

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian jangka panjang “*Soil Rehabilitation*” yang dilaksanakan atas kerjasama GMP-UNILA-YNU .

Pengambilan sampel tanah pada plot percobaan di PT. Gunung Madu Plantations Lampung Tengah dilakukan pada bulan Juli 2011, yaitu tebu *Plant cane* ketika berumur 11 bulan. Nematoda diekstraksi dan diidentifikasi di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan dari bulan Juli 2011- Maret 2012.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah bor tanah, pipet tetes, *hand counter*, sekop, nampan, ember, botol semprot, cawan Petri, penggaris, *cover glass*, gelas ukur, spidol, kertas label, saringan dengan ukuran lubang 1 mm, 53 μm dan 38 μm , *centrifuge*, botol spesimen, mikroskop bedah stereo dan mikroskop *compound*, kait nematoda, *stopwatch*, kaca preparat, dan *syringe*. Sedangkan bahan yang digunakan adalah sampel tanah, formalin, gliserin, *aquades*, air, kantong plastik dan larutan gula.

3.3. Metode Penelitian

Perlakuan dalam penelitian ini disusun dalam Rancangan Percobaan Petak Terbagi (*Split Plot Experimental Design*) dengan lima blok sebagai ulangan. Petak utama adalah sistem olah tanah dan anak petak adalah pemulsaan. Sistem olah tanah terdiri dari dua perlakuan, yaitu sistem tanpa atau reduksi olah tanah (T_0) dan olah tanah intensif (T_1), sedangkan pemulsaan terdiri dari dua perlakuan, yaitu tanpa mulsa dan pemberian mulsa bagas (80 ton/ha). Jadi ada empat kombinasi, yaitu sistem olah tanah intensif dengan pemberian mulsa (T_1M_1), sistem olah tanah intensif dengan tanpa mulsa (T_1M_0), tanpa olah tanah dengan pemberian mulsa (T_0M_1); dan tanpa olah tanah dengan tanpa pemberian mulsa (T_0M_0).

Lahan pertanaman tebu seluas 2 ha, dibagi menjadi 5 blok. Tiap blok dibagi menjadi 4 petak dengan ukuran tiap petaknya 25 m x 40 m. Pada setiap blok terdapat 4 petak dan diberi simbol A, B, C, dan D. Petak A dan B diberi perlakuan sistem tanpa olah tanah, sedangkan petak C dan D diberi perlakuan olah tanah intensif. Pemberian mulsa dilakukan secara acak, pada petak tanpa olah tanah maupun olah tanah intensif.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

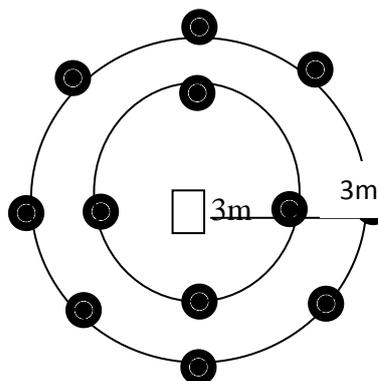
3.4.1. Pengolahan lahan

Pengelolaan lahan dilakukan oleh pihak atau pekerja PT. GMP dimulai dengan membagi lahan menjadi 20 petak percobaan sesuai dengan perlakuan dan ukuran tiap petaknya 25 m x 40 m. Setiap petak ditanami tanaman tebu varietas RGM

00-838. Pada setiap plot percobaan diberikan pupuk sebanyak dua kali, pertama menggunakan pupuk dasar sehari sebelum dilakukan penanaman, dengan dosis Urea 150kg/ha dan MOP 150kg/ha yang dicampur dengan bagas, blotong, abu ketel (BBA) perbandingannya 3:5:1 sebanyak 80 ton/ha.

