

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian jangka panjang kerjasama Universitas Lampung dengan Yokohama National University Japan (UNILA-YNU) yang percobaannya dilaksanakan di Kebun Percobaan Lapangan Terpadu dan ekstraksi nematoda dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian berlangsung dari bulan Januari sampai dengan Juli 2014.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah, larutan Golden X yaitu campuran aquades, formalin dan gliserin dengan komposisi 90:8:2 bagian, larutan gula, dan air. Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel tanah adalah tembilang, kantung plastik, sekop kecil, pisau, dan ember. Alat yang digunakan dalam tahap ekstraksi dan fiksasi nematoda adalah timbangan elektrik, ember, saringan (1 mm, 38 μ m, dan 53 μ m), botol semprot, *centrifuge*, tabung *centrifuge*, *stopwatch*, gelas ukur, botol suspensi dan label. Alat yang digunakan dalam pengamatan nematoda adalah mikroskop *stereo binocular* dan mikroskop *compound*, cawan petri, pengait nematoda, *hand counter*, *beaker glass*, kaca preparat, dan *cover glass*.

3.3 Metode Penelitian

Satuan percobaan disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial (2 x 2). Faktor pertama adalah pengolahan tanah meliputi dua taraf, yaitu olah tanah intensif (OTI) dan olah tanah minimum (OTM). Faktor kedua adalah pengelolaan gulma meliputi dua taraf, yaitu pengelolaan gulma dengan pembabatan (tanpa herbisida) dan pengelolaan gulma dengan herbisida. Kombinasi perlakuan tersebut disajikan dalam Tabel 1 (Lumbanraja, 2013; Komunikasi Pribadi).

Tabel 1. Kombinasi perlakuan penelitian dan keterangannya

No	Kombinasi Perlakuan	Keterangan
1	P1 = OTI + Pengelolaan gulma dengan dibabat	Tanah diolah sempurna dengan menggunakan cangkul dan pengelolaan gulma dilakukan dengan cara dibabat (pemangkasan)
2	P2 = OTI + Pengelolaan gulma dengan herbisida	Tanah diolah sempurna dengan menggunakan cangkul dan pengelolaan gulma dilakukan dengan cara aplikasi herbisida yang berbahan aktif glifosat dan 2,4 D dengan konsentrasi 100 ml/160 l air dengan dosis 1 l/ha.
3	P3 = OTM + Pengelolaan gulma dengan herbisida	Tanah diolah seperlunya saja (minimum) yaitu dengan membuat lubang tanam benih jagung menggunakan tugal dan pengelolaan gulma dilakukan dengan cara aplikasi herbisida yang berbahan aktif glifosat dan 2,4 D dengan konsentrasi 100 ml/160 l air dengan dosis 1 l/ha.
4	P4 = OTM + Pengelolaan gulma dengan dibabat	Tanah diolah seperlunya saja (minimum) yaitu dengan membuat lubang tanam benih jagung menggunakan tugal dan pengelolaan gulma dilakukan dengan cara dibabat (pemangkasan)

