterangan :

● = titik pengambilan contoh tanah

Gambar 3. Tata letak pengambilan contoh tanah (A = O BST, B = 3 BST)
(Swibawa, 2014, Komunikasi Pribadi)

3.4.3 Metode Ekstraksi Nematoda

Ekstraksi nematoda merupakan suatu cara pemisahan nematoda dari tanah. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode penyaringan dan sentrifugasi dengan larutan gula. Ekstraksi nematoda dilakukan terhadap 300 cc tanah (Gafur dan Swibawa, 2004). Sebelum diekstraksi, tanah ditimbang terlebih dahulu untuk mengukur bobot 300 cc tanah yang akan diekstraksi. Tanah yang telah ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam ember, ditambah air sebanyak 2 liter, kemudian diremas-remas hingga hancur dan didiamkan selama 1 menit. Suspensi disaring menggunakan saringan makro yaitu berukuran lubang 1 mm dan suspensi tanah ditampung dalam ember lain, kemudian didiamkan selama 3 menit, sedangkan tanah dan kotoran dari ember pertama dibuang. Setelah 3 menit, suspensi tanah pada ember kedua disaring lagi dengan saringan mikro berukuran lubang 53 μm dan tanah yang tertambat pada saringan ditampung dalam gelas baker. Suspensi tanah pada ember ketiga disaring kembali dengan saringan ukuran lubang 38 μm dan tanah yang tertambat pada saringan ditambahkan ke tanah yang tertambat pada saringan dalam gelas baker sebelumnya.

Suspensi tanah yang tertambat pada saringan dengan ukuran lubang 53 μm dan 38 μm dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam 8 buah tabung sentrifus, kemudian di sentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 3 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan endapan tanah ditambah larutan gula sebanyak 2 kali tinggi endapan dan diaduk merata kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 1500 rpm

selama 1,5 menit. Larutan gula dibuat dengan cara melarutkan 500 gram gula pasir dalam air sehingga volume larutan menjadi 1000 ml.

Supernatan dari hasil sentrifus ini yang merupakan suspensi nematoda dalam larutan gula, diambil dan dibilas dengan air mengalir pada saringan dengan ukuran lubang 38 μm . Setelah bersih dari larutan gula, suspensi nematode kemudian ditampung pada botol suspensi dan diberi label.

3.4.4 Fiksasi Nematoda

Fiksasi merupakan metode yang dilakukan untuk mengawetkan nematoda dengan cara menambahkan larutan fiksatif Golden X ke dalam suspensi nematoda.

Larutan Golden X dibuat dengan cara mencampurkan (8 bagian formalin + 2 bagian gliserin + 90 bagian aquades) sehingga suspensi mengandung 3% formalin. Sebelum suspensi nematoda ditambah larutan Golden X terlebih dahulu nematoda dimatikan dengan cara memanaskan botol suspensi yang telah dibuat 10 ml hingga suspensi mencapai suhu 50°-70°C. Setelah itu, suspensi 10 ml tersebut dimasukkan ke dalam tabung sentri dan didiamkan selama 1 malam agar nematoda mengendap, kemudian suspensi dibuat menjadi 3 ml dengan cara memipetnya dibagian teratas secara hati-hati. Suspensi yang telah dijadikan 3 ml ditambah larutan Golden X hingga menjadi 10 ml, kemudian dimasukkan ke dalam botol dan diberi label (Susilo dan Karyanto, 2005).

3.4.5 Perhitungan Populasi dan Identifikasi Nematoda

Populasi nematoda dihitung dengan cara mengambil suspensi sebanyak 3ml kemudian dituang dalam cawan bergaris dan dihitung dengan menggunakan *hand counter* dibawah mikroskop *stereo binokuler*. Perhitungan dilakukan hingga suspensi habis. Kelimpahan seluruh nematoda ini adalah individu/ 300cc tanah. Identifikasi nematoda dilakukan dengan cara mengambil 100 nematoda secara acak dan dibuat preparat semi permanen. Nematoda diambil satu persatu dengan menggunakan kait nematoda dibawah mikroskop *stereo binokuler*, sekitar 25-50 nematoda diletakkan pada kaca preparat yang sebelumnya diberi tetesan larutan Golden X dan kemudian ditutup dengan *coverglass*.

Nematoda diamati dan diidentifikasi berdasarkan ciri morfologinya di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100-400 kali. Nematoda diidentifikasi sampai pada tingkat genus dengan bantuan buku Goodey (1963), Mai and Lyon (1975) dan Smart and Nguyen (1988) kemudian dikonfirmasi kepada Bapak Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S. selaku pembimbing utama. Selain itu, nematoda yang diamati dikelompokkan ke dalam nematoda parasit tumbuhan dan nematoda yang hidup bebas berdasarkan nama genus nematoda. Nematoda parasit tumbuhan stomanya memiliki stilet sedangkan nematoda yang hidup bebas stomanya tidak memiliki stilet.

3.4.6 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah kelimpahan nematoda yaitu populasi seluruh nematoda dan populasi relatif genus nematoda per 100 nematoda yang diidentifikasi dari setiap sampel. Nama-nama genus yang telah didapat dikelompokkan menjadi nematoda parasit tumbuhan dan nematoda hidup bebas. Populasi relatif genus nematoda dikonversi ke populasi absolut yaitu dengan cara mengalikan populasi relatif tiap genus dengan populasi seluruh nematoda. Populasi seluruh nematoda, populasi kelompok nematoda parasit tumbuhan, dan populasi tiap genus nematoda parasit tumbuhan dianalisis ragam dengan menggunakan Uji F ($\alpha=0,05$). Uji lanjut BNT pada taraf 5% tidak dilakukan, karena pengaruh interaksi antara sistem olah tanah dengan pengelolaan gulma tidak nyata.