

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen kuantitatif. Metode penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh *treatment* (perlakuan) tertentu. Metode kuantitatif dinamakan metode tradisional karena metode ini sudah cukup lama digunakan sehingga sudah mentradisi sebagai metode untuk penelitian. Metode ini disebut metode positivistik karena berlandaskan pada filsafat positivisme. Metode ini sebagai metode ilmiah/scientific karena telah memenuhi kaidah –kaidah ilmiah yaitu konkrit/empiris, obyektif, terukur, rasional, dan sistematis (Sugiono, 2016: 6-7).

B. Desain Penelitian

Berikut ini adalah desain penelitian penghambatan jamur *Colletotrichum gloeosporioides* dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Rancangan Acak Lengkap ini adalah rancangan paling sederhana memiliki syarat yaitu media/ bahan percobaan homogen/ seragam, penempatan perlakuan secara acak (random) dengan undian atau lort (Suhaerah, 2016: 70). Teknik yang digunakan yaitu *teknik PDA Dilusi padat*. Prinsip metode dilusi adalah larutan uji diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi larutan uji ditambahkan suspensi jamur dalam media. Pada dilusi padat, tiap konsentrasi larutan uji dicampurkan ke dalam media agar. Setelah padat kemudian ditanami bakteri/jamur (Hugo dan Russel, 1987 dalam skripsi Sulistyorini 2015: 38).

Perlakuan yang digunakan yaitu 6 perlakuan dengan 4 pengulangan menggunakan konsentrasi 30 %, 40 %, 50 %, 60%, 70% dan kontrol dengan menggunakan aquades dilakukan secara *in vitro*. Rumus untuk menentukan pengulangan yaitu dengan rumus Federer (1997).

$$(r-1) (t-1) \geq 15$$

Keterangan :

r = Jumlah Pengulangan

t = Jumlah Perlakuan , dalam hal ini ada 6 perlakuan (30 %, 40 %, 50 %, 60%, 70% dan kontrol dengan menggunakan aquades), sehingga :

$$(r-1) (t-1) \geq 15$$

$$(r-1) (6-1) \geq 15$$

$$(r-1) (5) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 4$$

Jadi banyaknya pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 kali (Yulia. 2017).

Berikut ini adalah desain penelitian penempatan cawan petri pada inkubator dengan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap).

Tabel 3.1. Desain Penelitian Metode RAL (Rancangan Acak Lengkap)

P1.30%	P1.50%	P1.40%	P1.60%	P1.70%	K1
P2.40%	P2.30%	P2.60%	P2.50%	K2	P2.70%
P3.70%	P3.60%	P3.30%	P3.50%	P3.40%	K3
P4.40%	P4.50%	P4.70%	P4.30%	K4	P4.60%

Keterangan :

K1 = Kontrol pengulangan 1

K2 = Kontrol pengulangan 2

K3 = Kontrol pengulangan 3

K4 = Kontrol pengulangan 4

P1.30% = Pengulangan 1 dengan konsentrasi 30%.

P2.30% = Pengulangan 2 dengan konsentrasi 30%.

P3.30% = Pengulangan 3 dengan konsentrasi 30%.

P4.30% = Pengulangan 4 dengan konsentrasi 30%.

P1.40% = Pengulangan 1 dengan konsentrasi 40%.

P2.40% = Pengulangan 2 dengan konsentrasi 40%.

P3.40% = Pengulangan 3 dengan konsentrasi 40%.

P4.40% = Pengulangan 4 dengan konsentrasi 40%.

P1.50% = Pengulangan 1 dengan konsentrasi 50%.

P2.50% = Pengulangan 2 dengan konsentrasi 50%.

P3.50% = Pengulangan 3 dengan konsentrasi 50%.

P4.50% = Pengulangan 4 dengan konsentrasi 50%.

P1.60% = Pengulangan 1 dengan konsentrasi 60%.

P2.60% = Pengulangan 2 dengan konsentrasi 60%.

P3.60% = Pengulangan 3 dengan konsentrasi 60%.

