

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian rehabilitasi tanah yang dilaksanakan atas kerjasama UNILA-PT GMP dan Yokohama National University Jepang. Penelitian dilaksanakan di PT. Gunung Madu Plantations (GMP) Lampung Tengah dan Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dari bulan Juni 2013 sampai dengan Desember 2013.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah bor tanah, botol semprot, ember, kertas label, sekop, nampan, gelas ukur, botol suspensi nematoda, saringan 100 μm , 38 μm , 50 μm , mikroskop *stereo binokuler* dan *compound*, botol 250 ml, pengait nematoda, kaca preparat, cover gelas, cawan petri, pipet tetes, *hand counter*, botol aquades, *centrifuge* dan stopwach. Bahan yang digunakan adalah larutan Golden X (campuran aquades, formalin, *glycerin*), larutan gula, sampel tanah, aquades, dan air.

3.3. Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, maka penelitian disusun dalam Rancangan Percobaan Petak Terbagi (*split plot design*) dengan lima kelompok sebagai ulangan. Petak utama adalah perlakuan olah tanah dan anak petak adalah pemberian mulsa. Olah tanah terdiri dari dua taraf perlakuan yaitu olah tanah intensif (T_1) dan tanpa olah tanah (T_0), sedangkan pemberian mulsa terdiri dari dua perlakuan yaitu tanpa mulsa (M_0) dan pemberian mulsa bagas ($M_1 = \text{mulsa } 80 \text{ ton ha}^{-1}$). Kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan petak utama (PU) dan anak petak (AP).

Anak Petak	Petak Utama	
	Tanpa Olah Tanah (T_0)	Olah Tanah Intensif (T_1)
Tanpa Mulsa (M_0)	$T_0 M_0$	$T_1 M_0$
Dengan Mulsa (M_1)	$T_0 M_1$	$T_1 M_1$

Keterangan :

$T_0 M_0$: Tanpa olah tanah dan tanpa pemberian mulsa bagas

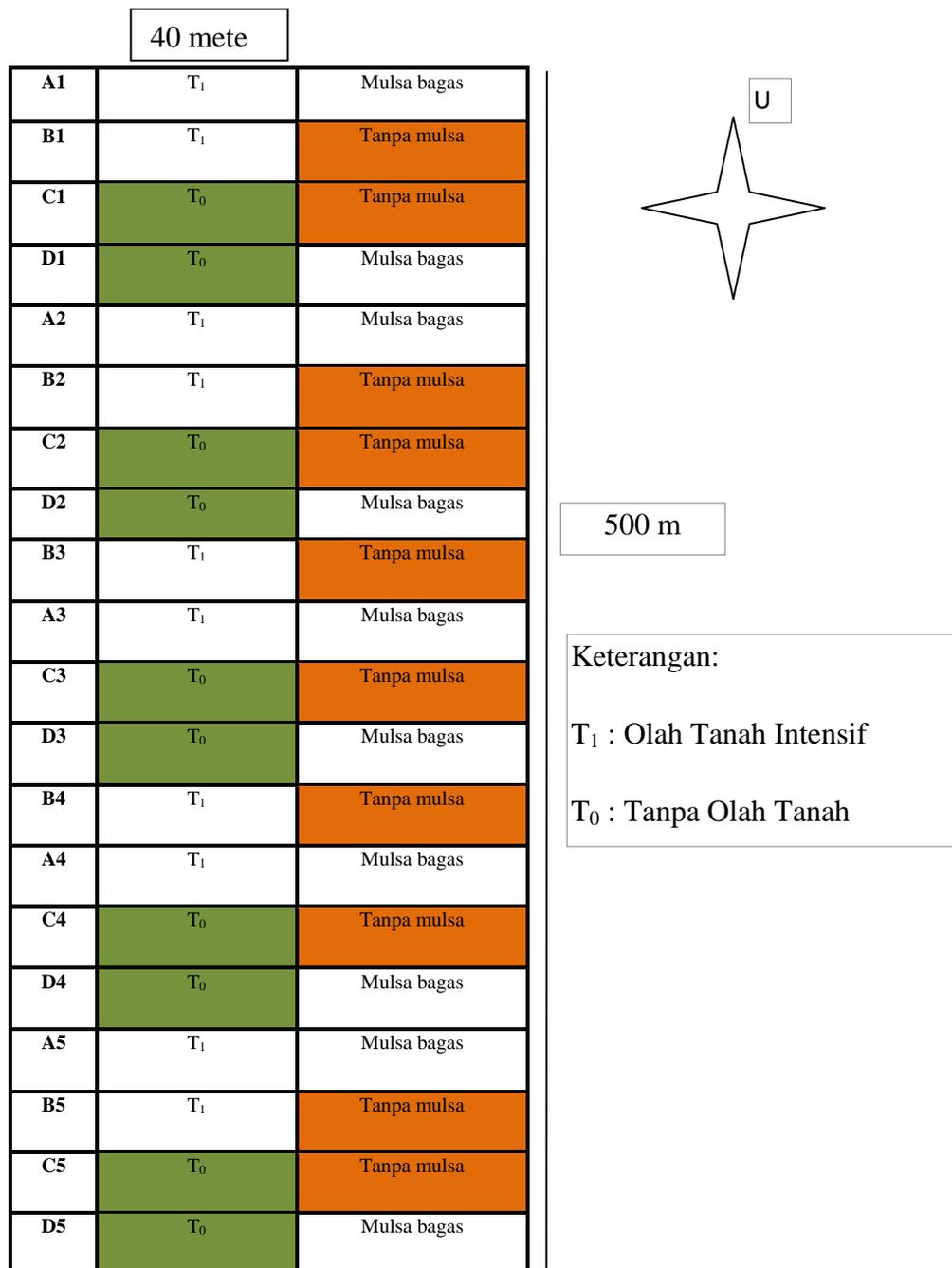
$T_1 M_0$: Olah tanah intensif dan tanpa pemberian mulsa bagas

