

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen. Metode penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh *treatment* (perlakuan) tertentu. 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). Dengan populasi tanaman jeruk dan sampel dalam penelitian ini adalah jamur *Alternaria sp* yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena bentuk penelitiannya adalah eksperimen dan dilaksanakan di Laboratorium.

B. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan teknik dilusi dengan 6 perlakuan dan 4 pengulangan. Perlakuan yang digunakan adalah beberapa konsentrasi ekstrak bawang putih 30%, 40% , 50%, 60%, 70% dan kontrol aquades yang dilakukan secara *in vitro*. Penentuan jumlah pengulangan ini berdasarkan rumus perhitungan pengulangan menurut Suhaerah (2012), sebagai berikut:

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

Keterangan :

t = *treatment* (jumlah perlakuan)

r = *replication* (jumlah pengulangan)

15= derajat kebebasan umum

Jumlah perlakuan dalam penelitian ini adalah tujuh, maka diperlukan jumlah pengulangan sebagai berikut :

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

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$5r \geq 20 : 5 = 4$$

$$r = 4$$

Berdasarkan perhitungan banyaknya pengulangan diperoleh jumlah pengulangan sebanyak empat kali untuk setiap perlakuan, sehingga keseluruhan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 sampel. Penempatan perlakuan dilakukan dengan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) pada seluruh percobaan.

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

Tabel 3.1 Desain Penelitian

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%	K4	P4.30%	P4.70%	P4.60%

Keterangan :

P1- P4 = Pengulangan 1-4

K1-K4 = Kontrol 1-4

Perlakuan yang digunakan yaitu dengan memberikan beberapa konsentrasi ekstrak bawang putih yaitu 30%, 40%, 50%, 60%, 70% dan control menggunakan aquades yang dilakukan secara *in vitro*.

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek pada penelitian ini yaitu ekstrak bawang putih (*Allium sativum L*) sebagai fungisida yang telah diekstrasikan yang akan digunakan pada konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%. dan kontrol menggunakan aquades.
2. Objek penelitian adalah jamur, dengan cara menginokulasikan jamur

Alternaria sp pada cawan petri di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan.

a. Waktu dan Tempat

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

b. Alat dan Bahan

Di bawah ini merupakan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian skripsi, berikut tabel 3.1 alat dan bahan :

1) Alat

Tabel 3.2 Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1	Ose	Kawat	2 buah
2	Beaker glass	2000 ml	2 buah
3	Beaker glass	250 ml	2 buah
4	Cawan petri	Diameter 10 cm	24 buah
5	Pipet tetes	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	28°C	1 buah
10	Autoclave	121°C	1 buah
11	Lampu spirtus	Kaca dan spirtus	1 buah
12	Blender	-	1 buah
13	Pisau	Besi	1 buah
14	Korek api	Kayu	1 buah
15	Toples	Kaca	2 buah
16	Rotatory Evaporator	40°C	1 buah
17	Sarung tangan	Karet	Seperlunya
18	Masker	Kain	Seperlunya

19	Jas laboratorium	Kain	1 buah
20	Batang pengaduk	Kaca	2 buah
21	Spatula	Semi besi	2 buah
22	Pengebor gabus	Besi	1 buah
23	Labu eylenmayer	Kaca	2 buah
24	Stirrer	-	2 buah

2). Bahan

Tabel 3.3 Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1	Aquades	Cair	200 ml
2	PDA (Potato Dextrose Agar)	-	150 gr
3	Jamur <i>Alternaria sp</i>	Jamur	Seperlunya
4	Umbi Bawang Putih (<i>Allium Sativum</i>)	-	2 kg
5	Etanol 70%	Cair	3000

c. Bahan yang Diuji

Bawang Putih (*Allium sativum L*) yang masih segar sebanyak 2 kg diiris menggunakan pisau menjadi potongan kecil dan dikeringkan pada suhu 50°C selama 5 hari. Setelah kering, 2 kg potongan bawang putih dihaluskan lalu diekstrak dalam 500 mL etanol 70% selama 24 jam pada suhu kamar. Hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring, Setelah disaring, *filtrat dievaporasi* dengan *rotary evaporator* (40°C, vakum) yang berada di Labolatorium Teknik Pangan Universitas Pasundan Bandung. Diupkan pelarutnya sehingga terbentuk ekstrak kental. Setelah ekstrak *dirotatory* kemudian dibuatkan konsentrasi menjadi beberapa konsetrasi dengan rumus:

$$N1.V1 = N2.V2$$

Keterangan :

N1 = Volume larutan pekat

V1 = Konsentrasi larutan pekat

N_2 = Volume larutan encer

V_2 = konsentrasi larutan encer

(Suhara. 2013: 44).

d. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah jamur *Alternaria sp* yang diinokulasikan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang dicampurkan dengan ekstrak bawang putih (*Allium Sativum L*) yang berada pada cawan petri.

D. Pengumpulan Data

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 *Alternaria sp*.

