

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif. Penelitian deskriptif adalah suatu bentuk penelitian yang ditujukan untuk mendeskripsikan fenomena-fenomena yang ada, baik fenomena alamiah maupun fenomena buatan manusia. Fenomena itu bisa berupa bentuk, aktivitas, karakteristik, perubahan, hubungan, kesamaan, dan perbedaan antara fenomena yang satu dengan fenomena lainnya. Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang berusaha mendeskripsikan dan menginterpretasikan sesuatu (Linarwati,dkk., 2016). Dalam penelitian ini, penelitian deskriptif dilakukan dengan mendeskripsikan jenis fungi endofit yang telah diisolasi dari kulit jeruk nipis yang dilakukan dengan menumbuhkan jaringan tanaman pada media SDA. Identifikasi dilakukan secara makroskopis meliputi warna, bentuk, dan tekstur. Identifikasi secara mikroskopis meliputi ada tidaknya septa pada hifa, keberadaan konidia, dan bentuk konidia.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, politeknik Kesehatan Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Februari sampai bulan April 2020.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas objek atau subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2018). Populasi pada penelitian ini adalah buah jeruk nipis yang tidak menunjukkan gejala asimtomatis dari infeksi fungi.

2. Sampel penelitian

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi (Sugiyono, 2018). Sampel pada penelitian ini adalah kulit buah jeruk nipis.

3. Unit analisis

Unsur-unsur yang diambil sebagai sampel disebut unsur sampling, dan ini merupakan unit-unit yang akan dianalisis selanjutnya (Triyono 2003). Unit analisis dalam penelitian ini adalah fungi endofit yang telah diisolasi dari kulit jeruk nipis.

4. Teknik pengambilan sampel

Pengumpulan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan teknik *Non Probability* secara *purposive sampling*. Pengambilan sampel secara *purposive* adalah pengambilan sampel dengan cara memilih sampel sesuai kriteria yang dikehendaki oleh peneliti (Sugiyono, 2018). Kriteria sampel yang digunakan adalah kulit jeruk nipis yang berasal dari buah jeruk nipis siap panen dan tidak menunjukkan gejala asimtomatis dari infeksi fungi.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis data

a. Data primer

Sumber data primer adalah sumber data yang langsung memberikan data kepada pengumpulan data (Sugiyono, 2018). Data primer meliputi jenis fungi endofit yang diisolasi dari kulit buah jeruk nipis.

b. Data sekunder

Sumber data sekunder adalah sumber yang tidak langsung memberikan data kepada pengumpul data, misalnya dari orang lain atau lewat dokumen (Sugiyono, 2018). Data ini digunakan untuk mendukung informasi primer yang telah diperoleh yaitu dari bahan pustaka, literatur, penelitian terdahulu, dan buku.

2. Teknik pengumpulan data

Penelitian ini menggunakan teknik pengumpulan data secara observasi yang dilakukan dengan penelitian laboratorium.

3. Instrumen pengumpulan data

a. Alat dan bahan

1) Alat

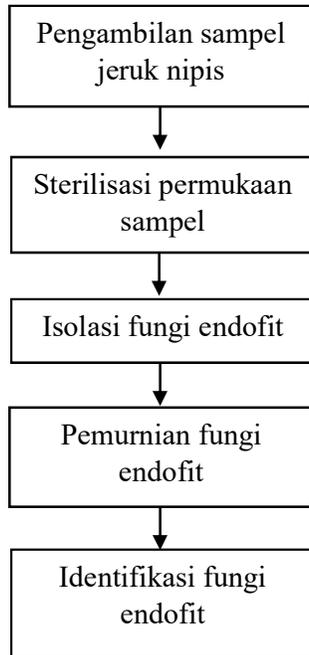
Alat yang digunakan adalah autoklaf, batang pengaduk, neraca analitik, cawan petri, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, incubator, jarum ose, kain flannel, korek api, lampu spiritus, BSC (*Biological Safety Cabinet*), oven, pinset, pisau, *hot magnetic stirrer*.

