

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian dari uji efektivitas bakteri endofit tumbuhan mangrove terhadap penyakit layu tanaman tomat secara *in vitro* serta pemanfaatannya sebagai bahan ajar adalah jenis penelitian kuantitatif dengan metode eksperimen. Payadnya (2018) mengungkapkan bahwa metode penelitian eksperimen merupakan salah satu metode dalam penelitian kuantitatif. Metode eksperimen ditujukan untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan suatu data atau lebih variabel pada satu (atau lebih) kelompok eksperimen, dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi. Manipulasi berarti mengubah secara sistematis sifat-sifat (nilai-nilai) variabel bebas.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

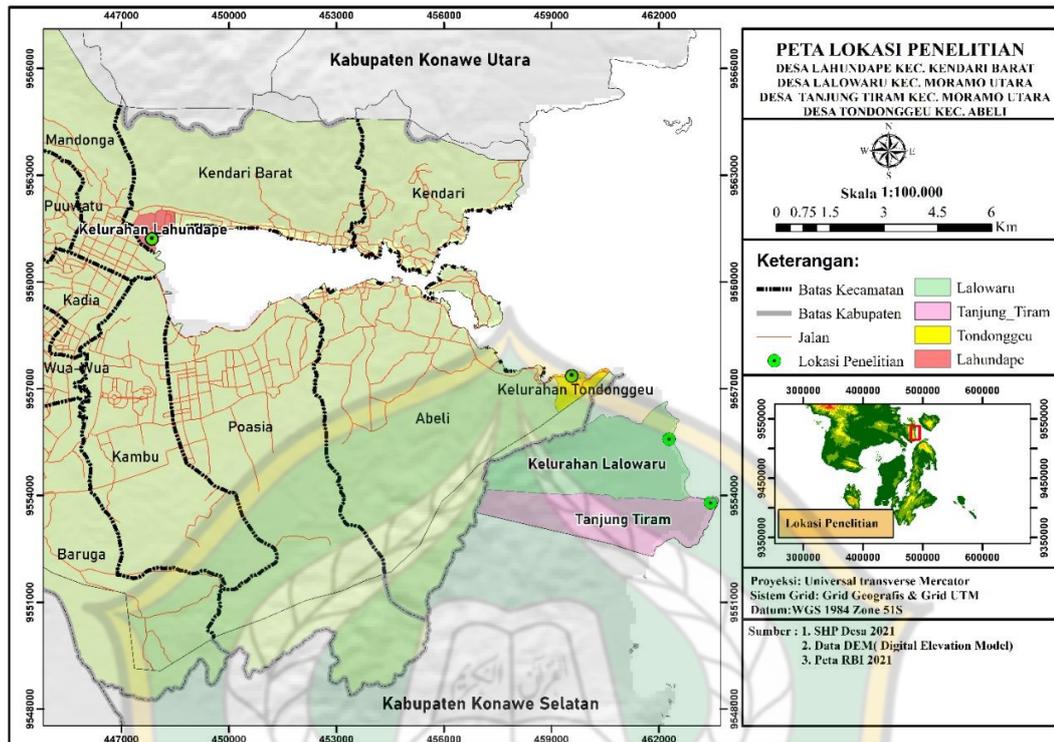
3.2.1 Waktu

Waktu penelitian ini akan dilakukan pada bulan April-Agustus 2022.

3.2.2 Tempat Penelitian

Lokasi penelitian mutu patogen dalam menekan penyakit layu fusarium pada tanaman tomat dilakukan di Laboratorium Biologi Institut Agama Islam Negeri Kendari, sedangkan untuk lokasi pengambilan sampel di Wilayah Kabupaten, Kecamatan Moramo Utara terdiri atas tiga desa yakni Desa Tondonggeu, Desa Lalowaru, dan Desa Tanjung Tiram. Sedangkan pengambilan sampel mangrove di Kota Kendari berada di Kecamatan Kendari Barat Kelurahan

Lahundape. untuk uji coba bahan ajar brosur dilakukan pada ahli media di Institut Agama Islam Negeri Kendari (IAIN).