P4.60% = Pengulangan 4 dengan konsentrasi 60%.

P1.70% = Pengulangan 1 dengan konsentrasi 70%.

P2.70% = Pengulangan 2 dengan konsentrasi 70%.

P3.70% = Pengulangan 3 dengan konsentrasi 70%.

P4.70% = Pengulangan 4 dengan konsentrasi 70%.

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek penelitian

Subjek dari penelitian ini yaitu jamur *Colletotrichum gloeosporioides* penyakit tanaman jeruk.

2. Objek penelitian

Objek dari penelitian ini yaitu penghambatan pertumbuhan jamur *Colletotrichum gloeosporioides* penyakit tanaman jeruk.

D. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi dilakukannya penelitian yaitu di Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan yang terletak di Jln. Tamansari No. 6-8 Bandung Jawa Barat 400116. Penelitian dilakukan pada tanggal 26 sampai 31 Mei 2017, dengan pengamatan dilakukan pada pukul 10.00 WIB.

Tabel 3.3. Hasil Pengamatan Pertumbuhan Koloni Jamur *Colletotrichum gloeosporioides* (mm) Setiap Perlakuan.

Perlakuan	Diameter Pertumbuhan Koloni (mm)				Rata-rata
	Pengulangan				
	1	2	3	4	
Kontrol					
30%					
40%					
50%					
60%					
70%					

F. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan uji normalitas, uji homogenitas, uji ANOVA *one-way* dan uji lanjutan menggunakan Tukey dengan tingkat kesalahan yang digunakan adalah 0,05% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang diujikan pada bahan. Analisis data untuk menguji statistika dengan menggunakan aplikasi SPSS24. Uji normalitas adalah sebuah uji yang dilakukan dengan tujuan untuk menilai sebaran data pada sebuah kelompok data atau variabel, apakah sebaran data tersebut berdistribusi normal ataukah tidak. Uji homogenitas adalah pengujian mengenai sama tidaknya variansi-variansi dua buah distribusi atau lebih. Uji Anova *one-way* merupakan singkatan dari “*analysis of varian*“. *Analysis of Varian* adalah salah satu uji komparatif yang digunakan untuk menguji perbedaan mean (rata-rata) data lebih dari dua kelompok. Untuk melakukan uji Anova, harus dipenuhi beberapa asumsi, yaitu:

1. Sampel berasal dari kelompok yang independen.
2. Varian antar kelompok harus homogen.
3. Data masing-masing kelompok berdistribusi normal.

Uji Tukey biasa juga disebut uji beda nyata jujur (BNJ) atau *honestly significance difference* (HSD), diperkenalkan oleh Tukey (1953). Prosedur pengujiannya mirip dengan LSD, yaitu mempunyai satu pembanding dan digunakan sebagai alternatif pengganti LSD apabila kita ingin menguji seluruh pasangan rata-rata perlakuan tanpa rencana. Uji Tukey digunakan untuk

membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah uji Analisis Ragam di lakukan (Hidayat, 2013).

G. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari dua tahap kegiatan yang meliputi tahap persiapan dan tahap pelaksanaan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP Universitas Pasundan Bandung.

Adapun prosedur penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

1. Tahap Persiapan

- a. Menyusun proposal penelitian.
- b. Menyusun surat perizinan pembelian jamur di Laboratorium Mikologi Departemen Hama Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor (IPB).
- c. Menyusun surat perizinan melakukan penelitian di Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan Bandung.
- d. Melakukan observasi alat dan bahan yang digunakan.
- e. Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, yaitu:

Tabel 3.4. Alat dan Bahan

No	Nama Alat dan Bahan	Fungsi	Jumlah
1	Inkubator	Untuk menginokulasi jamur <i>colletotrichum</i> dan tempat penyimpanan inokulasi jamur.	1 Buah
2	Oven	Untuk mengeringkan bahan yang akan dijadikan ekstrak.	1 Buah
3	Becker glass	Untuk menyimpan ekstrak yang sudah di saring.	3 Buah
4	Cawan petri	Untuk menyimpan PDA dan tempat inokulasi jamur.	24 Buah
5	Pipet	Untuk memindahkan bahan dari alat satu ke alat lainnya.	7 Buah
6	Gelas ukur	Untuk mengukur ekstraksi bawang putih, aquades dan etanol 70%.	3 Buah
7	Kertas saring	Untuk menyaring ekstraksi yang sudah di rendam selama 24 jam.	3 Lembar
8	Neraca	Untuk menimbang PDA.	1 Buah

