

III. BAHAN DAN METODE

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2010 – Juli 2011 pada tebu umur 3 bulan. Pengambilan sampel nematoda tanah dilakukan di plot percobaan lahan pertanaman tebu PT Gunung Madu Plantations (GMP), Lampung Tengah. Identifikasi nematoda dilakukan di Laboratorium Hama-Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

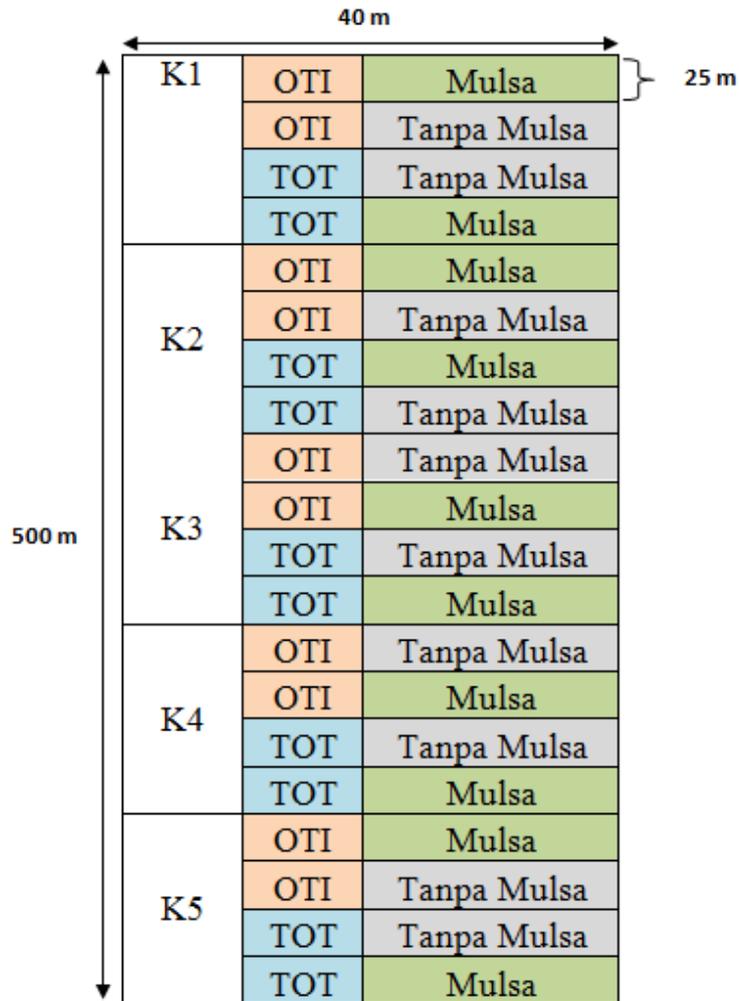
Alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut : sekop, nampan, ember, karung berukuran 10 kg, kertas label, saringan 100 μm , 38 μm , 53 μm , mikroskop bedah stereo dan compound, kaca preparat, cover gelas, cawan petri, botol 250 ml, pengait nematoda, pipet tetes, beker gelas, *hand counter*, sentrifius, dan stopwach. Sedangkan bahan yang digunakan adalah: ajir, bambu berukuran 30 cm sebanyak 9 buah, tali rafia berwarna, kantong plastik berukuran 1kg, sampel tanah, aquades, larutan Golden X (campuran aquades, formalin, gliserin dengan perbandingan 40:3:1) larutan gula, dan air.

C. Pelaksanaan Penelitian

1. Rancangan Percobaan

Perlakuan dalam penelitian ini disusun dalam Rancangan Petak Terbagi (*split plot*) dengan lima ulangan (kelompok). Pengelompokan dilakukan berdasarkan jaraknya terhadap sumber air. Petak utama adalah sistem olah tanah, sedangkan anak petak adalah pemberian mulsa. Sistem olah tanah terdiri atas perlakuan tanpa olah tanah (TOT) dan olah tanah intensif menurut PT. GMP (OTI), sedangkan pemberian mulsa terdiri atas perlakuan pemberian mulsa bagas (80 ton/hektar) dan tanpa mulsa.