3.4.2. Pengambilan sampel tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada bulan Juli 2011 saat tebu berumur 11 bulan, tebu ditanam pada bulan Agustus 2010. Dari setiap petak percobaan sampel tanah diambil pada 12 titik sub sampel dengan menggunakan bor tanah (Gambar 2). Sampel tanah diambil sampai kedalaman 20 cm dan kemudian disatukan sebagai sampel komposit. Sampel tanah dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label. Sampel tanah diambil pada lingkaran dengan monolith sebagai pusatnya, empat titik berjarak 3 m dari pusat dan delapan titik berjarak 3 m dari titik pertama (Susilo dan Karyanto, 2005).



Gambar 2. Posisi letak sub sampel tanah

Keterangan: ● = titik pengambilan sampel
□ = Monolith

3.4.3. Metode ekstraksi 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 setara dengan 329 gram berat kering tanah dimasukkan ke dalam ember, kemudian ditambah air 2 liter, diremas-remas sambil diaduk kemudian didiamkan selama 3 menit. Suspensi disaring dengan menggunakan saringan yang ukuran lubangnya 1 mm dan ditampung dalam ember lain. Tanah dan kotoran dari ember pertama dibuang. Kemudian suspensi yang berada di ember kedua didekantasi dengan saringan yang ukuran lubangnya 53 μm dan ditampung dalam ember ketiga. Suspensi yang berada di ember ketiga didekantasi dengan saringan yang ukuran lubangnya 38 μm .

Suspensi tanah yang ada pada saringan dikumpulkan ke dalam tabung *centrifuge* dan di *centrifuge* dengan kecepatan 3500 rpm selama 5 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan endapannya ditambahkan larutan gula dan diaduk merata dengan larutan gula kemudian di *centrifuge* dengan kecepatan 1000 rpm selama 2 menit. Setelah itu, supernatan yang merupakan suspensi nematoda ditampung menggunakan saringan dengan ukuran lubangnya 38 μm , kemudian dibilas dengan air untuk membersihkan larutan gula. Suspensi nematoda kemudian di masukkan ke dalam botol suspensi.

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan nematoda hasil ekstraksi. Sebelum difiksasi nematoda dimatikan dengan cara botol suspensi dipanaskan sehingga suspensi mencapai suhu 50°-70 ° C, kemudian di diamkan sampai dingin, lalu ditambah dengan larutan Golden X (formalin 1,15 ml, *glycerin* 0,28 ml, dan *aquades* 8,6 ml) sehingga suspensi menjadi 15 ml.

3.4.4. Perhitungan populasi dan identifikasi nematoda

Populasi nematoda dihitung dengan mengambil suspensi sebanyak 3 ml dari 15 ml dengan tiga kali ulangan, kemudian dituang ke cawan Petri bergaris dan di hitung populasinya di bawah mikroskop bedah *stereo binocular* dengan perbesaran 35 kali. Perhitungan populasi adalah rata-rata dari 3 kali penghitungan dikalikan 5.

Identifikasi nematoda berdasarkan ciri-ciri bentuk tubuh (stilet, esofagus, ekor) dan ciri morfologi dilakukan terhadap 100 nematoda yang diambil secara acak untuk setiap sampel dengan membuat preparat semi permanen. Satu persatu nematoda dikait di bawah mikroskop *stereo binocular*, sekirat 10-15 nematoda diletakkan pada kaca preparat, untuk selanjutnya ditutup dengan *coverglass*, lalu diamati di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 – 400 kali.

Nematoda diidentifikasi sampai pada tingkat genus dengan bantuan buku *Pictorial Key To Genera of Plant Parasitic Nematodes* (Mai dan Lyon, 1975) dan *Soil and Fresh Water Nematodes* (Goodey, 1963).

3.4.5. Analisis data

Data yang diperoleh meliputi kelimpahan seluruh nematoda dan populasi genus nematoda dari yang diidentifikasi pada setiap sampelnya. Berdasarkan nama genus nematoda dikelompokkan menjadi nematoda parasit tumbuhan dan nematoda hidup bebas.

Data populasi nematoda parasit tumbuhan dianalisis ragam dengan menggunakan Rancangan Petak Terbagi dan pemisahan nilai tengahnya diuji Beda Nyata Terkecil (BNT). Semua analisis statistik dilakukan pada taraf 5% atau 1%.