$T_0 M_1$: Tanpa olah tanah dan pemberian mulsa bagas 80 t ha^{-1}

$T_1 M_1$: Olah tanah intensif dan pemberian mulsa bagas 80 t ha^{-1}

Penelitian ini menggunakan lahan pertanaman tebu seluas 2 ha. Lahan dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompok dibagi menjadi 4 petak dengan ukuran

tiap petak 25 m x 40 m. Pada setiap kelompok terdapat 4 petak dan diberi simbol A, B, C, dan D. Pada petak A dan B diberi perlakuan olah tanah intensif (T_1), sedangkan petak C dan D diberi perlakuan tanpa olah tanah (T_0). Pemberian mulsa dilakukan secara acak, pada petak olah tanah intensif maupun petak tanpa olah tanah. Tata letak satuan percobaan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tata letak petak percobaan.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pengolahan Tanah

Penelitian menggunakan lahan pertanaman tebu yang diset untuk dijadikan plot percobaan jangka panjang yang dimulai pada bulan Juni 2010 sampai 10 tahun ke depan. Pelaksanaan penelitian ini memperoleh dukungan dan bantuan karyawan PT. GMP pada musim *ratoon* II.

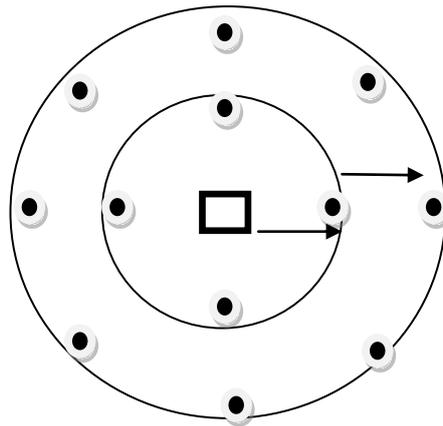
Penyiapan lahan pada fase *plant cane* dimulai dengan membagi lahan menjadi 20 petak percobaan dengan ukuran tiap petaknya 25 m x 40 m. Setelah itu lahan diolah sesuai dengan perlakuan, yaitu pada petak tanpa olah tanah (T_0), baik pada perlakuan mulsa (M_1) dan tanpa mulsa (M_0). Pada petak tanpa olah tanah (T_0), gulma yang tumbuh dikendalikan secara manual kemudian sisa gulma dikembalikan ke lahan sebagai mulsa. Pada petak olah tanah intensif (T_1), baik pada perlakuan mulsa (M_1) dan tanpa mulsa (M_0), tanah diolah sesuai dengan sistem pengolahan tanah yang diterapkan di PT GMP yaitu sebanyak 3 kali pengolahan tanah menggunakan traktor. Pengendalian gulma dilakukan dengan cara aplikasi herbisida.

Pada setiap plot percobaan diberikan pupuk sebanyak 2 kali. Pemupukan pertama diberikan sebagian pupuk dasar berupa Urea 300 kg/ha, TSP (*Triple Super Phosphate*) 200 kg/ha, MOP (*Murriate of Potash*) 300 kg/ha yang diaplikasikan sehari sebelum dilakukan penanaman. Pada tiga jenis pupuk tersebut dikombinasikan dengan bagas, blotong, abu ketel (BBA) dengan perbandingan

3 : 5 : 1 sebanyak 80 ton/ha. Pada perlakuan olah tanah intensif (T_1), BBA diberikan pada saat pengolahan tanah (BBA *Mix*) sedangkan pada petak tanpa olah tanah (TOT) BBA yang diberikan dengan cara dihamparkan sebagai mulsa. Setelah tanaman panen pada fase *plant cane*, pangkal tanaman tebu disisakan yang akan digunakan sebagai bibit baru. Bibit baru tersebut yang akan menjadi tanaman musin *ratoon I*. Penyiapan lahan yang dilakukan untuk fase *ratoon I* yaitu dengan membersihkan sisa panen yang kemudian diberi perlakuan yang sama seperti pada fase *plantcane*. Penyiapan lahan untuk tebu fase *ratoon II* adalah dengan membersihkan sisa panen tebu *ratoon I* dan debu perlakuan seperti pada fase *ratoon I*.

