

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Metode Penelitian**

Metode penelitian merupakan rangkaian kegiatan pelaksanaan penelitian. Menurut Sugiyono (2015, hlm 2) mengatakan bahwa metode penelitian pada dasarnya merupakan cara ilmiah untuk mendapatkan data dengan tujuan dan kegunaan tertentu. Pada penelitian ini digunakan pendekatan kuantitatif yang menekankan kepada fenomena-fenomena objektif untuk kemudian dianalisis dengan pengolahan statistik.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Berdasarkan pengertiannya bahwa penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan (Sugiyono, 2015. hlm. 72).

#### **B. Desain Penelitian**

Desain yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap merupakan jenis rancangan percobaan dimana perlakuan diberikan secara acak kepada seluruh unit percobaan. Penelitian ini menggunakan dilusi padat dengan 8 perlakuan dan 3 pengulangan. Untuk menentukan pengulangan menggunakan rumus Federer, yaitu sebagai berikut:

$(t - 1)(r - 1) \geq 15$	Keterangan :
$(8 - 1)(r - 1) \geq 15$	t = perlakuan
$7(r - 1) \geq 15$	r = pengulangan
$7r - 7 \geq 15$	15 = faktor nilai derajat kebebasan umum
$7r \geq 15 + 7$	
$7r \geq 22$	
$r \geq \frac{22}{7} = 3,142$	

Dibulatkan = 3

Perlakuan yang digunakan yaitu dengan memberikan beberapa konsentrasi ekstrak lengkuas 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% dan kontrol menggunakan

campuran etanol dan aquades yang dilakukan secara *in vitro*.

Penelitian ini perlu adanya suatu denah penelitian, berikut adalah denah penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang di gunakan dalam penelitian ini.

**Tabel 3.1 Denah Penelitian**

PLe	PLh	PLa	PLb	PLd	PLg	PLc	PLf
PLb	PLg	PLc	PLf	PLh	PLe	PLa	PLd
PLa	PLd	PLf	PLe	PLb	PLc	PLh	PLg

Keterangan:

PLa : Perlakuan Kontrol

PLb : Perlakuan 20%

PLc : Perlakuan 30%

PLd : Perlakuan 40%

PLe : Perlakuan 50%

PLf : Perlakuan 60%

PLg : Perlakuan 70%

PLh : Perlakuan 80%

### **C. Subjek dan Objek Penelitian**

1. Subjek pada penelitian ini yaitu jamur *Alternaria sp.*
2. Objek penelitian ini yaitu pertumbuhan jamur *Alternaria sp.* dengan cara menginokulasikan jamur *Alternaria sp.* pada cawan petri di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pasundan.

#### **a. Waktu dan Tempat**

Penelitian uji mikrobiologi (uji *in vitro* penghambatan pertumbuhan jamur *Alternari sp.*) dilakukan pada bulan Mei 2017 hingga Juni 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pasundan.

## b. Alat dan Bahan

Dibawah ini merupakan alat-alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian skripsi, berikut daftar alat dan bahan:

### 1) Alat

**Tabel 3.2 Daftar Nama Alat**

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1	Jarum Ose	Kawat	2 Buah
2	<i>Becker glass</i>	2000 ml	2 Buah
3	<i>Becker glass</i>	250 ml	2 Buah
4	Cawan petri	Diameter 10 cm	24 Buah
5	Pipet	Kaca dan karet	2 Buah
6	Gelas ukur	250 ml	2 Buah
7	Gelas ukur	10 ml	2 buah
8	Kertas saring	Kertas	3 Lembar
9	Inkubator	Alat inkubasi	1 Buah
10	Autoclave	Alat Sterilisasi	1 Buah
11	Lampu Spirtus	Kaca dan spirtus	1 Buah
12	Blender	Alat penghalusan	1 Buah
13	Pisau	Alat pemotong	1 Buah
14	Korek Api	Korek bensin	1 Buah
15	Toples	Kaca	2 Buah
16	Water bath	Penguapan ekstrak	1 Buah
17	Rotary Evapulator	Alat ekstraksi	1 Buah
18	Sarung Tangan	Karet	Seperlunya
19	Masker	Kain	Seperlunya
20	Jas Laboratorium	Jas	Seperlunya
21	Gelas Pengaduk	Kaca	2 Buah
22	Spatula	Semi besi	2 Buah
23	Pengebor Gabus	(±) 0,5 cm	1 Buah
24	Labu <i>Elemeyer</i>	1000 ml	2 Buah
25	Stirer	Pemanas, pengaduk	1 Buah
26	Karet	Karet	Secukupnya
27	Plastik Tahan Panas	Plastik	Secukupnya

