

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen kuantitatif. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang diberikan secara sengaja oleh peneliti (Hadi, 1985). Sedangkan penelitian kuantitatif adalah suatu proses menemukan pengetahuan yang menggunakan data berupa angka sebagai alat menganalisis keterangan mengenai apa yang ingin diketahui (Kasiram, 2008). Penelitian ini menggunakan teknik *Dilusi* yang bertujuan untuk mengetahui apakah penggunaan ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) dapat dijadikan sebagai fungisida alami dalam mengendalikan pertumbuhan jamur *Colletotrichum sp* penyebab penyakit antraknosa pada tanaman jeruk (*Citrus spp*).

#### B. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan metode *Dilusi* dengan 6 perlakuan dan 4 pengulangan. Metode *Dilusi* adalah adalah suatu metode yang pengamatannya dilakukan dengan melihat tumbuh atau tidaknya jamur dalam media (Ganiswara, 1995). Perlakuan yang digunakan adalah beberapa konsentrasi ekstrak lengkuas merah yaitu 30%, 40%, 50 %, 60%, 70%, dan kontrol dengan menggunakan aquades yang dilakukan secara *in vitro*.

Pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu berdasarkan rumus Federer sebagai berikut:

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

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan

Perhitungan jumlah pengulangan dalam penelitian ini adalah:

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

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 4$$

(Suhaerah, 2016)

Jadi banyaknya pengulangan berdasarkan penghitungan adalah 4 kali pengulangan.

Berikut adalah tata letak perlakuan jamur *Colletotrichum sp*

**Tabel 3.1** Tata Letak Perlakuan Jamur *Colletotrichum sp*

<sup>1</sup> B	<sup>2</sup> C	<sup>3</sup> A	<sup>4</sup> D
<sup>5</sup> A	<sup>6</sup> D	<sup>7</sup> F	<sup>8</sup> F
<sup>9</sup> D	<sup>10</sup> B	<sup>11</sup> C	<sup>12</sup> A
<sup>13</sup> E	<sup>14</sup> F	<sup>15</sup> E	<sup>16</sup> B
<sup>17</sup> F	<sup>18</sup> A	<sup>19</sup> D	<sup>20</sup> C
<sup>21</sup> C	<sup>22</sup> E	<sup>23</sup> B	<sup>24</sup> E

Keterangan:

A = Kontrol

B = Konsentrasi 30%

C = Konsentrasi 40%

D = Konsentrasi 50%

E = Konsentrasi 60%

F = Konsentrasi 70%

### C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek dalam penelitian ini yaitu lengkuas, bagian lengkuas yang digunakan yaitu rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) yang diperoleh dari Pasar Baru, Kota Bandung, Jawa Barat. Rimpang lengkuas merah diproses menjadi ekstrak lengkuas merah dengan menggunakan metode maserasi. Ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak lengkuas merah dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan kontrol dengan menggunakan aquades.
2. Objek pada penelitian ini yaitu jamur *Colletotrichum sp.* Parameter yang diamati yaitu dengan mengamati diameter pertumbuhan koloni jamur yang terbentuk disekitar media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang bercampur ekstrak lengkuas dengan beberapa konsentrasi dengan satuan pengamatan mm. Jamur *Colletotrichum sp* diperoleh dari Laboratorium Mikologi, Departemen Hama Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (IPB), Kabupaten Bogor, Jawa Barat.

#### a. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2017 bertempat di Laboratorium Biologi, Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pasundan Bandung.

#### b. Alat dan Bahan

Dibawah ini merupakan alat dan bahan yang digunakan dalam proses penelitian, yaitu sebagai berikut.