9	Blander	Untuk memperhalus bawang putih yang sudah dioven.	1 Buah
10	Autoclave	Untuk mensterilisasikan alat dan bahan.	1 Buah
11	Lampu Spirtus	Untuk memanaskan cawan petri agar tetap steril.	1 Buah
12	Spatula	Untuk memindahkan jamur ke dalam PDA yang sudah diberikan ekstrak bawang putih.	1 Buah
13	Korek api	Untuk menyalakan api spirtus.	1 Bungkus
14	Tabung gas	Untuk menyalakan autoclave	1 Buah
15	Masker dan jas laboratorium	Untuk menjaga kebersihan alat dan bahan.	1 Buah
16	Sarung tangan	Untuk melindungi tangan agar tidak kotor	1 Pasang
17	Kamera Digital	Untuk mendokumentasikan persiapan dan pelaksanaan praktikum.	1 Buah
18	Labu elemeyer	Untuk menyimpan PDA.	4 Buah
19	Pisau	Untuk mengupas bawang putih	1 Buah
20	Batang pengaduk	Untuk mengaduk bawang putih yang telah tercampur etanol 70%.	2 Buah
21	Toples	Untuk tempat merendam bawang putih dengan etanol 70%.	3 Buah
22	Nampan	Untuk tempat bawang putih yang sudah di iris.	3 Buah
23	<i>Magnetic heated stirer</i>	Untuk mengaduk bahan agar tercampur merata.	1 Buah
24	<i>Rotatory evaporator</i>	Untuk menguapkan ekstrak bawang putih yang sudah di rendam selama 24 jam. Dan untuk memisahkan bahan alami yang terkandung dalam ekstrak bawang putih.	2 Buah
25	Karet	Untuk mengikat plastik agar rapat dan tidak ada udara	Secukupnya
26	Plastik	Untuk membungkus cawan petri yang akan di sterilkan di autoclave	Secukupnya
27	Tissue	Untuk menggelap bagian-bagian yang kotor	Secukupnya
28	Penggaris	Untuk mengukur diameter koloni	1 Buah
29	Buku catatan	Untuk mencatat data hasil pengamatan	1 Buah
30	Botol gelap	Untuk wadah ekstrak bawang putih yang sudah di rotatory evaporator	Secukupnya

31	Bawang Putih	Sebagai subjek bahan penelitian.	2 kg
32	Jamur <i>Colletotrichum sp</i>	Sebagai objek yang diamati.	2 Cawan petri
33	Etanol 70%	Sebagai campuran ekstrak bawang putih dan untuk memisahkan zat yang terkandung di dalam ekstrak bawang putih.	4 Liter
34	PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>)	Sebagai media untuk pertumbuhan jamur <i>colletotrichum</i> .	40 gram
35	Aquades	Sebagai campuran PDA dan ekstrak bawang putih untuk pembuatan konsentrasi.	1000 ml
36	Alumunium foil	Untuk menutup toples agar terhindar dari kontaminasi	Secukupnya

2. Tahap Pelaksanaan

Dalam tahap kedua yaitu tahap pelaksanaan penelitian yang didalamnya mencakup sterilisasi alat, ekstraksi bawang putih, pembuatan PDA, uji in vitro penghambatan pertumbuhan jamur *Colletotrichum gloeosporioides*.