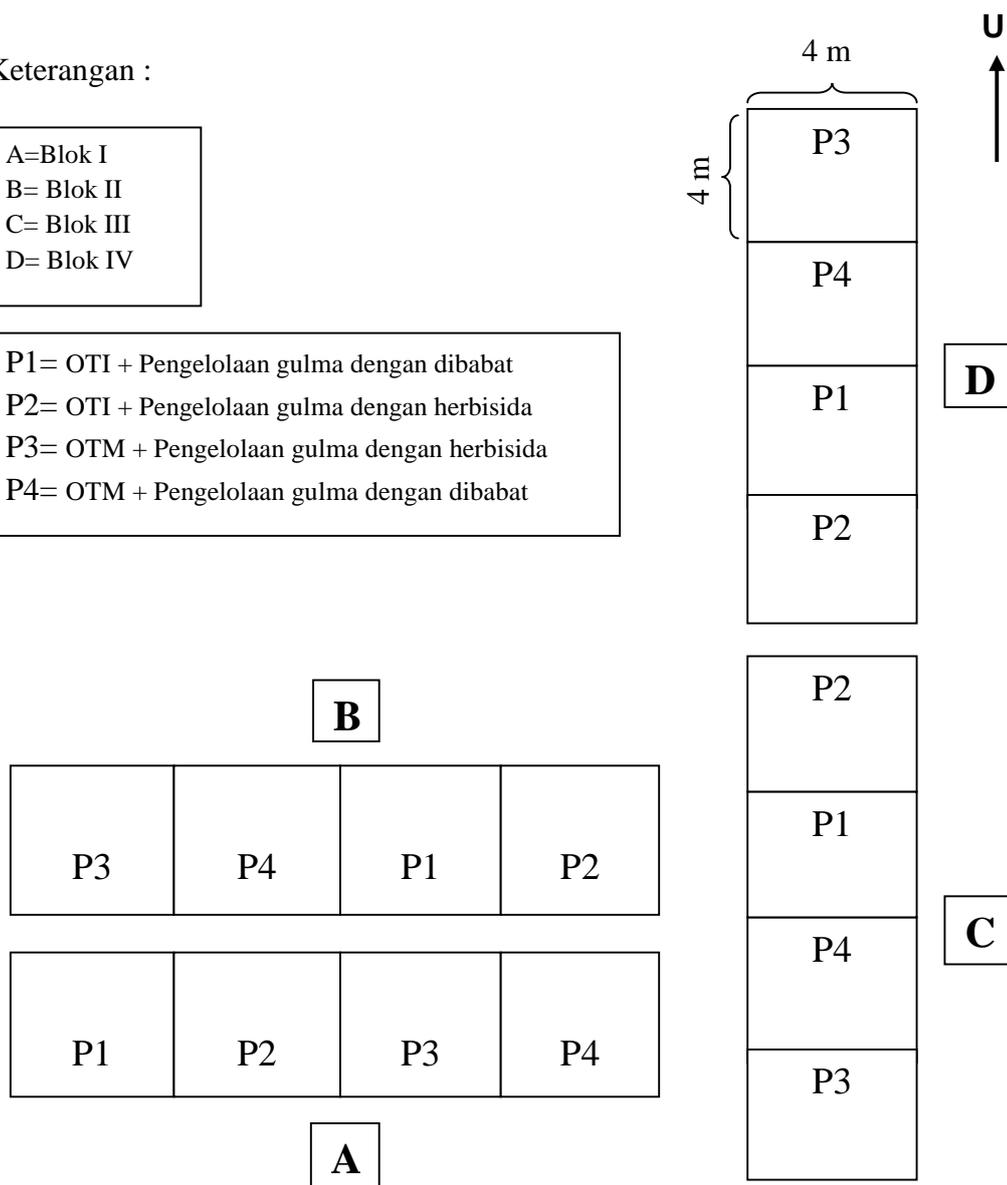
Keterangan: - OTI = olah tanah intensif ; OTM = olah tanah minimum

Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 4 kali, sehingga terdapat 16 petak satuan percobaan. Pengelompokkan dilakukan berdasarkan kemiringan tanah, mengikuti kontur lahan dan penempatan satuan percobaan dalam kelompok dilakukan secara acak. Adapun tata letak satuan percobaan seperti pada Gambar 2.