3.4.2. Pengambilan Sampel Tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada bulan Juni 2013 yaitu pada saat tebu *ratoon II* umur 10 bulan menjelang panen. Dari setiap petak percobaan sampel tanah diambil pada 12 titik sub sampel dengan menggunakan bor tanah. Sampel tanah diambil sampai kedalaman 20 cm dan kemudian dicampur 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, seperti pada gambar 2 (Susilo dan Karyanto, 2005).



Gambar 2. Tata letak pengambilan contoh tanah.

Keterangan :  = titik pusat (*monolith*)
 = titik pengambilan contoh tanah

3.4.3. Ekstraksi Nematoda

Ekstraksi nematoda dari tanah menggunakan metode penyaringan dan sentrifugasi dengan larutan gula. Larutan gula disiapkan dengan cara melarutkan 500 gram gula dalam air sehingga volume larutan menjadi 1000 ml (Gafur dan Swibawa, 2004).

Sebanyak 300 cc tanah \pm setara dengan 300 gram tanah dimasukkan ke dalam ember, kemudian ditambahkan air sebanyak 2 liter, diremas-remas sambil diaduk kemudian didiamkan selama 3 menit. Suspensi didekantasi menggunakan saringan dengan ukuran lubang 1 mm dan suspensi tanah ditampung dalam ember lain, tanah dan kotoran pada ember pertama dibuang. Suspensi tanah pada ember kedua didekantasi lagi dengan saringan dengan ukuran lubang 5,3 μ m dan supernatannya ditampung dalam ember ketiga. Suspensi tanah pada ember ketiga

didekantasi dengan saringan dengan ukuran lubang 3,8 μm . Suspensi tanah yang tertambat pada saringan dengan ukuran lubang 5,3 μm dan 3,8 μm dikumpulkan ke dalam tabung sentrifus, kemudian di sentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan endapannya ditambahkan larutan gula sebanyak 2 kali tinggi endapan dan diaduk merata kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 1000 rpm selama 2 menit, supernatan yang merupakan suspensi nematoda dibilas dengan air mengalir pada saringan dengan ukuran lubang 3,8 μm . Suspensi nematode kemudian ditampung pada botol suspensi.

3.4.4. Fiksasi Nematoda

Fiksasi merupakan metode yang dilakukan untuk mengawetkan nematoda dengan cara menambahkan larutan fiksasi (larutan Golden X) dalam suspensi nematode. Terlebih dahulu nematoda dimatikan dengan cara memanaskan botol suspensi sehingga mencapai suhu 50^o-70^oC. Setelah dingin suspensi dijadikan 3 ml, lalu ke dalam botol tersebut ditambahkan larutan Golden X (formalin 1,15 ml, glycerin 0,28 ml, dan aquades 8,6 ml) agar suspensi menjadi 10 ml, sehingga nematoda berada pada formalin 3%.

3.4.5. Penghitungan Populasi dan Identifikasi Nematoda

Kelimpahan seluruh nematoda dihitung dengan cara mengambil kurang lebih 3 ml suspensi, kemudian dituang ke cawan petri bergaris. Nematoda dihitung di bawah mikroskop *stereo binokuler* pada perbesaran 40 kali. Penghitungan dilakukan beberapa kali sampai suspensi habis. Identifikasi nematoda dilakukan terhadap

100 nematoda yang diambil secara acak untuk setiap sampel. Satu persatu nematoda dikait dan diamati di bawah mikroskop bedah *stereo binokuler*, sekitar 10-15 nematoda diletakkan pada kaca preparat, diberi setetes larutan Golden X kemudian ditutup dengan *coverglass*. Nematoda diamati dan diidentifikasi berdasarkan ciri morfologinya di bawah mikroskop compound dengan perbesaran 100-400 kali. Nematoda diidentifikasi sampai pada tingkat genus dengan bantuan buku Mai dan Lyon (1975) dan Goodey (1963). Nematoda kemudian dikelompokkan kedalam nematoda hidup bebas dan nematoda parasit tumbuhan berdasarkan struktur stomanya, yaitu nematoda hidup bebas tidak memiliki stilet, sedangkan nematoda parasit tumbuhan memiliki stilet.

3.4.6. Analisis Data

Data yang diperoleh adalah kelimpahan nematoda yaitu jumlah individu seluruh nematoda dan kelimpahan relatif yaitu jumlah individu setiap genus per 100 nematoda yang diidentifikasi. Berdasarkan kelimpahan relatif ini, kelimpahan genus tiap 300 cc tanah dihitung.

Kelimpahan nematoda parasit tumbuhan kemudian dianalisis ragam dengan Uji F ($\alpha=0,05$), pemisahan nilai tengah dilakukan dengan uji BNT pada taraf nyata 5%.