

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 di Laboratorium Pendidikan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Raden Fatah Palembang.

B. Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- | | |
|------------------|----------------------------|
| 1. Tabung reaksi | 11. Timbangan digital |
| 2. Pipet mikro | 12. Kapas |
| 3. Cawan petri | 13. Autoclave |
| 4. Erlenmeyer | 14. Penggaris kertas label |
| 5. Labu takar | 15. Kamera digital |
| 6. Gelas beker | 16. Spidol. |
| 7. Gelas ukur | 17. Colony counter |
| 8. Pinset | 18. Mikroskop |
| 9. Pengaduk | 19. Plastik |
| 10. Api bunsen | |

Bahan yang digunakan adalah asap cair tempurung kelapa grade 1 di peroleh dari CV Eka Cipta Wahana, tissue, NaCl, aluminium foil, kertas saring, media tumbuh PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan aquades.

C. Jenis dan Design Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan (Sugiyono, 2010).

Design penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap dapat didefinisikan sebagai rancangan dengan beberapa perlakuan yang disusun secara acak untuk seluruh unit percobaan. Design ini digunakan karena percobaan dilakukan di laboratorium dan kondisi dapat dikontrol. Menurut Hanafiah (2016), penentuan banyaknya ulangan menggunakan rumus seperti berikut:

Jumlah perlakuannya (t) adalah 4

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

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$(3)(r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 15 / 3 = 5$$

$$r \geq 5 + 1$$

$$r = 6$$

Berdasarkan rumus di atas diperoleh 6 kali pengulangan (r).

- Perlakuan (P0) : tanpa perlakuan (kontrol)
- Perlakuan (P1) : asap cair konsentrasi 1%
- Perlakuan (P2) : asap cair konsentrasi 3%
- Perlakuan (P3) : asap cair konsentrasi 5%

Tabel 3. Perlakuan dan pengulangan

Perlakuan	Ulangan						Jumlah Total 24
	1	2	3	4	5	6	
P ₀	P ₀₁	P ₀₂	P ₀₃	P ₀₄	P ₀₅	P ₀₆	
P ₁	P ₁₁	P ₁₂	P ₁₃	P ₁₄	P ₁₅	P ₁₆	
P ₂	P ₂₁	P ₂₂	P ₂₃	P ₂₄	P ₂₅	P ₂₆	
P ₃	P ₃₁	P ₃₂	P ₃₃	P ₃₄	P ₃₅	P ₃₆	
P ₄	P ₄₁	P ₄₂	P ₄₃	P ₄₄	P ₄₅	P ₄₆	

Setelah petak perlakuan ditentukan, perlu dilakukan pengacakan dan penataan RAL karena dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) perlakuan diatur dengan pengacakan secara lengkap sehingga setiap satuan percobaan memiliki peluang yang sama untuk mendapat setiap perlakuan.

D. Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari orang, obyek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2010). Variabel bebas (independen) yaitu konsentrasi asap cair tempurung kelapa grade 1 dan cabai merah besar (*Capsicum annuum* L.).

Variabel terikat (dependen) sebagai variabel yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas. Dalam penelitian ini yaitu pertumbuhan cendawan sebagai variabel terpengaruh atau disebut dengan variabel terikat.

E. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah cabai merah (*Capsicum annuum* L.) di lahan warga Sukawinatan. Tiap unit perlakuan terdiri dari 8 buah cabai (Apriyani, 2015) dengan 4 perlakuan dan 6 kali ulangan, sehingga sampel cabai merah yang dibutuhkan sebanyak 288 buah cabai.

Pengambilan sampel dilakukan secara purposive Sampling yaitu teknik penentuan sampel untuk tujuan tertentu saja (Sugiyono, 2010). Teknik sampling yang digunakan peneliti jika peneliti mempunyai pertimbangan-pertimbangan tertentu di dalam pengambilan sampelnya atau penentu sampel untuk tujuan tertentu dalam penelitian ini adapun pertimbangan yang diambil oleh peneliti yaitu buah cabai yang akan diteliti diambil satu hari sebelum digunakan, cabai yang digunakan berwarna merah seluruhnya, bentuknya lurus, dan bebas dari penyakit/tidak rusak. Semua perlakuan pengawetan asap

cair dibandingkan dengan kontrol. Kontrol yang digunakan adalah jenis cabai merah yang belum diberi pengawet.

F. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahapan :

1. Persiapan Cabai Merah

Pengambilan bahan dilakukan dengan kriteria yaitu cabai merah besar (*Capsicum annuum* L.) yang berwarna merah seluruhnya dan masih segar diambil langsung dari kebun warga Sukawinatan. Jumlah cabai merah dalam penelitian ini adalah sebanyak 288 buah.

2. Pembuatan Konsentrasi Larutan Asap Cair

Asap cari tempurung kelapa diperoleh dari CV Eka Cipta Wahana. Konsentrasi asap cair yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1%, 3%, dan 5% (Utamingtyas, 2015). Adapun langkah-langkah dalam pembuatan konsentrasi larutan asap cair sebagai berikut:

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

Keterangan :

M_1 : konsentrasi larutan asap cair

M_2 : konsentrasi larutan asap cair yang diinginkan

V_1 : volume larutan asap cair yang harus dilarutkan

V_2 : volume larutan perlakuan yang diperlukan

a. P₁₁ : Konsentrasi 1%

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

$$100\% \times V_1 = 100 \text{ ml} \times 1\%$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \times 1\%}{100\%}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml} \quad (\text{Konsentrasi asap cair } 1\% = 1 \text{ ml asap cair})$$

Adapun jumlah aquades dalam konsentrasi asap cair 1% yaitu;

$$\begin{aligned} \text{Aquades} &= 100 \text{ ml} - 1 \text{ ml} \\ &= 99 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi, konsentrasi asap cair 1% adalah 1 ml asap cair dalam 99 ml aquades.

b. P₁₂ : Konsentrasi 3%

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

$$100\% \times V_1 = 100 \text{ ml} \times 3\%$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \times 3\%}{100\%}$$

$$V_1 = \frac{300 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 3 \text{ ml} \quad (\text{Konsentrasi asap cair } 3\% = 3 \text{ ml asap cair})$$

Adapun jumlah aquades dalam konsentrasi asap cair 3% yaitu;

$$\begin{aligned} \text{Aquades} &= 100 \text{ ml} - 3 \text{ ml} \\ &= 97 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi, konsentrasi asap cair 3% adalah 3 ml asap cair dalam 97 ml aquades.

c. P₁₃: Konsentrasi 5%

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

$$100\% \times V_1 = 100 \text{ ml} \times 5\%$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \times 5\%}{100\%}$$

$$V_1 = \frac{500 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml} \quad (\text{Konsentrasi asap cair } 5\% = 5 \text{ ml asap cair})$$

Adapun jumlah aquades dalam konsentrasi asap cair 5% yaitu;

$$\begin{aligned} \text{Aquades} &= 100 \text{ ml} - 5 \text{ ml} \\ &= 95 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi, konsentrasi asap cair 5% adalah 5 ml asap cair dalam 95 ml aquades.

3. Proses Perendaman dengan Asap Cair

Cabai merah direndam terlebih dahulu dengan empat konsentrasi asap cair yang berbeda (tanpa perlakuan; 1% ; 3% ; 5%) selama 15 menit. Dalam proses perendaman untuk setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali. Cabai merah diletakkan dalam baki plastik steril yang telah dilapisi dengan kertas saring, kemudian ditutup dengan plastik transparan yang diberi lubang. Tiap baki plastik berisi 8 buah cabai yang disusun terpisah. Baki-baki plastik disusun dan diinkubasi pada suhu ruang yaitu sekitar 25°C selama 9 hari (ketika cabai mulai busuk) (Apriyani, 2015).

4. Pembuatan Media Potato Dextrose Agar (PDA)

Media yang digunakan PDA (*Potato Dextrose Agar*). PDA adalah salah satu media kultur yang paling umum digunakan karena formulasinya yang sederhana dan merupakan media isolasi dan pembiakan cendawan terbaik karena kemampuannya dalam mendukung pertumbuhan pada berbagai kapang dan khamir (Saha, dkk., 2008).

Serbuk PDA sebanyak 39 gram disuspensikan dalam 1000 ml aquadest, kemudian dilarutkan dengan pemanasan dan diaduk hingga merata, dimasukkan ke dalam wadah yang sesuai. Selanjutnya ditambahkan 1 ml kloramfenikol sebagai anti bakteri dan dicampur hingga merata. Sterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C, kemudian dituang ke dalam cawan petri atau tabung reaksi steril dan dibiarkan memadat (Apriyani, 2015).