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang sudah tersedia dimasukan kedalam plastik anti panas dan diikat dengan karet agar rapih tanpa ada udara. Autoclave yang sudah tersedia di kasih air secukupnya. Kemudian alat bahan yang sudah di ikat dengan rapih dimasukan kedalam autoclave yang berada di Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP UNPAS dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah 15 menit alat dan bahan dikeluarkan dari autoclave dan siap untuk digunakan.

b. Ekstraksi bawang putih

Bawang putih yang dibeli di pasar baru sebanyak 2 kg dikupas lalu diiris kemudian dioven selama 6 jam dengan suhu 60°C sampai kering. Setelah kering bawang putih di blender hingga halus sehingga mendapatkan 500 gr serbuk bawang putih kemudian serbuk bawang putih di rendam memakai etanol 70% selama 24 jam dengan perbandingan 1 : 5 . Setelah perendaman selama 24 jam, air rendaman tersebut di saring menggunakan kertas saring agar serbuk dengan airnya terpisahkan , setelah penyaringan berlangsung kemudian ekstrak bawang putih di uapkan memakai alat Rotatory Evaporator yang berada di Labolatorium Teknik

Pangan Universitas Pasundan Bandung.

Setelah ekstrak di rotatory evaporator kemudian di buatkan konsentrasi menjadi beberapa konsentrasi dengan rumus:

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

Keterangan :

V_p = Volume larutan pekat

K_p = Konsentrasi larutan pekat

V_e = Volume larutan encer

K_e = Konsentrasi larutan encer

(Suhara. 2013: 44).

1). Pembuatan konsentrasi 30%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 30.20$$

$$= 600/100$$

$$= 6 \text{ ml ekstrak bawang putih } 14 \text{ ml aquades}$$

2). Pembuatan ekstrak 40%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 40.20$$

$$= 800/100$$

$$= 8 \text{ ml ekstrak bawang putih } 12 \text{ ml aquades}$$

3). Pembuatan ekstrak 50%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 50.20$$

$$= 1000/100$$

$$= 10 \text{ ml ekstrak bawang putih } 10 \text{ ml aquades}$$

4). Pembuatan ekstrak 60%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 60.20$$

$$= 1200/100$$

$$= 12 \text{ ml ekstrak bawang putih } 8 \text{ ml aquades}$$

5). Pembuatan ekstrak 70%

$$V_p.K_p = V_e.K_e$$

$$100.K_p = 70.20$$

$$= 1400/100$$

$$= 14 \text{ ml ekstrak bawang putih } 6 \text{ ml aquades}$$

6). Kontrol hanya dengan aquades + PDA

c. Pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Pembuatan PDA dilakukan di Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP Universitas Pasundan Bandung. Serbuk PDA sebanyak 40 gram di encerkan dengan pelarut aquades sebanyak 1000 ml dalam erlenmeyer menggunakan Magnetic heated stirrer sampai PDA mengental dan teraduk rata. Setelah PDA mengental lalu di sterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. PDA yang sudah steril di masukan ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml dengan ditambah konsentrasi ekstrak bawang putih yang diinginkan sebanyak 5 ml. Setelah PDA dan ekstrak bawang putih sudah tercampur dalam cawan petri, PDA tersebut didiamkan hingga mengental dan dingin. PDA yang telah dingin siap di isolasi dan inokulasi jamur *Colletotrichum gloeosporioides*.

d. Uji in vitro Penghambatan Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum gloeosporioides*.

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan miselium jamur *Colletotrichum gloeosporioides* pada media PDA yang telah dicampur dengan larutan ekstrak bawang putih sesuai dengan konsentrasi. PDA cair dengan suhu 40°C dituangkan sebanyak 10 ml ke dalam cawan petri. Kemudian larutan ekstrak dicampurkan ke dalam cawan petri sebanyak 5 ml hingga merata dan didiamkan hingga padat.

Miselium *Colletotrichum gloeosporioides* diambil dengan cara memotong PDA yang telah ditumbuhi biakan murni *Colletotrichum gloeosporioides* dengan pemotong media berdiameter 7 mm. Miselium tersebut diinokulasikan pada PDA

yang telah dicampur dengan larutan ekstrak di bagian tengah cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan diamati setiap hari dalam kurun waktu 5 hari. Parameter yang diamati adalah diameter koloni jamur *Colletotrichum gloeosporioides*.