Gambar 3.1 Peta Lokasi Pengambilan Sampel Tanaman Mangrove

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian kemampuan antagonis terhadap patogen dilaksanakan dalam bentuk percobaan dengan menggunakan bakteri endofit hasil seleksi. Isolat bakteri endofit yang dicobakan, yaitu: 1. Isolat LW1B3, 2. LW1B4, 3. LW2B1, 4. LW2B2, 5. LW2B3, 6. LW3B1, 7. LW3B2, 8. LH1B3, 9. LH2B2, 10. LH2B3, 11. LH3B1, 12. LH3B3, 13. TG1B2, 14. TG3B2, L1B02 dan L1B03. Setiap perlakuan diulang tiga kali sehingga terdapat 48 unit percobaan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Mangrove

1. Sterilisasi Alat dan Sampel

Organ tumbuhan dari masing-masing tanaman mangrove di potong kurang 1 cm. potongan organ tersebut selanjutnya di cuci dengan air mengalir selama 10 menit sampai bersih. Setiap potongan akar kemudian disterilisasi dengan etanol 75% selama lebih kurang 3 menit serta Na hipoklorit (Bayclin 3.25%) selama kurang 20 menit dan kembali disterilisasikan dengan etanol 75%. Begitu juga dengan benih tanaman tomat di ekstrak bijinya di pisahkan dengan daging buah tomat. Selanjutnya alat yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu sebelum dipakai untuk penelitian.

2. Isolasi Bakteri Endofit dari Tumbuhan Mangrove

Sumber bakteri endofit yang di isolasi berasal dari tanaman mangrove yang di ambil dari beberapa wilayah di sulawesi tenggara yang berlokasi di Kecamatan Moramo Utara di Desa Todonggea, Desa Tanjung Tiram dan Desa Lalowaru. Sedangkan untuk pengambilan sampel di wilayah bagian Kota Kendari berada di Kecamatan Kendari Barat Kelurahan Lahundape. Bakteri endofit di isolasi dari beberapa bagian tanaman seperti pada batang dan daun.

Isolat bakteri endofit diisolasi dari tanaman mangrove dengan tinggi 1–1,5meter yang tumbuh sehat dan tidak menunjukkan gejala sakit. Pemilihan sampel tanaman mangrove dilakukan dengan pertimbangan kemudahan pada daun dan batang yang masih muda atau lunak sehingga mempermudah dalam pengambilan sampel. Isolasi bakteri endofit dilakukan dengan mengikuti metode sterilisasi permukaan. Batang dan daun tanaman dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringkan.

Selanjutnya daun dan batang tanaman yang sudah bersih dipotong berukuran 1-2 cm dan ditimbang sebanyak 2 g untuk masing-masing sampel selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan dengan merendam daun dan batang tanaman kedalam wadah steril yang berisi alkohol 70% selama 1 menit selanjutnya sampel direndam kedalam wadah yang berisi aquades selama 1 menit yang diaman perlakuan pada perendaman aquades diulang sebanyak 2 kali. Sampel yang telah disterilkan selanjutnya dikeringkan menggunakan kertas saring setelah itu sampel dihaluskan menggunakan mortal dan alu setelah sampel menjadi halus sampel mangrove kemudian dimasukkan kedalam erlemeyer yang berukuran 50 ml yang ditambahkan aquades sebanyak 18 ml aquades steril. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat.

3.4.2 Uji Kemampuan Antagonis Terhadap Patogen

Uji antagonis isolat bakteri endofit dilakukan menggunakan metode dual kultur pada medium PDA ditambah NA. Potong media PDA padat dengan diameter 0,5 cm yang ditumbuhi hifa dari masing-masing patogen digunakan sebagai inokulum dan dinokulasikan pada cawan petri berisi media PDA ditambah NA baru. Potongan inokulum diletakkan dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri dan kultur diinkubasi dalam ruang bersuhu 26-28°C selama 48 jam. Masing-masing isolat bakteri endofit yang diuji digoreskan memanjang dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri berlawanan arah dengan letak patogen yang telah ditumbuhkan sebelumnya. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap pertumbuhan patogen dengan mengukur jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi fungi (R1) dan jari-jari pertumbuhan patogen ke arah bakteri endofit (R2).