Lahan percobaan terdiri atas 5 petak besar yang masing-masingnya memiliki luasan 100 x 200 m. Tiap petak besar dibagi empat petak kecil (satuan percobaan) dengan luasan masing-masing 25 x 25 meter kemudian diberi label A, B, C, dan D. Perlakuan tanpa olah tanah terletak pada plot A dan B, sedangkan perlakuan tanpa olah tanah terletak pada plot C dan D. Pemberian mulsa dilakukan secara acak pada plot A atau B dan plot C atau D (Gambar 3).



Gambar 3. Bagan Plot Percobaan (Atas izin: Fajri 2012)

Keterangan : OTI = Olah Tanah Intensif (tidak ada reduksi olah tanah)

TOT = Tanpa Olah tanah (reduksi olah tanah total)

K = Kelompok/ Ulangan

Pada setiap plot OTI dan TOT ditambahkan BBA *mix*/campuran (80 ton/ha).

Penambahan BBA *mix* pada plot OTI dilakukan saat pengolahan tanah, sedangkan

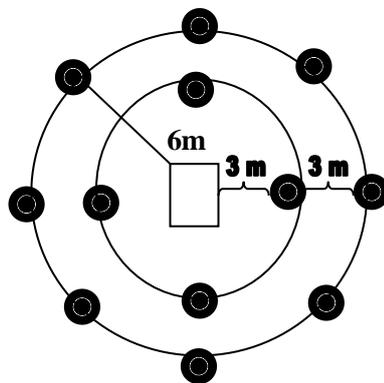
pada TOT penambahan dilakukan dengan menaburkan di permukaan tanah. Pupuk kimiawi berupa Urea, TSP dan MOP ditambahkan pada semua plot percobaan dengan dosis 300 : 200 : 300 (kg/ha). Perlakuan pemulsaan bagas dilakukan secara acak pada plot percobaan, sedangkan penyemprotan herbisida dilakukan hanya pada plot A dari tiap blok.

Perlakuan sistem olah tanah pada plot OTI dilakukan dalam empat tahap. Pemupukan BBA (80 ton/ha) dilakukan setelah pembajakan pertama. Kemudian dilakukan pembajakan tahap kedua. Olah tanah tahap ketiga menggunakan garu dan olah tanah tahap keempat dilakukan pada semua plot yaitu membuat alur tanam sekaligus penambahan pupuk kimiawi. Selanjutnya tebu varietas RGM 00-838 ditanam pada semua plot percobaan dengan sistem *double row* berjarak 80 cm dan antar *double row* berjarak 130 cm. Perlakuan yang diberikan pada plot TOT yaitu pemotongan rumpun tunas tebu yang tumbuh yang dilakukan sebelum pembuatan alur tanam dan setelah penanaman. Penambahan BBA *mix* dan mulsa bagas diberikan pada plot TOT setelah tebu ditanam dan rumpun tebu dibersihkan.

2. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada saat tebu berumur 3 bulan, tebu ditanam pada bulan Juli 2010. Dari setiap petak percobaan sampel tanah diambil pada 12 titik sub sampel dengan menggunakan bor tanah (Gambar 4). Sampel

tanah diambil sampai kedalaman 20 cm dan kemudian disatukan sebagai sampel komposit. Masing– masing sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label. Sampel tanah diambil secara melingkar dengan monolith sebagai pusatnya, empat titik berjarak 3 m dari pusat dan delapan titik berjarak 3 m dari titik pertama (Susilo & Karyanto, 2005)



Gambar 4 . Posisi sub sampel tanah terhadap pusat petak percobaan

Keterangan:

- = titik pengambilan sampel
- = monolith (50 cm x 50 cm x 30 cm)

3. Ekstraksi dan Identifikasi Nematoda

Metode ekstraksi nematoda dari tanah yang digunakan adalah metode penyaringan dan sentrifugasi dengan larutan gula (Gafur dan Swibawa, 2004). Larutan gula disiapkan dengan cara melarutkan 500 gr gula dalam air sehingga volume larutan menjadi 1000 ml.