- 1) Alat

**Tabel 3.2** Alat yang digunakan dalam Penelitian

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Kertas saring	Ukuran 58x58 cm	1 Lembar
2.	Toples kaca	2000 ml, 3000 ml	3 Buah
3.	Beaker glass	250 ml, 1000 ml, 2000 ml	3 Buah
4.	Petridisk	Diameter 10 cm	25 Buah
5.	Pipet tetes	Kaca dan karet	3 Buah
6.	Gelas ukur	10 ml, 250 ml, 500 ml	3 Buah
7.	Labu erlenmeyer	1000 ml	1 Buah

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
8.	Jarum ose	Kawat	1 Buah
9.	Inkubator	28°C	1 Buah
10.	Autoclave	121°C	1 Buah
11.	Bunsen	Kaca dan spirtus	1 Buah
12.	Korek api	Kayu	1 Buah
13.	Blender	2 liter	1 Buah
14.	Masker	Kain	1 Buah
15.	Jas Lab	Kain	1 Buah
16.	Sarung tangan	Karet	1 Pasang
17.	Botol buram	300 ml	6 Buah
18.	Penggaris	Panjang 30 cm	1 Buah
19.	Pisau	Besi	1 Buah
20.	Baki plastik	Plastik	1 Buah
21.	Kertas label	Kertas	Secukupnya
22.	Rotary evaporator	40°C	1 Buah
23.	Batang pengaduk	Tebal 7 mm x 30 cm	1 Buah
24.	Alumunium foil	30 cm x 8 m	1 Gulung
25.	Plastik es	20x30 cm	Secukupnya
26.	Pelubang gabus	Diameter 5 mm	1 Buah
27.	Stirrer	Digital	1 Buah
28.	Oven	Digital	1 Buah
29.	Karet gelang	Karet	Secukupnya
30.	Spatula	Alumunium	1 Buah
31.	Corong	Diameter 75 mm	1 Buah
32.	Timbangan	Digital	1 Buah

## 2) Bahan

**Tabel 3.3** Bahan yang digunakan dalam Penelitian

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1.	Lengkuas ( <i>Alpinia purpurata</i> K. Schum)	Rimpang	2 kg
2.	Jamur <i>Colletotrichum sp</i>	Jamur	Secukupnya
3.	Ethanol 70%	Cair	3000 ml
4.	PDA ( <i>Potato Dextrose Agar</i> )	Serbuk	40 g
5.	Aquades	Cair	2000 ml

**c. Bahan yang di Uji**

Bahan yang di uji yaitu rimpang lengkuas merah yang dijadikan ekstrak dengan metode maserasi menggunakan cairan pelarut ethanol 70% dengan beberapa konsentrasi.

**d. Sampel Penelitian**

Jamur *Colletotrichum sp* yang diinokulasikan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang bercampur ekstrak lengkuas dengan beberapa konsentrasi dan diinkubasi pada suhu kamar (28°C) kemudian diamati setiap 1x24 jam selama 5 hari.

**D. Pengumpulan Data dan Instrumen Penelitian****1. Pengumpulan Data**

Adapun pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Observasi, yaitu suatu teknik pengumpulan data dengan mengamati secara langsung objek yang diteliti yaitu jamur *Colletotrichum sp*.
- Objek diamati setiap 1x24 jam selama 5 hari. Parameter yang diamati yaitu diameter pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum sp* pada media PDA yang bercampur ekstrak lengkuas merah dengan beberapa konsentrasi, dengan satuan pengamatan mm.

**2. Instrumen Penelitian**

Dibawah ini merupakan format pengambilan data yang digunakan yaitu sebagai berikut.

**Tabel 3.4** Format Hasil Pengamatan Diameter Pertumbuhan Koloni *Jamur Colletotrichum sp*

Perlakuan	Pengulangan	Diameter pertumbuhan koloni jamur <i>Colletotrichum sp</i> (mm)				
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5
<b>Kontrol</b>	1					
	2					
	3					
	4					
<b>Konsentrasi 30%</b>	1					
	2					
	3					
	4					
<b>Konsentrasi 40%</b>	1					
	2					
	3					
	4					
<b>Konsentrasi 50%</b>	1					
	2					
	3					
	4					
<b>Konsentrasi 60%</b>	1					
	2					
	3					
	4					
<b>Konsentrasi 70%</b>	1					
	2					
	3					
	4					