Selanjutnya daya hambat yang diperoleh digunakan untuk menghitung daya hambat (DH) isolat bakteri endofit terhadap patogen *Fusarium oxysporum* yang ditentukan dengan rumus (Malinda et al., 2016; Suryanto et al., 2012):

$$DH = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100 \%$$

Keterangan:

DH: Daya hambat

R1: Jari-jari pertumbuhan patogen ke arah tepi fungi

R2: Jari-jari pertumbuhan patogen ke arah bakteri endofit

3.4.3 Kemampuan Produksi Asam Sianida (HCN)

Kemampuan produksi asam sianida (HCN) setiap isolat bakteri endofit diuji menggunakan prinsip pengujian yang dilakukan oleh Munif (2011). Isolat bakteri endofit yang diuji ditumbuhkan pada media NA (*Natrium Agar*). Pada bagian tengah cawan petri ditempelkan potongan kertas saring yang berukuran 1x1 yang telah direndam dalam larutan pendeteksi HCN dengan komposisi: 2 g asam pikrat, 8 g natrium karbonat dan 200 ml air steril. Kultur bakteri endofit selanjutnya dinkubasi selama 4 hari pada suhu 24C. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna kertas saring sebagai indikator terbentuknya senyawa HCN. Warna kertas saring yang tetap kuning mengindikasikan bahwa isolat uji tidak menghasilkan HCN sedangkan warna coklat dan merah bata sebagai indikator isolat menghasilkan HCN.

3.5 Prosedur Uji Coba Kalayakan Bahan Ajar

Penelitian ini merupakan penelitian yang bertujuan untuk mengembangkan suatu bahan ajar. Metode ini digunakan untuk menghasilkan sebuah produk tertentu dan menguji keefektivan produk tersebut (Kusumam et al., 2016).

1. Uji Coba Ahli Media dan Ahli Materi

Uji coba dilakukan untuk mengetahui produk yang dikembangkan mempunyai kualitas layak untuk digunakan dalam proses pembelajaran. Sebelum diuji cobakan, produk sumber belajar berupa brosur divalidasi oleh ahli media dan ahli materi kemudian dilakukan revisi tahap pertama. Metode yang dilakukan untuk mengumpulkan data yaitu menggunakan instrumen angket (Wulandari, 2017).

3.6 Instrumen Penelitian

3.6.1 Instrumen Penelitian Uji Efektifitas Bakteri Endofit Terhadap Penyakit

Layu Fusarium

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Alat dan Kegunaan

No	Alat	Kegunaan
1	Cawan petri	Digunakan untuk mengisolasi bakteri dan jamur
2	Plastik wrap	Digunakan untuk membungkus cawan petri
3	Lampu Bunsen	Digunakan sebagai sterilisasi ketika berada didalam laminar
4	Korek api	Digunakan untuk menyalakan Bunsen
	Hp	Digunakan untuk dokumentasi
5	<i>Laminar air flow</i>	Digunakan sebagai tempat pengerjaan dalam isolasi bakteri dan peneman jamur
6	<i>Autoclave</i>	Digunakan untuk sterilisasi alat
7	Oven	Digunakan untuk menyimpan petri agar tetap steril
8	<i>Hot plate</i>	Digunakan untuk membuat media
9	Jarum ose	Digunakan untuk perbanyak bakteri
10	Gelas beker	Digunakan sebagai tempat menyimpan media

		yang akan dipanaskan
11	Botol scoot	Digunakan untuk menyimpan media
12	Kertas label	
13	Mikroskop	Digunakan untuk mengamatai spora jamur fusarium
14	Kaca preparat	Digunakan sebagai tempat menyimpan objek pengamatan
15	Kaca penutup	Digunakan sebagai penutup kaca preparat
16	Corong	Digunakan saat memasukan cairan spirtus kedalam Bunsen
17	Pingset	Digunakan untuk menjepit kertas saring
18	Timbangan analiti	Digunakan untuk menimbang media yang akan dibuat
19	Aluminium foil	Digunakan untuk menutup erlemeyer
20	Kertas saring	Digunakan untu uji hcn pada bakteri
21	Erlemeyer	Digunakan untuk menyimpan aquades

Tabel 3.2 Bahan dan Kegunaan

No	Bahan	Kegunaan
1	Aquades	Digunakan sebagai campuran dalam pembuatan media dan larutan pendeteksi HCN
2	Spirtus	Digunakan sebagai bahan bakar pada lampu Bunsen
3	PDA	Digunakan sebagai media tumbuh jamur
4	TSA	Digunakan sebagai media tumbuh bakteri
5	NA (<i>Natrium Agar</i>)	Digunakan sebagai media tumbu jamur dan bakteri
6	Bayclin	Digunakan sebagai campuran air dalam merendam cawan petri
7	Tisu	Diugunakan untuk alas petri yang dikeringkan
8	Asam pikrat	Digunakan sebagai bahan pendeteksi asam sianida (HCN) pada bakteri
9	Natrium carbonat	Digunakan sebagai bahan pendeteksi asam sianida (HCN) pada bakteri
10	Sunlight	Digunakan untuk mencusi alat-alat yang akan digunakan
11	Alkohol 70%	Digunakan untuk mensterilkan alat dan tangan
12	Air	Digunakan untuk merendam cawan petri

3.7 Teknik Analisis Data

Hasil dari pengamatan uji efektivitas bakteri endofit asal tumbuhan mangrove terhadap penyakit layu menggunakan analisis varian, jika F hitung menunjukkan pengaruh nyata pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda (UJBD) pada taraf alfa (α) 0.05.

