

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan metode eksperimen kuantitatif. Sampel pada penelitian ini adalah jamur *Fusarium oxysporum*. Penelitian eksperimen yaitu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan dari penelitian eksperimen ini adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab-akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan – perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Nazir, 2011).

Untuk melihat pengaruh ekstrak jahe merah (*Zingiber Officinale var.rubrum*) terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* Penelitian ini menggunakan metode dilusi padat. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (broth dilution) dan dilusi padat (solid dilution). Metode dilusi cair (broth dilution) mengukur MIC (Minimum Inhibitory Concentration) atau KHM (Kadar Hambat Minimum) dan MBC (Minimum Bactericidal Concentration atau Kadar Bunuh Minimum, KBM). Metode dilusi padat (solid dilution) serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan metode padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang di uji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

B. Desain Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 pengulangan. Perlakuan yang digunakan adalah beberapa konsentrasi ekstrak jahe merah : $L_1 = 30\%$, $L_2 = 40\%$, $L_3 = 50\%$, $L_4 = 60\%$, $L_5 = 70\%$, dan kontrol dengan menggunakan aquades.

Pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu berdasarkan rumus Federer sebagai berikut: $(r - 1) (t - 1) \geq 15$

Keterangan :

$T = treatment$ (jumlah perlakuan)

$r = replication$ (jumlah pengulangan)

15 = derajat kebebasan umum

Perhitungan jumlah pengulangan dalam penelitian ini adalah :

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

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 4$$

Jadi banyaknya pengulangan berdasarkan perhitungan adalah 4 kali pengulangan.

Berikut adalah tata letak perlakuan jamur *Fusarium oxysporum*

Tabel 3.1 Tata Letak Perkakuan Jamur *Fusarium oxysporum*

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

Subjek pada penelitian ini adalah ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) sebagai fungisida alami yang telah di ekstraksi dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan aquades sebagai kontrol. Jahe merah di peroleh dari pasar baru, kota bandung, jawa barat.

2. Objek penelitian

Objek pada penelitian ini adalah jamur *Fusarium oxysporum*. Parameter yang diamati yaitu dengan mengamati pertumbuhan koloni jamur yang terbentuk disekitar media PDA yang bercampur pada ekstrak jahe merah dengan beberapa konsentrasi dan satuan pengamatannya yaitu mm. Jamur *Fusarium oxysporum* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Pertanian departemen proteksi tanaman, Institut Pertanian Bogor, Kabupaten Bogor, Jawa Barat.

a. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan pada 15 s/d 31 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	Kegunaan	Spefisifikasi	Jumlah
1	Petridisk	wadah menimbang, menyimpan bahan kimia, mikrobiologi	Diameter 10	25 buah
2	Kertas saring	Untuk memisahkan partikel suspensi dengan cairan	Ukuran 58x58	1 buah
3	Toples	Untuk menyimpan spesimen	2000ml, 3000 ml	3 buah
4	Beaker glass	Wadah / tempat penampung untuk mengaduk, mencampur, dan memanaskan cairan yang digunakan dilaboratorium	250ml, 1000 ml, 2000 ml	3 buah
5	Pipet tetes	Untuk mengambil cairan dalam skala tetesan kecil	Kaca dan karet	3 buah
6	Gelas ukur	Untuk mengukur cairan	10 ml, 250 ml, 500 ml	3 buah
7	Ose	Untuk melakukan inokulasi	Diameter	1 buah
8	Labu erlenmeyer	Unutk mengukur dan mencampur bahan – bahan analisa	1000 ml	1 buah
9	Bunsen	Untuk sterilisasi	Kaca dan spirtus	1 buah

10	Inkubator	Sebagai tempat inkubasi	38°C	1 buah
11	Autoclave	Untuk mensterilkan suatu benda atau media	121°C	1 buah
12	Blender	Untuk menghaluskan suatu benda atau media	2 liter	1 buah
13	Kaorek api	Untuk menyalakan bunsen	kayu	1 buah
14	Masker	Untuk menjaga kebersihan dan alat pelindung	kain	1 buah
15	Jas lab	Untuk menjaga kebersihan dan alat pelindung	kain	1 buah
16	Sarung tangan	Untuk menjaga kebersihan dan alat pelindung	Kain	1 buah
17	Kamera	Untuk mengambil gambar	Optik	1 buah
18	Penggaris	Untuk mengukur panjang / luas	Panjang 30 cm	1 buah
20	Baki plastik	Untuk menyimpan spesimen	Plastik	1 buah
21	Kertas label	Untuk penamaan atau tanda	Kertas	Secukupnya
22	Rotatory evaporator	Alat untuk pemisahan dari bahan padat maupun cair	Kaca , tembaga	1 buah

23	Batang pengaduk	Untuk menyimpan bahan kimia	Panjang 20 cm	1 buah
24	Alumunium foil	Untuk menutup / melindungi spesimen		1 gulung
25	Timbangan	Untuk menimbang bahan	Digital	1 buah
26	Pembolong gabus	Untuk membuat bolongan pada media	Diameter 5 mm	1 buah
27	stirrer	Untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan	Besi, tembaga	1 buah
28	Oven	Alat pemanas tertutup	besi	1 buah
29	Spatula	Alat untuk mengambil objek	Alumunium	1 buah
30	Corong	Alat untuk memindah / memasukkan larutan ke wadah	Diameter 75 mm	1 buah