Keterangan :

A=Blok I
 B= Blok II
 C= Blok III
 D= Blok IV

P1= OTI + Pengelolaan gulma dengan dibabat
 P2= OTI + Pengelolaan gulma dengan herbisida
 P3= OTM + Pengelolaan gulma dengan herbisida
 P4= OTM + Pengelolaan gulma dengan dibabat



Gambar 1. Tata letak petak percobaan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan Lahan

Persiapan lahan dilakukan oleh Petugas Kebun Percobaan Lapangan Terpadu Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tanggal 27 Desember 2013 dengan membagi lahan menjadi 16 petak percobaan. Lahan dibagi menjadi 4 blok dan diberi simbol A, B, C, dan D. Tiap blok dibagi menjadi 4 petak satuan percobaan dengan ukuran tiap petak 4 m x 4 m antar petak percobaan dibuat pembatas dari semen. Sesuai dengan letak perlakuan yang dicobakan, pada petak percobaan dilakukan olah tanah minimum (OTM) dan olah tanah intensif (OTI). Pada petak OTM dilakukan pengolahan tanah seperlunya saja, yaitu berupa lubang tanam benih jagung menggunakan tugal, sedangkan pada petak OTI dilakukan pengolahan tanah secara penuh sampai kedalaman 20 cm menggunakan cangkul (Lumbanraja, 2013; Komunikasi Pribadi).

3.4.2 Penanaman Jagung

Penanaman jagung dilakukan oleh Petugas Kebun Percobaan Lapangan Terpadu Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tanggal 30 Desember 2013 dengan menggunakan benih jagung hibrida BISI 18. Tanaman jagung ditanam dengan jarak tanam 70 cm x 20 cm. Penanaman jagung dilakukan dengan memasukkan dua benih jagung ke dalam setiap lubang tanam yang sebelumnya ditugal. Selanjutnya penjarangan tanaman dilakukan setelah 7 hst (hari setelah tanam) yaitu pada tanggal 6 Januari 2014, sehingga tersisa satu tanaman yang tumbuh sehat (Lumbanraja, 2013; Komunikasi Pribadi).

3.4.3 Pemupukan, Pemeliharaan Tanaman dan Panen

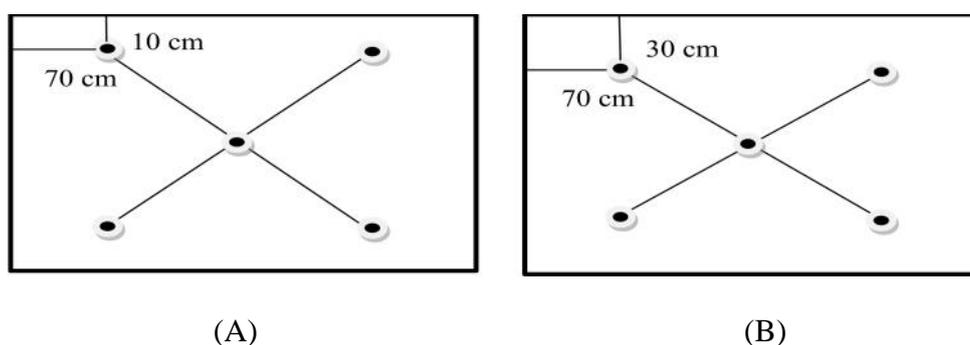
Pemupukan, pemeliharaan tanaman dan panen dilakukan oleh Petugas Kebun Percobaan Lapangan Terpadu Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Pemberian pupuk dasar dilakukan sebelum penanaman yaitu pupuk kompos dengan dosis 10 ton/ha pada tanggal 10 Januari 2014. Pemberian pupuk ini bersamaan dengan pemberian pupuk anorganik dengan dosis Urea 300 kg/ha, TSP 100 kg/ha, KCl 200 kg/ha. Pemberian pupuk urea dilakukan dua kali, yaitu setengah dosis urea (150 kg/ha) ketika tanaman berumur 11 hst (10 Januari 2014) dan setengah dosis urea ketika tanaman 48 hst (16 Februari 2014). Pupuk SP36 dan KCl diberikan bersamaan pada saat aplikasi pupuk urea pertama.