5. Proses Pengenceran Larutan

- a. Cabai yang masih segar dicuci dengan air yang telah ditambahkan konsentrasi asap cair yaitu 1%, 3%, dan 5% selama 15 menit dan tanpa asap cair (kontrol).
- b. Tahap ini diawali dengan memotong sampel buah cabai menjadi potongan-potongan kecil berukuran sekitar 1 cm² di dalam suatu cawan Petri steril.
- c. Selanjutnya potongan buah cabai dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril, lalu masukkan 90 ml larutan NaCl 0,9 % steril untuk kemudian dikocok sampai homogen selama 5 menit.
- d. Sampel ini merupakan pengenceran pertama 10⁻¹. Kemudian dari larutan tersebut diambil 1 ml dan dipindahkan ke tabung reaksi I dengan cara dipipet untuk mendapatkan pengenceran seri selanjutnya. Demikian seterusnya (Bawinto, Eunike dan Berti, 2015).
- e. Dari tiap pengenceran dipipet 1 ml ke dalam cawan steril secara aseptik dimasukkan dalam cawan petri.

- f. Pengujian cemaran cendawan dari sampel dilakukan dengan teknik cawan agar sebar/*spread plate method* dilakukan replikasi duplo.
- g. Sebanyak 1 ml suspensi hasil pengenceran sampel dituang pada permukaan media PDA dan diratakan dengan bantuan *spreader glass* (Putri, 2016).
- h. Setelah itu, petri disusun terbalik dan diinkubasi pada suhu 25 °C atau pada suhu kamar selama 24-48 jam tergantung tingkat pertumbuhan cendawan. Kemudian dihitung jumlah koloni cendawan yang tumbuh pada media agar di cawan petri. Jumlah total koloni cendawan yang dihitung, kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran (Bawinto, Eunike dan Berti, 2015).

6. Perhitungan Cendawan

Koloni cendawan seperti kapas atau bulat dengan berbagai warna, permukaan kasar. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung. Hasil pengamatan dan perhitungan yang diperoleh dinyatakan sesuai persyaratan berikut, dipilih cawan petri dari salah satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 40-60 buah. Jumlah koloni dari kedua cawan dihitung lalu dikalikan dengan faktor pengencerannya. Bila pada cawan petri dari dua tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah antara 40-60 buah, maka dihitung jumlah koloni dan dikalikan faktor pengencerannya, kemudian diambil rata-rata. Angka diambil dinyatakan sebagai angka cendawan dalam tiap cawan petri, contoh (Putri, 2016). Untuk beberapa kemungkinan lain yang berbeda dari pernyataan di atas, maka ikuti petunjuk sebagai berikut :

- a. Bila hanya salah satu dari kedua cawan petri dari pengenceran yang sama menunjukkan jumlah koloni antara 40-60 buah, dihitung jumlah koloni dari kedua cawan dan dikalikan dengan factor pengenceran.
- b. Bila pada tingkat pengenceran yang lebih tinggi didapat koloni lebih besar dari dua kali jumlah koloni pada pengenceran dibawahnya, maka dipilih tingkat pengenceran terendah.
- c. Bila pada pengenceran yang lebih tinggi didapat jumlah koloni kurang dari dua kali jumlah koloni pengenceran dibawahnya, maka diambil langka rata-rata dari jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut. Hasil dinyatakan sebagai angka cendawan dalam tiap gram sampel
- d. Bila dari seluruh cawan petri tidak ada satu pun yang menunjukkan jumlah antara 40-60 koloni, maka dicatat angka sebenarnya dari tingkat pengenceran terendah dan dihitung sebagai angka cendawan perkiraan.
- e. Bila tidak ada pertumbuhan pada semua cawan bukan disebabkan faktor inhibitor, maka angka cendawan dilaporkan sebagai kurang dari satu dikalikan factor pengenceran.

Jumlah koloni = jumlah koloni pada cawan \times 1/faktor pengenceran

7. Pengamatan Morfologi Cendawan

Pengamatan cendawan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis yaitu dengan mengamati ciri-ciri fisik morfologi. Menurut Gandjar, dkk (1999), dalam melakukan pengamatan morfologi koloni, dapat dilihat dari warna permukaan koloni, jumlah koloni, selain itu dilihat ada tidaknya garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni.

Pengamatan mikroskopis dengan cara melihat hifa (berseptum atau tidak), warna hifa, bentuk hifa, bentuk konidia, dan ukuran spora.