2). Bahan

Tabel 3.3 Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1	Jahe merah (<i>Zingiber Officinale</i> <i>var.rubrum</i>)	Rimpang	2 kg
2	Jamur <i>Fusarium oxysporum</i>	Jamur	secukupnya
3	Ethanol 70%	Cair	3000 ml
4	Aquades	Cair	2000 ml
5	PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>)	Serbuk	40 gram

c. Bahan yang di uji

Rimpang jahe merah yang dijadikan ekstrak dengan metode maserasi menggunakan cairan pelarut ethanol 70% dengan beberapa konsentrasi.

d. Sampel penelitian

Jamur *Fusarium oxysporum* yang diinokulasikan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang bercampur ekstrak jahe merah dengan beberapa konsentrasi dan diinkubasi pada suhu kamar selama 5 x 24 jam.

D. Pengumpulan Data dan Instrumen Penelitian

1. Teknik Pengumpulan Data

Adapun teknik 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 *Fusarium oxysporum*.
- ✓ Objek diamati dalam satu kali pengamatan setelah 1x24 jam selama 5 hari, parameter yang diamati yaitu diameter pertumbuhan koloni jamur *Fusarium oxysporum* pada media PDA yang bercampur ekstrak jahe merah dengan beberapa konsentrasi, dengan satuan pengamatan (mm).

2. Instrumen Penelitian

Menurut Suharsimi Arikunto (2006 : 1630 bahwa metode penelitian adalah cara yang digunakan oleh peneliti dalam mengumpulkan data penelitiannya, sedangkan instrument penelitian adalah alat atau fasilitas yang digunakan oleh peneliti dalam mengumpulkan data agar pekerjaannya lebih mudah, dan hasilnya lebih baik dalam arti lebih cermat, lengkap, dan sistematis sehingga lebih mudah diolah.

Instrumen penelitian adalah alat bantu yang dipilih dan digunakan oleh peneliti dalam kegiatan mengumpulkan data, agar kegiatan tersebut menjadi sistematis. Instrumen pengumpulan data adalah cara – cara yang dapat digunakan oleh peneliti untuk mengumpulkan data. Instrumen sebagai alat bantu dalam menggunakan metode pengumpulan data merupakan sarana yang dapat diwujudkan dalam benda, misalnya angket, perangkat tes, pedoman wawancara, pedoman observasi, skala dan sebagainya. Untuk memperoleh data yang akurat seorang peneliti harus menggunakan alat atau instrumen yang dapat membantu untuk mempermudah jalannya penelitian. Instrumen pada penelitian ini adalah jangka sorong dan penggaris yang dapat digunakan untuk mengukur pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum*.

Dibawah ini merupakan formatan pengambilan data yang digunakan yaitu sebagai berikut

**Tabel 3.4 Format Rata – Rata Diameter Pertumbuhan Koloni Jamur
*Fusarium oxysporum***

No	Konsentrasi	Diameter Koloni Jamur (mm)				Rata – rata pertumbuhan jamur <i>Fusarium oxysporum</i>
		Pengulangan				
		1	2	3	4	
1	30%					
2	40%					
3	50%					
4	60%					
5	70%					
6	kontrol					

E. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan ANOVA *one-way* dan uji lanjutan menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pada setiap perlakuan yang diujikan pada jamur *Fusarium oxysporum*. Analisis data menggunakan uji statistic dengan menggunakan aplikasi SPSS.

F. Prosedur Penelitian

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

a. Studi lapangan

Penelitian ini dimulai dengan studi lapangan terlebih dahulu, dimulai dengan mencari bahan - bahan yang akan digunakan dalam penelitian diantaranya jamur *Fusarium oxysporum* dan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*). Jamur *Fusarium oxysporum* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Pertanian departemen proteksi tanaman, Institut Pertanian Bogor, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Sedangkan rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var.rubrum*) diperoleh dari Pasar Baru, Kota Bandung, Jawa Barat. Selain menyiapkan bahan-bahan, juga menyiapkan alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian.

b. Pembuatan Ekstrak Jahe merah

Pembuatan ekstrak jahe merah diawali dengan membersihkan rimpang jahe merah dengan menggunakan air bersih sebanyak 3 kali sampai terpisah dari tanah. Setelah jahe merah benar-benar bersih kemudian 2 kg rimpang jahe merah yang masih segar dipotong-potong menggunakan pisau kemudian dikeringkan, setelah itu dioven sekitar 20 menit. Setelah rimpang jahe merah kering kemudian dilakukan penghalusan dengan menggunakan blender sehingga terbentuklah simplisia. Kemudian dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia jahe merah sebanyak 500 gram kedalam ethanol 70% sebanyak 2500 ml. Dalam proses maserasi perlu adanya sesekali 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 mendapatkan ekstrak murni.

b. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Jahe merah

Rimpang jahe merah yang telah diproses menjadi ekstrak jahe merah murni, kemudian dibuat konsentrasi dengan beberapa konsentrasi, yaitu konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan kontrol dengan aquades.