Sebanyak 300 cc tanah dimasukkan kedalam ember, kemudian ditambahkan air sebanyak 2 liter, diremas-remas sambil diaduk dan didiamkan selama 3 menit. Suspensi didekantasi dengan menggunakan saringan berdiameter 1 mm dan ditampung dalam ember lain. Tanah dan kotoran dari ember pertama dibuang. Kemudian suspensi yang berada di ember ke dua didekantasi dengan saringan berdiameter 5,3 μm dan ditampung dalam ember ke tiga. Suspensi yang berada di ember ke tiga didekantasi dengan saringan berdiameter 3,8 μm .

Bagian yang ada pada saringan dikumpulkan kedalam tabung sentrifius dan disentrifius dengan kecepatan 3500 rpm selama 5 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan endapannya ditambahi larutan gula dan diaduk merata dengan larutan gula kemudian disentrifius dengan kecepatan 1000 rpm selama 2 menit. Setelah itu suspensi nematoda dicuci menggunakan saringan berdiameter 3,8 μm . Suspensi nematoda yang ada di dalam saringan dibilas dengan air untuk membersihkan larutan gula dan kemudian suspensi nematoda dimasukkan ke dalam botol suspensi.

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan nematoda hasil ekstraksi. Sebelum difiksasi nematoda dimatikan dengan cara memanaskan botol suspensi pada suhu 50 – 70 ° C. Kemudian, didiamkan sampai dingin, lalu ke dalam botol tersebut ditambahkan larutan Golden X (formalin 1,15 ml, glycerin 0,28 ml, aquades 8,6 ml) sehingga suspensi menjadi 15 ml.

Kelimpahan nematoda dihitung dengan cara mengambil suspensi sebanyak 3 ml dari 15 ml kemudian dituang kedalam cawan petri bergaris. Nematoda dihitung di bawah mikroskop bedah stereo binokuler dengan perbesaran 40 kali dengan

bantuan *hand counter*. Kelimpahan nematoda dalam 300 cc tanah adalah rata-rata dari tiga kali penghitungan dikalikan 5.

Identifikasi nematoda sampai tingkat genus dilakukan terhadap 100 nematoda yang diambil secara acak. Satu persatu nematoda dalam suspensi diamati dibawah mikroskop stereo binokuler, sekitar 10-20 nematoda diletakkan pada kaca preparat, selanjutnya nematoda ditutup dengan *coverglass*. Nematoda kemudian diamati morfologinya di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 – 400 kali. Nematoda diidentifikasi sampai tingkat genus dengan menggunakan buku Smart dan Ngayen (1998), Andrassy (1993), Goodey (1963) serta Mai dan Lyon (1975).

Nematoda kemudian dikelompokkan menurut kelompok makannya. Kelompok makan nematoda dapat diketahui dari genus nematoda atau struktur stomanya. Nematoda dikelompokkan menjadi: nematoda parasit tumbuhan, nematoda pemakan bakteri, nematoda pemakan jamur, nematoda omnivora, nematoda predator, dan nematoda pemakan alga. Kelimpahan kelompok makan nematoda adalah kelimpahan relatif dari 100 individu nematoda yang diidentifikasi dan diambil secara acak.

D. Analisis Data

Data kelimpahan seluruh nematoda dan kelimpahan relatif kelompok makan nematoda dianalisis ragam dengan menggunakan Rancangan Petak Terbagi dan pemisahan nilai tengahnya diuji Beda Nyata Terkecil (BNT).

