

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen kuantitatif dengan pengujian aktivitas bahan antifungi. Metode ini dipilih peneliti untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dari dua variabel atau lebih dan bersifat menguji hipotesis atau teori. Metode ini digunakan untuk mencari pengaruh, hubungan maupun perbedaan perubahan terhadap subjek penelitian yang diberikan perlakuan.

B. Desain Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan. Perlakuan yang digunakan adalah beberapa konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas: A = 30%, B = 40%, C = 50%, D = 60%, dan E = 70%, dan F = kontrol yang dilakukan secara *in vitro*. Untuk mendapatkan data yang valid dilakukan pengulangan yang dilakukan (replikasi) untuk setiap kelompok perlakuan diperoleh dari perhitungan dengan rumus di bawah ini Suhaerah (2016, hlm. 69):

$$\begin{aligned}(t-1)(r-1) &\geq 15 \\ (6-1)(r-1) &\geq 15 & 5r &\geq 20 \\ (5)(r-1) &\geq 15 & r &\geq \frac{20}{5} \\ 5r - 5 &\geq 15 & r &\geq 4 \\ 5r &\geq 15 + 5\end{aligned}$$

Keterangan : t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan

15 = faktor derajat kebebasan umum

Ditetapkan banyaknya pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini sebanyak 4 kali setiap perlakuan.

Tabel 3.1

DESAIN PENEMPATAN PLOT SAMPEL

B ₂	F ₂	D ₁	C ₂	B ₄	E ₄
F ₃	B ₁	E ₃	C ₁	F ₁	A ₂
D ₂	E ₂	A ₄	D ₃	C ₃	B ₃
C ₄	A ₁	A ₃	F ₄	E ₁	D ₄

Keterangan : A = Perlakuan ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 30%

B = Perlakuan ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 40%

C = Perlakuan ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 50%

D = Perlakuan ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 60%

E = Perlakuan ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 70%

F = Aquades sebagai kontrol/pembanding

1,2,3,4= Pengulangan

C. Subjek dan Objek Penelitian

1. **Subjek** pada penelitian ini yaitu jamur *Fusarium Oxysporum*.
2. **Objek** pada penelitian ini yaitu pertumbuhan *Fusarium Oxysporum*.
3. **Populasi**

Populasi jamur *Fusarium oxysporum* dengan luas biakkan 636,4 mm, pengamatan menggunakan haemocytometer didapatkan dalam 1 mm terdapat 767 spora jamur, jadi jumlah populasi keseluruhan berjumlah 636,4 mm x 767 spora = 4.874.824 spora.

4. Sampel

Jamur *Fusarium oxysporum* yang diambil pada biakkan seluas 5 mm (dalam 1 mm terdapat 767 spora) dengan jumlah pengulangan seluruhnya 24 kali, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah sebanyak 5 x 767 x 24 = 92.040 spora.

5. Waktu dan Tempat

Penelitian uji mikrobiologi (uji in vitro efektifitasn ekstrak lengkuas merah terhadap jamur *Fusarium oxysporum* dilakukan pada bulan Juli 2017 sampai dengan Agustus 2017 dan berlokasi di Laboratorium Biologi Program Studi

Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasundan
Jalan Tamansari No. 6-8 Bandung.

6. Alat dan Bahan

Dibawah ini merupakan alat-alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Alat

Tabel 3.2

Alat-alat yang digunakan

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1	2	3	4
1.	Jarum Ose	Kecil	1 buah
2.	Timbangan elektrik	Elektrik	1 buah
3.	Becker glass	1800 ml	2 buah
4.	Cawan petri	Diameter 9 cm	25 buah
5.	Pipet	150 mm	2 buah
6.	Stirer	Elektrik	1 buah
7.	Gelas ukur	10 ml, 250 ml	2 buah
8.	Kertas saring	Lebar 30 cm	Ukuran 21 x 30 cm
9.	Labu erlemeyer	1000 ml	2 buah
10.	Inkubator	Elektrik	1 buah
11.	Autoclave	Elektrik	1 buah
12.	Blender	Elektrik	1 buah
13.	Bor gabus	Ukuran 5 mm	1 buah
14.	Pisau	Stainless kecil	1 buah
15.	Water bath	Elektrik	1 buah
16.	Rotatory evavolator	Elektrik	1 buah
17.	Alumunium foil	Ukuran 1,25 x 60 m	1 lembar
18.	Kertas label	Ukuran 1 x 2 cm	30 buah
19.	Sarung tangan	Karet ukuran M	5 pasang
20.	Masker	Kain	3 buah

1	2	3	4
21.	Jas laboratorium	Kain	1 buah
22.	Saringan	Kain	1 buah
23.	Batang pengaduk	Kecil	1 buah
24.	Spatula	Kecil	2 buah

b. Bahan

Tabel 3.3

Bahan-bahan yang digunakan

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Aquades	Cair	1000 ml
2.	PDA (<i>potato dextrose agar instants</i>)	Serbuk	20 gr
3.	Jamur <i>Fusarium Oxysporum</i>	Diameter 5 mm (3.835 spora)	120 mm (92.040 spora)
4.	Rimpang lengkuas merah	Rimpang halus	2 kg
5.	Etanol	70%	5 liter
6.	Spirtus	Cair	Secukupnya

D. Teknik Pengumpulan Data dan Instrumen Penelitian

1. Pengumpulan Data

Adapun teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi, yaitu suatu teknik pengumpulan data dengan mengamati secara langsung objek yang diteliti.