Pembuatan konsentrasi tersebut berdasarkan pada rumus sebagai berikut :

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

Semua konsentrasi ekstrak jahe merah dibuat dalam 80 ML

a) Konsentrasi ekstrak jahe merah 30%

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

$$100 \cdot 80 = 30 \cdot V_2$$

$$\begin{aligned} \cdot V_2 &= \frac{30}{100} \times 80 \text{ ml} \\ &= 24 \text{ ml} \end{aligned}$$

Pembuatan konsentrasi ekstrak jahe merah 30% adalah dengan melarutkan 24 ml ekstrak jahe murni kedalam 56 ml aquades.

b) Konsentrasi ekstrak jahe merah 40%

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

$$100 \cdot 80 = 40 \cdot V_2$$

$$\begin{aligned} V_2 &= \frac{40}{100} \times 80 \text{ ml} \\ &= 32 \text{ ml} \end{aligned}$$

Pembuatan konsentrasi ekstrak jahe merah 40% adalah dengan melarutkan 32 ml ekstrak jahe murni kedalam 48 ml aquades.

c) Konsentrasi ekstrak jahe merah 50%

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

$$100 \cdot 80 = 50 \cdot V_2$$

$$V_2 = \frac{50}{100} \times 80 \text{ ml}$$

$$= 40 \text{ ml}$$

Pembuatan konsentrasi ekstrak jahe merah 50% adalah dengan melarutkan 40 ml ekstrak jahe murni kedalam 40 ml aquades.

d) Konsentrasi ekstrak jahe merah 60%

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

$$100 \cdot 80 = 60 \cdot V_2$$

$$V_2 = \frac{60}{100} \times 80 \text{ ml}$$

$$= 48 \text{ ml}$$

Pembuatan konsentrasi ekstrak jahe merah 60% adalah dengan melarutkan 48 ml ekstrak jahe murni kedalam 32 ml aquades.

e) Konsentrasi ekstrak jahe merah 70%

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

$$100 \cdot 80 = 70 \cdot V_2$$

$$V_2 = \frac{70}{100} \times 80 \text{ ml}$$

$$= 56 \text{ ML}$$

Pembuatan konsentrasi ekstrak jahe merah 70% adalah dengan melarutkan 56 ml ekstrak jahe murni kedalam 24 ml aquades.

c. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian harus disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan *Autoclave* dengan suhu 121⁰C selama 15-20 menit.

d. Pembuatan PDA (Potato Dextrose Agar)

Pembuatan PDA (*Potato Dextrose Agar*) yaitu dengan menggunakan serbuk PDA dan aquadest yang telah disediakan oleh Laboratorium Biologi Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Pasundan. Pembuatan PDA diawali dengan menyiapkan serbuk PDA kemudian menimbanginya sebanyak 40 gram, setelah itu menuangkannya pada labu erlenmeyer. Selanjutnya mengukur aquadest sebanyak 1000 ml dengan menggunakan gelas ukur. Setelah itu mencampurkan aquades yang telah diukur kedalam labu erlenmeyer yang

berisi serbuk PDA. Kemudian panaskan dan aduk dengan menggunakan *Stirrer*. Setelah proses pemanasan dan pengadukan selesai kemudian PDA disterilisasi dengan *Autoclave*.

e. Uji in vitro Penghambatan Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum*

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan miselium jamur *Fusarium oxysporum* pada media PDA yang telah bercampur ekstrak jahe merah dengan beberapa konsentrasi. PDA cair dituangkan kedalam cawan petri, kemudian ekstrak jahe merah dengan konsentrasi tertentu dituangkan kedalam cawan petri yang berisi PDA, lalu campurkan hingga merata dan didiamkan hingga padat. Miselium *Fusarium oxysporum* diambil dengan cara memotong PDA yang telah ditumbuhi biakan murni *Fusarium oxysporum* dengan pemotong media berdiameter 5 mm. Miselium tersebut diinokulasikan pada PDA yang telah dicampur dengan ekstrak jahe sesuai dengan konsentrasi tertentu di bagian tengah cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan diamati selama 5 x 24 jam, dengan 4 kali pengulangan. Parameter yang diamati adalah diameter pertumbuhan koloni jamur *Fusarium oxysporum* dengan satuan pengamatan (mm).

f. Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan setelah jamur diinokulasikan pada media PDA yang bercampur dengan beberapa konsentrasi ekstrak jahe merah kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1x24 jam selama 5 hari . Setelah 1x24 jam jamur diinkubasi, kemudian jamur diamati dengan mengukur dan menghitung diameter pertumbuhan koloni jamur *Fusarium oxysporum* dengan satuan pengamatan (mm). Setelah selesai pengambilan data kemudian data dihitung dan diolah menggunakan *one-way* ANOVA. Jika data hasil homogenitas tidak homogen maka di lakukan uji nonparametrik dengan uji *kruskal Wallis*, kemudian lanjut pada uji *Mann Whitney*.