2) Bahan

Kulit buah jeruk nipis, akuades, etanol 70%, NaClO, media SDA.

b. Kerangka dan prosedur kerja

1) Kerangka kerja



Gambar 6. Kerangka Kerja

2) Prosedur kerja

a) Pengambilan sampel jeruk nipis

Bagian tanaman yang diambil untuk proses eksplorasi berada dalam kondisi sehat, serta tidak menunjukkan adanya gejala infeksi dari penyakit. Pada jeruk nipis diambil buah jeruk nipis siap panen. Sampel bagian tanaman tersebut diletakkan di dalam kantong plastik dan dibawa ke laboratorium untuk isolasi fungi endofit.

b) Sterilisasi permukaan sampel

Kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang segar dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel, kemudian ukuran kulit jeruk nipis diperkecil menjadi 2 cm lalu sampel dikeringkan di atas cawan petri, Sampel dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer 250 ml, ditambahkan

etanol 70% sampai terendam, lalu dikocok pelan dan disterilisasi selama 2 menit. Cairan etanol 70% dibuang, sterilisasi dilanjutkan dengan natrium hipoklorit (NaClO 5,25%) selama 2 menit, dibilas dengan aqua pro injeksi sebanyak 3 kali, selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri steril (Setiawan, dkk., 2016).

c) Isolasi fungi endofit

Isolasi fungi endofit dilakukan dengan metode tanam langsung. Setelah sterilisasi permukaan selesai dilakukan, potongan sampel dikeringkan dengan kertas saring steril selama beberapa menit. Kemudian masing-masing potongan sampel diletakkan pada media SDA. Bagian tersebut ditanam pada media SDA dengan suhu kamar selama 7 hari. Sebagai kontrol, air bilasan terakhir diinokulasikan pada medium SDA. Setelah 7 hari terjadi pertumbuhan fungi, lalu diisolasi untuk mendapatkan morfologi fungi endofit murni (Setiawan, dkk., 2016).

d) Pemurnian fungi endofit

Pemurnian endofit bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan mengamati perbedaan morfologi koloni. Pemurnian fungi dilakukan dengan cara mengambil miselium fungi yang tumbuh dengan menggunakan kawat ose steril, selanjutnya bagian dari fungi tersebut dipindahkan kembali ke media SDA steril. Hal yang sama juga dilakukan pada miselium fungi yang memiliki morfologi makroskopis koloni yang berbeda sampai dihasilkan biakan murni (Ramadhani, Samingin, dan Iswadi, 2017).

e) Identifikasi fungi endofit

Identifikasi dilakukan berdasarkan panduan Barnett dan Hunter (1998) yaitu dengan pengamatan makroskopis meliputi warna koloni, bentuk koloni dalam cawan petri (konsentris dan tidak konsentris), dan tekstur koloni. Pengamatan secara mikroskopis meliputi ada tidaknya septa pada hifa, ada atau tidaknya konidia dan bentuk konidia. Untuk mengamati morfologi mikroskopis fungi sebelumnya membuat preparat untuk pengamatan yang menggunakan mikroskop binokuler adalah sebagai berikut (Hafsari dan Asterina, 2013):

- 1) Inokulum fungi pada media agar diambil dari cawan petri dengan menggunakan jarum ose.
- 2) Potongan media tersebut diletakkan di atas objek glass sterilyang telah berisi LCB.
- 3) Objek glass ditutup dengan cover glass kemudian ditekan secara perlahan.
- 4) Mengamati morfologi fungi (bentuk hifa, konidia, dan spora) yang terbentuk dan diamati dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.

E. Pengolahan dan Analisis Data

1. Teknis pengolahan data

Data – data yang didapat selanjutnya akan diolah dengan menggunakan teknik pengolahan data secara tabulasi data, yaitu data yang disajikan dalam bentuk tabel diberi narasi.

2. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan cara deskriptif yaitu dengan mendeskripsikan fungi endofit secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil pengamatan makroskopis

meliputi makroskopis meliputi warna, bentuk, dan tekstur. Pengamatan mikroskopis yang meliputi ada tidaknya septa pada hifa, pertumbuhan hifa, dan ada atau tidaknya konidia, dan bentuk konidia.