### 2) Bahan

**Tabel 3.3 Daftar Nama Bahan**

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1	Aquades	Cair	2000 ml
2	PDA ( <i>Potato Dextrose Agar</i> )	Powder	150 gr
3	Jamur <i>Alternaria sp.</i>	Jamur	Seperlunya
4	Lengkuas ( <i>Alpinia purpurata</i> K. Schum)	Rimpang	2 Kg
5	Etanol 70%	Cair	3000 ml

### c. Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah biakan murni jamur *Alternaria sp.* yang berada pada cawan petri.

### d. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah jamur *Alternaria sp.* sebesar 5 mm yang diinokulasikan pada media tumbuh yaitu PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang dicampurkan dengan ekstrak lengkuas (*Alpinia purpurata* K. Schum) yang berada pada cawan petri.

## D. Pengumpulan Data dan Instrumen Penilaian

### 1. Pengumpulan Data

Pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan observasi. Menurut Sugiyono (2015, hlm 145) mengatakan bahwa teknik pengumpulan data dengan cara observasi digunakan bila penelitian berkenaan dengan perilaku manusia, proses kerja, gejala-gejala alam dan bila responden yang diamati tidak terlalu besar. Pada penelitian ini peneliti mengamati secara langsung objek yang diteliti yaitu jamur *Alternaria sp.*

### 2. Instrumen Penilaian

Perlakuan dan perawatan adalah segala sesuatu yang diberikan kepada objek penelitian dalam penelitian ini. Perlakuan dan perawatan dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan data tentang ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) terhadap pertumbuhan jamur *Alternaria sp.* sebagai antifungi. Pengambilan data pada penelitian ini membutuhkan suatu formatan pengambilan data untuk memperoleh data hasil observasi suatu objek, di bawah ini merupakan format pengambilan data yang digunakan.

**Tabel 3.4 Format Pengambilan Data**

Perlakuan	Pengulangan		
	1	2	3
Kontrol			
20%			
30%			
50%			

Perlakuan	Pengulangan		
	1	2	3
70%			
80%			

## E. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian kemudian dianalisis untuk mengetahui signifikansi perbedaan rerata dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) *one-way* dan diuji lanjutan menggunakan Tukey dengan tingkat kesalahan yang digunakan adalah 5% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang diujikan pada bahan. Tetapi penggunaan uji *one-way* ANOVA dapat dilakukan apabila kedua asumsinya terpenuhi, apabila kedua asumsinya tidak terpenuhi maka akan dilakukan uji Kruskal-Wallis kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Mann-Whitney. Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji statistik dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Science* (SPSS).

### 1. Uji Prasarat

#### a. Uji Normalitas

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 atautakah tidak. Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan metode uji Shapiro Wilk, menurut Hidayat. A (2013) mengatakan bahwa metode ini merupakan metode uji normalitas yang efektif dan valid digunakan untuk sampel berjumlah kecil.

#### b. Uji Homogenitas

Menurut Kurnia. C. dalam Zulkifli. M (2017) mengatakan bahwa uji homogenitas untuk memberikan keyakinan bahwa sekumpulan data yang dimanipulasi dalam serangkaian analisis memang berasal dari populasi yang tidak jauh berbeda keragamannya. Uji homogenitas pada penelitian ini dilakukan dengan uji homogenitas pada *One-way* ANOVA.

## 2. Uji Hipotesis

Uji *one-way* ANOVA dilakukan untuk mengetahui perbedaan rerata pada data yang didapat, setelah menghitung perbedaan rerata dengan uji *one-way* ANOVA kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan Tukey dengan tingkat kesalahan 5% atau (0,05) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang diujikan pada bahan. Penggunaan uji *one-way* ANOVA dapat dilakukan apabila kedua asumsinya terpenuhi dan apabila kedua asumsinya tidak terpenuhi maka akan dilakukan uji Kruskal-Wallis kemudian dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Mann-Whitney. Asumsi untuk dapat melakukan uji *one-way* ANOVA yaitu apabila hasil uji normalitas didapatkan data berdistribusi normal dan apabila hasil uji homogenitas didapatkan data bersifat homogen.