**Tabel 3.5** Format Rata-rata Hasil Pengamatan Diameter Pertumbuhan Koloni Jamur *Colletotrichum sp*

Pengulangan	Diameter pertumbuhan koloni jamur <i>Colletotrichum sp</i> pada beberapa perlakuan konsentrasi (mm)					
	Kontrol	30%	40%	50%	60%	70%
1						
2						
3						
4						
<b>Rata-rata</b>						

#### E. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan ANOVA *one-way* dan uji lanjutan menggunakan *Tukey* dengan tingkat kesalahan yang digunakan adalah 5% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang diujikan pada bahan. Jika data yang diperoleh tidak memenuhi syarat, maka dilakukan uji non parametrik yaitu dengan uji *Kruskal-Wallis* kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Analisis data menggunakan uji statistik dengan menggunakan aplikasi *SPSS*.

#### F. Prosedur Penelitian

Langkah-langkah penelitian ini dimulai dari beberapa tahap, diantaranya:

##### 1. Studi Lapangan

Penelitian ini dimulai dengan studi lapangan terlebih dahulu, dimulai dengan mencari bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian diantaranya jamur *Colletotrichum sp* dan rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum). Jamur *Colletotrichum sp* diperoleh dari Laboratorium Mikologi, Departemen Hama Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (IPB), Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Sedangkan rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) diperoleh dari Pasar Baru, Kota Bandung, Jawa Barat. Selain menyiapkan bahan-bahan, juga menyiapkan alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian.

## 2. Pembuatan Ekstrak Lengkuas

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa dari serbuk nabati atau serbuk hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan sehingga diperoleh masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi bahan baku yang ditetapkan (Soesilo, 1989).

Metode yang digunakan dalam pembuatan ekstrak lengkuas merah yaitu dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi adalah proses ekstraksi dengan mencampurkan antara pelarut dan bahan yang akan diekstrak dengan perbandingan tertentu (Voight, 1994). Pembuatan ekstrak lengkuas merah diawali dengan membersihkan rimpang lengkuas merah dengan menggunakan air bersih sampai terpisah dari tanah. Setelah lengkuas benar-benar bersih kemudian 2 kg rimpang lengkuas merah yang masih segar dipotong-potong menggunakan pisau kemudian dikeringkan, setelah itu dioven sekitar 20 menit. Setelah rimpang lengkuas kering kemudian dilakukan penghalusan dengan menggunakan blender sehingga terbentuklah serbuk simplisia. Kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia lengkuas sebanyak 500 gram kedalam ethanol 70% sebanyak 2500 ml. Dalam proses maserasi perlu adanya pengadukan. Setelah dilakukan perendaman selama 4 hari, kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring, setelah disaring kemudian *filtrat dievaporasi* dengan menggunakan *rotary evaporator*, diuapkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak murni. Proses pembuatan ekstrak lengkuas merah dapat dilihat pada Lampiran 12.

## 3. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Lengkuas

Rimpang lengkuas merah yang telah diproses menjadi ekstrak lengkuas murni, kemudian dibuat dengan beberapa konsentrasi, yaitu konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan kontrol dengan menggunakan aquades. Semua konsentrasi ekstrak lengkuas merah dibuat dalam 80 ml. Proses pembuatan konsentrasi ekstrak lengkuas merah dapat dilihat pada Lampiran 13.



Pembuatan konsentrasi ekstrak lengkuas merah berdasarkan pada rumus:

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

(Suhara, 2013).

**a. Konsentrasi ekstrak lengkuas 30%**

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 30\% \cdot 80$$

$$100\% \cdot V_1 = 2400\%$$

$$V_1 = 24$$

Jadi, pembuatan konsentrasi ekstrak lengkuas 30% adalah dengan melarutkan 24 ml ekstrak lengkuas murni kedalam 56 ml aquades.

**b. Konsentrasi ekstrak lengkuas 40%**

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 40\% \cdot 80$$

$$100\% \cdot V_1 = 3200\%$$

$$V_1 = 32$$

Jadi, pembuatan konsentrasi ekstrak lengkuas 40% adalah dengan melarutkan 32 ml ekstrak lengkuas murni kedalam 48 ml aquades.

