**BAB III**

**METEDOLOGI PENELITIAN**

**3.1. Waktu dan Tempat**

Lokasi pengambilan sampel bunga telang yaitu berada di Desa Ujung Tanjung, Kabupaten Banyuasin, Kecamatan Banyuasin III dan lokasi penelitian mengenai Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea L*) yang dilaksanakan selama 2 bulan, mulai dari bulan Februari sampai April 2022. Bertempat di Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang

**3.2. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian Deskriptif yaitu menggunakan jenis penelitian Deskriptif Kuantitatif berupa ekspolasi dengan cara mengisolasi dan identifikasi fungi endofit dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) yang di ambil dari Desa Ujung Tanjung Kabupaten Banyuasin. Adapun metode yang digunakan adalah metode survey dengan ekspolasi. Ekspolasi dilakukan pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea L*)

**3.3. Populasi dan Sampel**

Populasi pada penelitian ini yaitu menggunakan tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea L*) yang ada di Desa Ujung Tanjung, Kec. Banyuasin, Kab. Banyuasin III. Sedangkan untuk sampel yang di ambil pada penelitian ini yaitu menggunakan mahkota bunga pada bunga telang.

**3.4. Alat dan Bahan Penelitian**

3.4.1 Alat

* + - 1. Alat Isolasi Jamur Endofit

Adapun alat isolasi jamur endofit pada penelitian ini, adalah autoklaf, cawan petri, gunting steril, pinset, aluminium foil, tissue, kain kasa, pisau erlenmeyer, *hot plate*, timbangan analitik, *magnetic stirer, Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), kapas steril.

* + - 1. Alat Pemurnian Fungi Endofit

Adapun alat pemurnian jamur endofit pada penelitian ini, adalah cawan petri, jarum ose, bunsen, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), dan inkubator.

* + - 1. Alat Identifikasi Jamur Endofit

Adapun alat identifikasi jamur endofit pada penelitian ini, adalah mikroskop, penggaris dan buku identifikasi. (Ramadhani, 2017; Sulistiyono & siti , 2019). Buku yang digunakan ialah Larone’s medically important fungi (Thomas & Walsh, 1939) dan pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species (Watanabe tsuneo, 1937).

3.4.2. Bahan

1. Bahan Isolasi Jamur Endofit

Adapun bahan isolasi jamur endofit pada penelitian ini, adalah bunga telang, alkohol 70%, NaOCl, etanol, aquades, *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan Chloramfenicol.

1. Bahan Pemurnian Jamur Endofit

Adapun bahan pemurnian jamur endofit pada penelitian ini, adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA).

1. Bahan Identifikasi Jamur Endofit

Adapun bahan identifikasi jamur endofit pada penelitian ini, adalah isolat fungi.

**3.5. Prosedur Penelitian**

Berikut merupakan prosedur penelitian terhadap Keanekaragaman Jamur Endofit pada bunga telang :

**3.5.1. Pembuatan Media**

Pembuatan medium dilakukan dengan cara mencampurkan serbuk PDA instan dan aquades steril ke dalam erlenmeyer, masukkan juga stirer dan chloramphenicol. Kemudian aduk dan tutup. Selanjutnya diletakkan diatas *hot plate* sampai larutan mediumnya homogen. Medium disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121oC. Medium yang telah disterilkan kemudian dituang kedalam cawan petri. Biarkan medium memadat di dalam *Laminar Air Flow* (Wahyuni, 2019)*.*

**3.5.2. Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga telang yang diambil dari desa Ujung Tanjung Kec.Banyuasin Kab. Banyuasin III, Lalu sampel tersebut dicuci bersih kemudian dikeringkan. Selanjutnya dimasukan kedalam plastic bersih dan diberi label Selanjutnya plastik disimpan ke dalam *cooler box* atau kulkas dan dibawa ke laboratorium (Suliati, dkk., 2017).

**3.5.3. Isolasi Jamur Endofit**

Sampel yang telah diambil dicuci dengan menggunakan air mengalir hingga bersih kemudian dicuci dengan menggunakan larutan NaOCl 2% selama 1 menit, dilanjutkan dengan alkohol 70% selama 1 menit, setelah itu dibilas dengan aquades steril selama 1 menit dan diulang 2 kali, lalu dikeringkan di atas tissue steril dan sampel dijepit dengan menggunakan pinset dan dipotong menggunakan gunting steinlis sehingga membentuk persegi dengan ukuran 1 cm dalam kondisi aseptis. Kemudian sampel ditanam dalam cawan petri yang berisi medium PDA. Selama proses isolasi ini dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* dan kemudian diinkubasi selama 2 sampai 14 hari pada suhu 25 hingga 27oC (Wahyuni, 2019).

**3.5.4. Pemurnian Jamur Endofit**

Pemurnian Jamur endofit dilakukan pada setiap koloni jamur yang tumbuh pada media PDA ke media PDA baru dalam keadaan aseptis, yaitu dalam LAFC. Pemurnian dilakukan berdasarkan kenampakan morfologi secara makroskopis yang meliputi warna dan bentuk koloni jamur. Masing-masing mikroorganisme tersebut diambil dengan jarum ose yang dipijarkan dengan bunsen, kemudian ditumbuhkan kembali pada cawan petri yang berisi media PDA (Ariyono, dkk., 2014). Pengamatan ini dilakukan kembali setelah inkubasi selama 5 sampai 7 hari. Jika setelah dimurnikan jamur yang tumbuh masih bercampur dengan jamur lain, maka dilakukan pemurnian berulang kali sampai diperoleh jamur yang murni. Jamur endofit diinkubasi pada suhu kamar selama 3 sampai 5 hari sesuai dengan pertumbuhannya. Setiap isolat murni dibuat duplo. Masing-masing sebagai kultur stok dan kultur untuk penelitian (Hasiani, dkk., 2015).