Setiap plot percobaan tidak diaplikasi insektisida maupun fungisida. Pengelolaan gulma dilakukan dengan aplikasi herbisida dan pemangkasan (dibabat) gulma sesuai dengan perlakuan setiap satuan percobaan. Penyiangan gulma pada petak pengelolaan gulma dengan dibabat (P1 dan P4) dilakukan pada tanggal 28 Januari 2014 yaitu pada saat tanaman jagung berumur 29 hst. Aplikasi herbisida pada petak perlakuan herbisida (P2 dan P3) dilakukan ketika tanaman jagung berumur 32 hst (31 Januari 2014) dengan menggunakan herbisida 100 ml Bimastar/160 l air – 1 l Bimastar/ha. Jagung dipanen ketika tanaman telah berumur 108 hst yaitu pada tanggal 17 April 2014.

3.4.4 Pengambilan Sampel Tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada tanggal 09 Januari 2014 (ketika tanaman jagung berumur 10 hst) dan pada tanggal 07 April 2014 (ketika tanaman berumur 98 hst yaitu 10 hari menjelang panen). Kegiatan diawali dengan pengambilan sampel tanah dengan metode sampling secara acak sistematis mengikuti arah kedua diagonal petak satuan percobaan. Dari setiap petak satuan percobaan sampel tanah diambil pada 5 titik sub sampel menurut arah kedua diagonal petak dengan menggunakan tembilang. Sampel tanah diambil sampai kedalaman ± 20 cm dan kemudian dikomposit. Masing-masing sub sampel dari setiap titik pengambilan sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik menjadi sampel komposit ± 500 gr kemudian diberi label. Sampel tanah yang didapat kemudian diangkut ke Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung untuk diproses. Adapun tata letak titik pengambilan sampel pada setiap petak satuan percobaan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Tata letak pengambilan sampel tanah pengambilan pertama (A), Tata letak pengambilan sampel tanah pengambilan kedua (B); ● = titik pengambilan sampel tanah (Swibawa, 2013; Komunikasi Pribadi).

3.4.5 Metode Ekstraksi dan Fiksasi Nematoda Tanah

Metode ekstraksi nematoda tanah yang digunakan yaitu metode penyaringan bertingkat (saringan 1 mm, 53 μm , 38 μm) dan sentrifugasi dengan larutan gula. Larutan gula disiapkan dengan cara melarutkan 500 gr gula dalam air sampai dengan volume larutan menjadi 1000 ml (500 gr gula dalam 1 l larutan) (Gafur dan Swibawa, 2004).

Sampel tanah 300 cc ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam ember kecil pertama, ditambahkan air sebanyak 2 l, dihancurkan atau diremas-remas sambil diaduk sampai terlarut dan didiamkan selama 1 menit. Suspensi disaring dengan menggunakan saringan I (1 mm), suspensi tanah ditampung pada ember kedua dan didiamkan 3 menit. Suspensi tanah pada ember kedua disaring kembali dengan saringan II (53 μm) dan filtratnya ditampung dalam ember ketiga. Tanah hasil saringan II (53 μm) diambil dan ditampung dalam *beaker glass*. Suspensi tanah pada ember ketiga disaring kembali dengan saringan III (38 μm), tanah hasil saringan III (38 μm) diambil dan dicampur dengan tanah hasil saringan II (53 μm) tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 3 menit. Setelah itu, airnya dibuang dan endapannya ditambahkan larutan gula sebanyak 2 kali tinggi endapan dan diaduk merata kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 1500 rpm selama 1,5 menit. Suspensi yang dihasilkan adalah suspensi nematoda. Suspensi nematoda yang sudah tercampur dengan larutan gula dibilas dengan menggunakan saringan 38 μm . Suspensi nematoda yang ada di dalam saringan dibilas dengan air untuk

menghilangkan larutan gula dan kemudian suspensi nematoda pada saringan 38 μm dimasukkan ke dalam botol suspensi dan diberi label (Gafur dan Swibawa, 2004).