2. Instrumen Penelitian

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 bawang putih (*Allium Sativum L*) terhadap pertumbuhan jamur *Alternaria sp*, sebagai antifungi. Pengambilan data pada penelitian ini membutuhkan suatu formatan pengambilan data untuk memperoleh data hasil observasi suatu objek. Tabel 3.4 merupakan format pengambilan data yang digunakan:

Tabel 3.4 Format Pengambilan Data

P	Perlakuan				
	PL1	PL2	PL3	PL4	PL5
1					
2					
3					
4					

Keterangan :

PL : Perlakuan

P : Pengulangan

E. Teknik Analisis Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis menggunakan *Software* SPSS versi 18. *for windows*. Analisis data awal yang dilakukan yaitu uji normalitas dengan melakukan uji kolmogorov smirnov yang bertujuan untuk mengetahui distribusi data dari diameter pertumbuhan jamur dengan ekstrak bawang putih. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang bertujuan untuk mengetahui variansi data diameter pada masing-masing konsentrasi ekstrak bawang putih. Dan untuk menguji hipotesis nol (H_0), dilakukan uji Kruskal-Wallis dengan hasil hitung yang ditentukan berdasarkan nilai *chi-square*.

1. Studi Lapangan

Penelitian ini dimulai dengan studi lapangan, mencari jamur serta membelinya pada salah satu Perguruan Tinggi Negeri di Kabupaten Bogor Jawa Barat, dan umbi bawang putih. Umbi Bawang Putih (*Allium Sativum L*) 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.

2. Pembuatan Ekstrak Bawang Putih

a). Preparasi Sampel

Pembuatan simplisia umbi bawang putih (*Allium Sativum*) dilakukan dengan memisahkan umbi dari kulit pembungkusnya. Sampel kemudian dipotong kecil-kecil untuk memperbesar luas permukaan sehingga mempercepat proses pengeringan dan mempermudah penggilingan. Sampel dikeringkan di bawah terik sinar matahari secara tidak langsung agar kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman tidak mengalami kerusakan.

Kemudian sampel ditata dalam Loyang dengan ketebalan rata dan dimasukkan dalam oven pada suhu 50-60°C untuk mengoptimalkan proses pengeringan dengan tidak merusak senyawa di dalamnya.

Sampel yang telah kering dilakukan penimbangan kering dan dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk kecil dan halus. Serbuk umbi bawang putih (*Allium Sativum*) ini disebut dengan sampel.

b). Ekstraksi Umbi Bawang Putih

Bawang Putih dicuci sampai bersih. Selanjutnya sampel bawang putih dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung, sampel bawang putih yang telah kering kemudian di blender agar ukuran semakin lebih kecil sehingga dapat memperluas kontak dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut. Ekstraksi dilakukan secara meserasi dengan pelarut etanol 70% ditutup lalu disimpan diruangan gelap selama 3 hari. Setelah itu, filtrate diambil dan residu dimaserasi kembali dengan etanol 70%. Setelah dihasilkan warna jernih, maserasi diakhiri. Setelah filtrat ekstrak bawang putih diperoleh, dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotatory evaporator*.

1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan dipergunakan, yaitu dengan cara membungkus semua peralatan dengan menggunakan plastik kertas dan kapas kemudian dibungkus plastik. Setelah itu dimasukkan dalam autoklaf selama 15 menit. Alat yang tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan alcohol 70%.

2. Pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*) menggunakan PDA yang telah disediakan oleh laboratorium. Menyiapkan PDA dan menimbanginya sebanyak 400 gram, kemudian tuangkan pada labu eylemayer. Setelah itu diukur dan di siapkan aquades sebanyak 1000 ml yang telah diukur menggunakan gelas ukur, kemudian dicampurkan PDA dengan aquades. Panaskan dan aduk dengan menggunakan strirer. Setelah proses pemanasan dan pengadukan selesai tunggu sampai homogen, PDA disterilisasi menggunakan autoclap, dan setelah disterilisasi PDA dituangkan di setiap cawan petri.

3. Uji *in vitro* Penghambatan Pertumbuhan Jamur *Altenaria*

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan miselium jamur *Altenaria sp* pada media PDA yang telah dicampur dengan larutan ekstrak bawang putih sesuai dengan konsentrasi. PDA cair dengan suhu 40° C dituangkan ke dalam cawan

petri. Kemudian larutan ekstrak dicampurkan ke dalam cawan petri hingga merata dan didiamkan hingga padat.

Miselium *Alternaria sp* diambil dengan cara memotong PDA yang telah ditumbuhi biakan murni *Alternaria sp* dengan pemotong media berdiameter 5 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. Parameter yang diamati adalah diameter koloni jamur *Alternaria sp* dan persentase penghambatan jamur *Alternaria sp*.

4. Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan setelah 3-4 hari miselium diinokulasikan pada PDA, jamur diamati dengan mengukur dan menghitung diameter hambatan pertumbuhan jamur *Alternaria sp* setelah selesai pengambilan data kemudian data dihitung dan diolah menggunakan *one-way* ANOVA dan uji lanjutan yaitu uji nonparametrik dengan tingkat kesalahan yang digunakan adalah 5% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang diujikan pada bahan.