Teknik analisis data yang digunakan untuk mengelola data yang diperoleh dalam pengembangan bahan ajar Brosur materi Kingdom Monera (*Eubacteria*) adalah menggunakan teknik analisis data kualitatif. Data yang berupa skor tanggapan para ahli yang diperoleh melalui lembar validasi diubah menjadi data interval. Dalam validasi brosur digunakan skala likert. Untuk mengukur sikap, pendapat, dan persepsi seseorang atau sekelompok orang tentang fenomena sosial dengan nilai 4 Baik Sekali (BS), nilai 3 Baik (B), nilai 2 Kurang baik (KB), dan nilai 1 Tidak baik (TB).

Skor yang diperoleh kemudian dikonversikan menjadi data kualitatif skala lima, dengan rumus yang dikutip dari Widoyoko (2011: 238) sebagai berikut:

Tabel 3.3 Konversi Data Kuantitatif ke Data Kualitaitaif dengan Skala Likert (Adaptasi Widoyoko, 2011: 238).

Data Kuantitatif	Interval Skor	Data Kualitaitaif
5	$X > + 1,80 Sbi$	Sangat Baik
4	$Xi + 0,60 Sbi < X \leq Xi +$	Baik
3	$Xi - 0,60 Sbi < X \leq Xi +$	Cukup
2	$Xi - 1,80 Sbi < X \leq Xi - 0,60$	Kurang
1	$X \leq Xi - 1,80 Sbi$	Sangat Kurang

Keterangan:

$$Xi \text{ (Rerata skor ideal)} = \frac{1}{2} (\text{skor mak ideal} + \text{skor min ideal})$$

$$Sbi \text{ (Simpangan baku ideal)} = \frac{1}{6} (\text{skor mak} - \text{skor min})$$

$$X = \text{Skor empiris}$$

Berdasarkan rumus konversi data di atas, maka setelah didapatkan data-data kuantitatif, untuk mengubahnya ke dalam data kualitatif pada penelitian ini diterapkan konversi sebagai berikut:

$$Xi = \frac{1}{2} (5+1) = 3$$

$$S_{bi} = 1/6 (5-1) = 0,6$$

$$\text{Skala 5} = X > 3 + (1,8 \times 0,6)$$

$$= X > 3 + 1,08$$

$$= X > 4,08$$

$$\text{Skala 4} = 3 + (0,6 \times 0,6) < X \leq 4,08$$

$$= 3 + 0,36 < X \leq 4,08$$

$$= 3,36 < X \leq 4,08$$

$$\text{Skala 3} = 3 - 0,36 < X \leq 3,36$$

$$= 2,64 < X \leq 3,36$$

$$\text{Skala 2} = 3 - (1,8 \times 0,6) < X \leq 2,64$$

$$= 3 - 1,08 < X \leq 2,64$$

$$= 1,92 < X \leq 2,64$$

$$\text{Skala 1} = X \leq 1,92$$

Skor Mak = 5

Skor Min = 1

Dari dasar perhitungan di atas maka konversi data kuantitatif ke data kualitatif skala 1-5 tersebut dapat disederhanakan pada tabel pada tabel berikut:

Tabel 3.4 Pedoman Hasil Konversi Data kuantitatif ke Data Kualitatif

Data Kuantitatif	Rentang	Nilai	Data Kualitatif	Keterangan
5	$X > 4,08$	A	Sangat Baik	Layak
4	$3,36 < X \leq 4,08$	B	Baik	
3	$2,64 < X \leq 3,36$	C	Cukup	Tidak Layak
2	$1,92 < X \leq 2,64$	D	Kurang	
1	$X \leq 1,92$	E	Sangat Kurang	

Rumus menghitung kelayakan bahan ajar berbasis brosur.

$$x = \frac{\sum X}{n}$$

Keterangan:

X : Skor rata-rata
 $\sum X$: Jumlah skor
 n : Jumlah