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan nematoda hasil ekstraksi. Suspensi nematoda didiamkan selama 1 malam agar nematoda mengendap kemudian dijadikan 10 ml dengan cara pengambilan suspensi nematoda di dalam botol menggunakan pipet tetes. Nematoda dimatikan dengan cara memanaskan botol suspensi hingga mencapai suhu 70°C , kemudian didiamkan sampai dingin, setelah dingin suspensi dimasukkan ke dalam botol sentri. Suspensi nematoda didiamkan kembali selama 1 malam, kemudian dijadikan 3 ml dengan cara memipet secara hati-hati dari bagian teratas. Ke dalam tabung tersebut ditambahkan larutan Golden X (formalin 1,15 ml, glycerin 0,28 ml, aquades 8,6 ml) sehingga suspensi menjadi 10 ml, kemudian dikocok, dipindahkan ke dalam botol suspensi 20 ml dan diberi label.

3.4.6 Perhitungan Populasi dan Identifikasi Nematoda Tanah

Dalam perhitungan nematoda tanah, kelimpahan nematoda tanah dihitung dengan cara mengambil suspensi dengan menggunakan pipet tetes sebanyak ± 3 ml dari 10 ml kemudian dituang ke dalam cawan petri bergaris, perhitungan dilakukan berulang 3 x sampai seluruh suspensi habis. Nematoda tanah dihitung di bawah mikroskop stereo pada perbesaran 40 kali dengan bantuan *hand counter*.

Identifikasi nematoda tanah sampai tingkat genus dilakukan terhadap 100 nematoda yang diambil secara acak. Satu persatu nematoda dikait, sebanyak ± 20 nematoda diletakkan pada kaca preparat yang sebelumnya ditetesi larutan

Golden X dan selanjutnya ditutup dengan *cover glass*. Nematoda tanah yang didapat kemudian diamati morfologinya di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100-400 x, kemudian dicocokkan dengan bantuan buku identifikasi bergambar Mai dan Lyon (1975), Goodey (1963) dan Smart dan Nguyen (1988) kemudian dikonfirmasi kepada Bapak Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S. selaku pembimbing utama. Identifikasi dilakukan sampai tingkat takson genus.

Berdasarkan nama genusnya, nematoda tanah yang diamati kemudian dikelompokkan ke dalam nematoda hidup bebas dan nematoda parasit tumbuhan. Nematoda hidup bebas dikelompokkan kembali ke dalam beberapa kelompok utama atas dasar makanannya yaitu (a) pemakan bakteri (*bacterial-feeders*), (b) pemakan jamur (*fungus-feeders*), (c) predator (*predatory nematodes*) dan (d) omnivora (Yeates dkk., 1993).

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah kelimpahan nematoda yaitu jumlah individu seluruh nematoda dan kelimpahan relatif setiap genus yaitu jumlah individu genus nematoda dari 100 nematoda yang diidentifikasi. Keragaman nematoda diukur dengan indeks keragaman Shannon dan indeks keragaman Simpson's (Huang dan Cares, 2004).

Rumus Indeks Keragaman Shannon sebagai berikut:

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

Keterangan:

H' = Indeks keragaman Shannon

p_i = Kelimpahan relatif dari genus ke i

Rumus Indeks Keragaman Simpson's sebagai berikut:

$$D_s = 1 - \sum (p_i)^2$$

Keterangan:

D_s = Indeks keragaman Simpson's

p_i = Kelimpahan relatif dari genus ke i

Keragaman dan kelimpahan nematoda setiap kelompok makan yang diperoleh kemudian dianalisis ragam dengan menggunakan uji F ($\alpha = 0,05$). Uji lanjut BNT pada taraf 5 % tidak dilakukan karena pengaruh interaksi antar perlakuan sistem olah tanah dan pengelolaan gulma tidak nyata terhadap komunitas nematoda tanah.