## F. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dengan mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan terlebih dahulu yang meliputi sterilisasi alat dan mempersiapkan bahan (isolat murni *Alternaria sp.*, PDA dan ekstrak lengkuas). Tahapan dalam melaksanakan penelitian ini akan diuraikan di bawah ini.

### 1. Studi Lapangan

Penelitian ini dimulai dengan studi lapangan, mencari jamur serta membelinya pada salah satu Perguruan Tinggi Negeri di Bogor, Jawa Barat, dan rimpang lengkuas. Rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) diperoleh di Pasar Baru, Kota Bandung, Jawa Barat. Selain menyiapkan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, juga menyiapkan alat-alat yang akan digunakan dalam proses penelitian, seperti menyiapkan cawan petri, gelas ukur, kertas saring, inkubator, autoclave, blender, pisau, toples, gelas pengaduk, pengebor gabus, labu elemeyer, stirer, karet, plastik tahan panas, spatula, masker, sarung tangan, jas laboratorium, *rotary evaporator*, *water bath*, pipet, lampu spirtus.

## 2. Pembuatan Ekstrak Lengkuas

Melakukan penyortiran segar dengan cara membersihkan rimpang lengkuas menggunakan air bersih hingga terpisah dari sisa-sisa tanah, rimpang lengkuas yang masih segar sebanyak 2 kg dipotong-potong menggunakan pisau, potongan lengkuas dikeringkan kemudian diekstrak dengan cara maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam lengkuas kedalam etanol 70% sebanyak 1000 ml. Alasan penggunaan etanol 70% sebagai cairan penyari karena kandungan yang terkandung dalam lengkuas larut dalam etanol (Jaya. K. G. Dewa I, 2007). Berdasarkan cara kerjanya bahwa dalam proses maserasi perlu sesekali adanya pengadukan. Kemudian setelah 3 sampai 4 hari dalam perendaman simplisia lengkuas disaring dengan menggunakan kertas saring, setelah disaring, *filtrat dievaporasi* dengan *rotary evaporator* (40°C, vakum), diuapkan pelarutnya sehingga terbentuk ekstrak kental (Iskandar. L. N, 2015).

## 3. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat dan bahan yang akan dipakai pada saat penelitian harus melewati tahapan sterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan *Autoclave* selama 15–20 menit. Alat dan bahan dimasukkan pada *Autoclave* untuk melakukan sterilisasi.

## 4. Pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Media tumbuh perlakuan disiapkan dengan cara mencampurkan larutan ekstrak dengan PDA cair sesuai dengan taraf konsentrasi dalam cawan petri (Darmawan, W. U. dkk. 2012). Pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*) menggunakan PDA yang telah di sediakan oleh laboratorium. Menyiapkan PDA dan menimbanginya sebanyak 40 gram, kemudian tuangkan pada lebu elemeyer. Setelah itu siapkan aquades sebanyak 1000 ml yang telah diukur menggunakan gelas ukur, kemudian campurkan PDA dengan aquades. Panaskan dan aduk dengan menggunakan strirer. Setelah proses pemanasan dan pengadukan selesai, PDA di sterilisasi menggunakan *Autoclave*, dan setelah di sterilisasi PDA dituangkan pada setiap cawan petri.

### 5. Uji *in vitro* Penghambatan Pertumbuhan Jamur *Alternaria sp.*

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan miselium jamur *Alternaria sp.* pada media PDA yang telah dicampur dengan larutan ekstrak lengkuas sesuai dengan konsentrasi. Isolat murni *Alternaria sp.* diperoleh dari biakan berumur 3 minggu dari koleksi laboratorium mikologi Departemen Hama Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Menurut Darmawan, W. U. dkk. (2012) mengatakan bahwa media tumbuh perlakuan disiapkan dengan cara mencampurkan larutan ekstrak dengan PDA cair sesuai dengan taraf konsentrasi PDA dituangkan ke dalam cawan petri, kemudian larutan ekstrak dicampurkan ke dalam cawan petri hingga merata dan didiamkan hingga padat. Inokulum yang ditanam berupa lempengan berdiameter antara 0,4–0,5 cm dengan menggunakan *cork borer* yang disterilkan dengan cara dibakar diatas pembakar Bunsen. Media tumbuh cawan petri yang berisi inokulum kemudian dipasangkan *plastic wrap* agar tidak terkontaminasi.