**c. Konsentrasi ekstrak lengkuas 50%**

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 50\% \cdot 80$$

$$100\% \cdot V_1 = 4000\%$$

$$V_1 = 40$$

Jadi, pembuatan konsentrasi ekstrak lengkuas 50% adalah dengan melarutkan 40 ml ekstrak lengkuas murni kedalam 40 ml aquades.

**d. Konsentrasi ekstrak lengkuas 60%**

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 60\% \cdot 80$$

$$100\% \cdot V_1 = 4800\%$$

$$V_1 = 48$$

Jadi, pembuatan konsentrasi ekstrak lengkuas 60% adalah dengan melarutkan

48 ml ekstrak lengkuas murni kedalam 32 ml aquades.

**e. Konsentrasi ekstrak lengkuas 70%**

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 70\% \cdot 80$$

$$100\% \cdot V_1 = 5600\%$$

$$V_1 = 56$$

Jadi, pembuatan konsentrasi ekstrak lengkuas 70% adalah dengan melarutkan 56 ml ekstrak lengkuas murni kedalam 24 ml aquades.

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

Pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*) yaitu dengan menggunakan serbuk PDA dan aquades yang telah disediakan oleh Laboratorium Biologi, Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Pasundan Bandung. Pembuatan PDA diawali dengan menyiapkan serbuk PDA kemudian menimbanginya sebanyak 40 gram, setelah itu menuangkannya pada labu erlenmeyer. Selanjutnya mengukur aquades sebanyak 1000 ml dengan menggunakan gelas ukur. Setelah itu mencampurkan aquades yang telah diukur kedalam labu erlenmeyer yang berisi serbuk PDA. Kemudian memanaskan dan mengaduknya dengan menggunakan *Stirrer*. Setelah proses pemanasan dan pengadukan selesai kemudian PDA disterilisasi dengan menggunakan *Autoclave* pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Proses pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*) dapat dilihat pada Lampiran 14.

**5. Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian harus disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan *Autoclave* dengan suhu 121°C selama 15-20 menit. Proses sterilisasi alat dapat dilihat pada Lampiran 15.

**6. Inokulasi Jamur *Colletotrichum sp***

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan miselium jamur *Colletotrichum sp* pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang telah bercampur ekstrak lengkuas merah dengan beberapa konsentrasi. PDA cair dituangkan kedalam

cawan petri, kemudian ekstrak lengkuas dengan konsentrasi tertentu dituangkan kedalam cawan petri yang berisi PDA, lalu campurkan hingga merata dan didiamkan hingga padat. Miselium *Colletotrichum sp* diambil dengan cara memotong PDA yang telah ditumbuhi biakan murni *Colletotrichum sp* dengan pemotong media berdiameter 5 mm. Miselium tersebut diinokulasikan pada PDA yang telah dicampur dengan ekstrak lengkuas sesuai dengan konsentrasi tertentu di bagian tengah cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu kamar (28°C) dan diamati pertumbuhannya setiap 1x24 jam selama 5 hari. Parameter yang diamati adalah diameter pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum sp* dengan satuan pengamatan mm. Proses inokulasi jamur *Colletotrichum sp* dapat dilihat pada Lampiran 16.

## **7. Pengambilan Data**

Pengambilan data dilakukan setelah jamur diinokulasikan pada media PDA yang bercampur ekstrak lengkuas merah dengan beberapa konsentrasi kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan diamati setiap 1x24 jam selama 5 hari. Parameter yang diamati yaitu dengan mengukur diameter pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum sp* dengan satuan pengamatan mm. Setelah selesai pengambilan data kemudian data dihitung dan diolah dengan uji statistik menggunakan *one-way* ANOVA. Jika data yang diperoleh tidak memenuhi syarat, maka dilakukan uji non parametrik yaitu dengan uji *Kruskal-Wallis* kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Analisis data menggunakan uji statistik dengan menggunakan aplikasi *SPSS*.