G. Parameter yang diamati

Adapun bagian yang akan diamati pada buah cabai merah meliputi beberapa pengamatan diantaranya :

1. Daya tahan cabai merah setelah diberi perlakuan asap cair dan tanpa perlakuan dilihat dari berapa lama cabai merah masih sehat dan segar selama disimpan.
2. Pertumbuhan cendawan pada cabai merah setelah diberi perlakuan asap cair dan tanpa perlakuan yaitu dengan melakukan perhitungan cendawan yang tumbuh pada media PDA untuk mengetahui jumlah koloni cendawan yang tumbuh atau tidak
3. Pengamatan morfologi cendawan dengan mengamati ciri-ciri fisik morfologi pada media PDA yang telah ditumbuhi cendawan.

H. Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data adalah cara yang ditempuh peneliti untuk mendapatkan data dan fakta-fakta yang ada pada subjek maupun objek penelitian untuk memperoleh data yang valid (Lestari, 2017). Adapun metode pengumpulan data pada penelitian ini yaitu menggunakan metode uji laboratorium. Uji laboratorium adalah melakukan eksperimen melalui percobaan tertentu dengan menggunakan alat-alat atau fasilitas yang tersedia di laboratorium penelitian. Uji laboratorium pada penelitian ini digunakan untuk memperoleh data pengaruh penggunaan asap cair terhadap

pertumbuhan cendawan pada cabai merah dan konsentrasi yang diperlukan untuk memberikan hasil optimal cair terhadap pertumbuhan cendawan pada cabai merah.

I. Teknik Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif yaitu dianalisis dengan ANOVA, untuk menganalisis hasil pengujian cendawan pada cabai merah. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan perlakuan. Menurut Hanafiah (2012), untuk mengetahui apakah data penelitian menunjukkan beda nyata atau tidak maka data tersebut dianalisis menggunakan ANOVA, melalui langkah-langkah perhitungan sebagai berikut:

1. Faktor Korelasi (FK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{r.t}$$

2. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = T (Y_{ij}^2) - FK$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{TA^2}{r} - FK$$

4. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP$$

Hasil dari perhitungan tersebut disajikan ke dalam tabel sebagai berikut:

Tabel. 4 Anova RAL

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 1% 5%
Perlakuan	$t - 1 = V_1$	JKP	$JKP/V_1 =$ KTP	KTP/KTG *	$F (V_1, V_2)$
Galat	$(rt-1) - (t-1) =$ V_2	JKG	$JKG/V_2 =$ KTG		
Total	$r-1$	JKT			

$$KK = \dots\dots \%$$

Sumber : Hanafiah (2012).

5. Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\text{rerata seluruh data percobaan}} \times 100 \%$$

$$\bar{y} \text{ (rerata seluruh data percobaan)} = \frac{T_{ij}}{rt}$$

Keterangan :

SK	= Sumber Keragaman	i	= Ulangan ke i
DB	= Derajat Bebas	(1,2,3.....t)	
JK	= Jumlah Kuadrat	j	= Ulangan ke j
KT	= Kuadrat Tengah	(1,2,3.....t)	
TA	= Jumlah Perlakuan	r	= Ulangan
Y	= Hasil Percobaan	t	= Perlakuan

Menurut Hanafiah (2012), untuk menentukan pengaruh antara perlakuan konsentrasi dapat dilakukan dengan menggunakan uji F, yaitu membandingkan nilai F_{hitung} dengan nilai F_{tabel} dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Bila $F_{hitung} < F_{tabel}$ 5% tidak ada perbedaan nyata = *non significant different*, H_0 diterima taraf uji 5%.
2. Bila $F_{hitung} > F_{tabel}$ 5% ada perbedaan nyata = *significant different*, H_a diterima taraf uji 5%.

Dan apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND). Menurut Hanafiah (2012), jika H_0 ditolak untuk membedakan pengaruh dari masing-masing perlakuan dan menentukan perlakuan yang mana yang menunjukkan perbedaan nyata, maka selanjutnya dilakukan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) dengan rumus sebagai berikut:

$$BNJDa = P_{\alpha} (p, v) X s\bar{y}$$

Dimana : α = Taraf nyata yang dikehendaki

P_{α} = Nilai p tabel pada taraf yang dikendaki

V = Derajat bebas galat

$s\bar{y}$ = Standar eror