2. Instrumen Penelitian

Tabel 3.4

Rancangan Tabel Hasil Pengamatan Pada Jamur *Fusarium Oxysporum*

Perlakuan (Konsentrasi Ekstrak Lengkuas Merah)	Diameter pertumbuhan jamur (mm)				Rata-Rata pertumbuhan
	Pengulangan Ke -				
	1	2	3	4	
Kontrol					
30%					
40%					
50%					
60%					
70%					

E. Teknik Analisis Data

Semua data dilakukan uji normalitas dilanjutkan uji homogenitas dan didapatkan semua data terdistribusi normal dan homogen. Data dianalisis dengan uji statistik parametrik menggunakan uji 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. Analisis data menggunakan uji statistik dengan menggunakan aplikasi SPSS.

F. Prosedur penelitian

Ada beberapa prosedur dalam langkah-langkah penelitian ini. Dimulai dari tahap perencanaan, tahap pelaksanaan penelitian, dan tahap pelaporan sebagai berikut:

1. Tahap Perencanaan

- a. Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian.
- b. Sterilisasi Alat dan Bahan.

Peralatan yang perlu disterilkan terlebih dahulu seperti seperti alat dan bahan yang perlu disterilkan dengan cara memasukkan ke dalam autoclave selama

15 menit pada suhu 121°C.

c. Membeli biakan Jamur *Fusarium oxysporum*

Biakan Jamur *Fusarium oxysporum* dibeli dari Laboratorium Mikologi, Departemen Hama Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jln. Meranti, Babakan, Dramaga, Bogor, Jawa Barat.

d. Ekstraksi Lengkuas merah.

Pembuatan ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.Schum) dengan metode maserasi. Pertama-tama membersihkan rimpang lengkuas merah sebanyak 2 kg sampai bersih dengan air mengalir, setelah bersih kemudian rimpang lengkuas merah tersebut dipotong-potong menjadi potongan kecil agar mempercepat proses pengeringan dan mempermudah proses penghalusan. Lalu rimpang lengkuas merah yang telah dipotong-potong tersebut, dikeringkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung hal ini dilakukan agar kandungan senyawa kimia yang terdapat pada lengkuas merah tidak rusak.

Kemudian rimpang lengkuas merah dikeringkan kembali dengan menggunakan oven pada suhu 50 – 60 °C selama 45 menit untuk mengoptimalkan pengeringan namun tidak merusak senyawa kimia yang terkandung dalam rimpang lengkuas merah tersebut. Selanjutnya rimpang lengkuas merah dihaluskan dengan menggunakan blender sampai halus sehingga dapat memperluas kontak dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut. Ekstraksi dengan metode meserasi ini menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter kedalam toples kaca selama 3x24 jam dalam ruangan gelap. Setelah itu, filtrat diambil dan residu dimaserasi kembali dengan etanol 70%. Setelah dihasilkan warna jernih maserasi diakhiri.

e. Menguapkan hasil filtrat ekstrak lengkuas merah dengan *water bath* atau *rotatory evaporator* sampai diperoleh ekstrak yang kental dan berwarna orange pekat.

f. Pembuatan konsentrasi larutan.

Ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak induk dengan campuran etanol 70 %. Untuk mendapatkan konsentrasi 100% digunakan rumus :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2.$$

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

Dengan mencampurkan ekstrak lengkuas yang telah sesuai dengan konsentrasi masing-masing sebanyak 500 ml dan serbuk PDA sebanyak 20 gram yang telah dimasukkan dalam labu erlemeyer untuk kemudian dipanaskan sekaligus diaduk dengan menggunakan stirer magnetic. Proses pemanasan selesai apabila campuran telah homogen, dapat dilihat dari warna yang semakin bening. Setelah itu PDA disterilisasi dengan menggunakan *autoclave*.

2. Tahap Pelaksanaan Penelitian

- a. Menuangkan PDA cair dengan suhu 40° C ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml untuk masing-masing cawan petri.
- b. Mengambil miselium *Fusarium oxysporum* dengan cara memotong PDA yang telah ditumbuhi biakan murni *Fusarium oxysporum* dengan pengebor gabus berukuran diameter 5 mm.
- c. Melakukan inokulasi jamur *Fusarium oxysporum* pada bagian tengah cawan petri yang telah berisi media PDA yang telah dicampur dengan ekstrak rimpang lengkuas merah.
- d. Menutup cawan petri agar tidak terkontaminasi.
- e. Diinkubasi pada suhu 32,3°C selama 5x24 jam.
- f. Melakukan pengamatan terhadap diameter koloni jamur *Fusarium oxysporum* dan persentase penghambatan jamur *Fusarium oxysporum* terhadap perlakuan yang diberikan setiap 1x24 jam pada pukul 10.00 WIB selama 5 hari.

3. Tahap Pelaporan

Pada tahap pelaporan dilakukan pengolahan dan analisis data, serta membuat hasil dan kesimpulan yang didapatkan selama eksperimen.