**3.5.5. Identifikasi Makroskopis**

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepumg, menggunung, licin, ada atau tidaknya tetesan eksudat), garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni, dan lingkaran-lingkaran konsentris dalam cawan petri (konsentris atau tidak konsentris), serta pertumbuhan koloni sampai koloni jamur mencapai diameter 9 cm dengan menggunakan penggaris (Ariyono, dkk., 2014).

**3.5.6. Identifikasi Mikroskopis**

Pengamatan miksroskopis dilakukan dengan cara membuat *slide culture*. Pembuatan *slide culture* dilakukan dengan menyiapkan cawan petri, *object glass*, *cover glass* dan batang penahan *object glass* yang telah disterilkan terlebih dahulu. Sementara itu, medium agar yang telah dicairkan terlebih dahulu dituangkan ke dalam cawan petri steril lainnya. Ketika medium agar telah membeku, maka agar dipotong kotak dengan ukuran 1x1 cm dan dipindahkan ke tengah *object glass* dalam cawan petri steril dengan menggunakan pisau atau alat pemotong steril. Kemudian ditutup dengan menggunakan *cover glass*. Selanjutnya *aquades* steril diteteskan secukupnya pada kertas saring dalam cawan untuk menjaga kelembaban dalam cawan petri. Kemudian cawan ditutup dan dibungkus menggunakan kertas wrap. Semua tahap dilakukan di dekat bunsen untuk menghindari kontaminasi. Selanjutnya masing-masing *slide culture* diinkubasi selama 5-7 hari (Sanjaya, dkk., 2010).

Masing-masing *slide culture* diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x. Pengamatan mikroskopis ini meliputi sekat hifa (bersekat atau tidak bersekat), pertumbuhan hifa (bercabang atau tidak bercabang), warna hifa (hialin, transparan atau gelap), ada atau tidaknya konidia, dan bentuk konidia (bulat, lonjong, berantai, atau tidak beraturan) (Ariyono, dkk., 2014).

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan akan digunakan Buku identifikasi. Buku yang digunakan ialah Larone’s medically important fungi (Thomas & Walsh, 1939) dan pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species (Watanabe tsuneo, 1937).

**3.6. Teknik Pengumpulan Data**

Adapun teknik pengumpulan data yang digunakan yaitu observasi. Observasi berupa dokumentasi foto fungi makrokopis dan mikrokopis sedangkan untuk mengidentifikasi jenis jamur endofitnya dengan menggunakan buku *Larone’s medically important fungi* (Thomas & Walsh, 1939) dan *pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species* (Watanabe tsuneo, 1937).

**3.7. Teknik Analisis Data**

**3.7.1. Teknik Analisis Data Validasi Produk Sumbangsih Pada Mata Pelajaran Biologi di SMA**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No.** | **Pilihan Jawaban** | **Skor** |
| 1. | Sangat Baik (SB) | 5 |
| 2. | Baik (B) | 4 |
| 3. | Cukup (C) | 3 |
| 4. | Kurang (K) | 2 |
| 5. | Sangat Kurang (SK) | 1 |

Analsis data yang digunakan untuk melihat kevalidan yaitu dengan berdasarkan skala *likert*. Penskoran pada analisis dan instrumen validasi dapat dilihat pada tabel 3.1 dibawah ini

(Sudjana, 2009)

Rumus Persentase yang digunakan adalah sebagai berikut:

**P =** ∑ 𝑋 **x 100%**

∑ 𝑋i

Keterangan :

P = Persentase validasi per aspek

X = Jumlah jawaban responden per aspek

Xi = Jumlah nilai ideal per aspek

Dan rumus persentase rata-rata nilai untuk semua aspek, rumus

yang digunakan adalah:

Keterangan :

P̅ = ∑ PTotal

n

P̅ = Jumlah validasi rata-rata

∑ PTotal = Jumlah persentase total semua aspek

n = Banyaknya aspek

Hasil yang diperoleh diinterpretasikan dengan menggunakan table 3.2 sebagai berikut:

Tabel 3.2. Kriteria interpretasikan hasil validasi

|  |  |
| --- | --- |
| **Kriteria** | **Range Persentase** |
| Sangat rendah | 0-20 |
| Rendah | 21-40 |
| Sedang | 41-60 |
| Tinggi | 61-80 |
| Sangat Tinggi | 81-100 |

Tabel (Sudjana, 2009)

Tabel 3.3. Aspek validasi ensiklopedia

|  |  |
| --- | --- |
| **Aspek** | **Validator** |
| Desain | Dosen ahli pada bidang desain |
| Materi | Dosen ahli pada bidang materi |
| Bahasa | Dosen ahli pada bidang bahasa |

(Sudjana, 2009)

Dari tabel kriteria interpretasi hasil validasi diatas, maka kriteria kevalidan dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Kualifikasi sangat tinggi dan tinggi, maka perlu dilakukan revisi kecil sesuai dengan saran validator dan tidak perlu dilakukan validasi kembali
2. Kualifikasi sedang, maka perlu dilakukan revisi besar dan tidak perlu dilakukan validasi kembali
3. Kualifikasi rendah atau sangat rendah, maka perlu dilakukan revisi besar dan perlu dilakukan validasi kembali (Khasan, 2012)