Miselium *Alternaria sp.* diambil dengan cara memotong PDA yang telah ditumbuhi biakan murni *Alternaria sp.* miselium tersebut diinokulasikan pada PDA yang telah dicampur dengan larutan ekstrak di bagian tengah cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan diamati. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan diameter yang kemudian diukur dari pusat inokulum diletakan sampai lingkaran luar koloni.

### 6. Pengambilan Data

Menurut Darmawan, W. U. dkk. (2012) mengatakan bahwa pengambilan data dilakukan setelah 3–5 hari miselium di inokulasikan pada PDA. Jamur diamati dengan mengukur dan menghitung diameter pertumbuhan jamur *Alternaria sp.* setelah selesai pengambilan data, nilai penghambatan dengan menggunakan rumus.

$$R = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

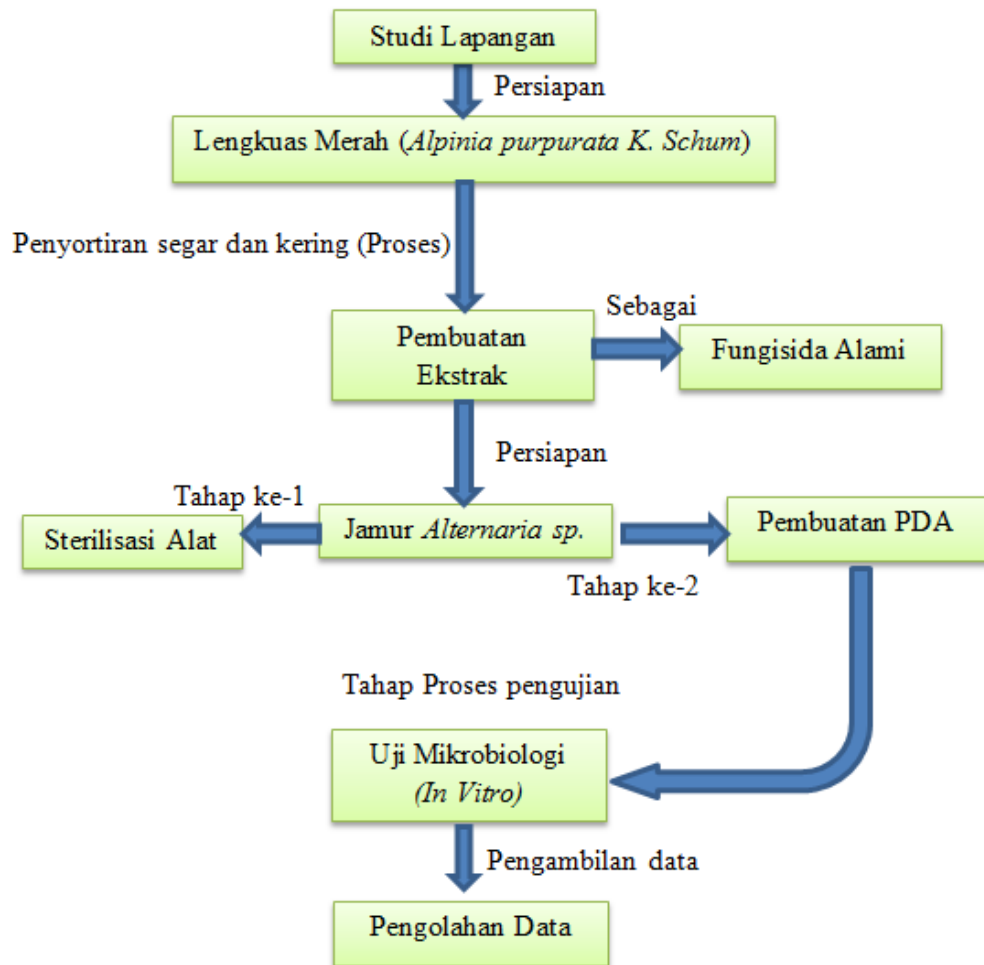
Keterangan:

R= Presentase penghambatan pertumbuhan (%)

R1= Diameter pertumbuhan pada kontrol (mm)

R2= Diameter pada tiap perlakuan (mm) (Muksin, R, 2013).





Gambar 3.1 Bagan Prosedur Penelitian