

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat untuk proses penanaman, pengamatan dan pengolahan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi UIN Raden Fatah Palembang dan Waktunya Desember 2014 s/d Februari 2015.

B. Alat dan Bahan

1. Alat:

Polybag hitam berukuran 3kg, gelas ukur, *mortar and pestle*, neraca analitik, masker, mikroskop, jarum ose, termometer, tissue, pisau, gunting, kertas saring, cawan petri, hot plate, kalkulator, alat tulis dan kamera digital.

2. Bahan:

Bibit tomat, aquades, tanah dan sumber inokulum *Meloidogyne* spp dan akar tanaman *Imperata cylindrica* L.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah menggunakan metode eksperimen melalui pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan (*t*) dan enam kali ulangan (*r*). Perlakuan dalam percobaan ini menurut Hanafiah (2010) merupakan faktor kuantitas (takaran) yaitu perlakuan yang memperhitungkan takaran

perlakuan X. Dalam hal ini perlakuan X yang dimaksud adalah perlakuan berupa dosis ekstrak akar alang-alang.

Peneliti melakukan penambahan dosis dari penelitian sebelumnya yaitu sebesar 250 cc, 300 cc, dan 350 cc dan satu kali kontrol dengan menggunakan aquades. Dalam hal ini peneliti melakukan perhitungan dosis ekstrak dengan cara pengenceran menggunakan larutan aquades yang digunakan dalam penelitian (surya, 2012). Adapun perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Kombinasi Petak Percobaan (24 Perlakuan)

Dosis Ulangan	P₀	P₁	P₂	P₃
1	P ₀₁	P ₁₁	P ₂₁	P ₃₁
2	P ₀₂	P ₁₂	P ₂₂	P ₃₂
3	P ₀₃	P ₁₃	P ₂₃	P ₃₃
4	P ₀₄	P ₁₄	P ₂₄	P ₃₄
5	P ₀₅	P ₁₅	P ₂₅	P ₃₅
6	P ₀₆	P ₁₆	P ₂₆	P ₃₆

Ket: n = 1,2,3,4,5,6

P_{0n} = Kontrol (dengan aquades) ulangan ke n

P_{1n} = Dosis 250 cc ulangan ke n

P_{2n} = Dosis 300 cc ulangan ke n

P_{3n} = Dosis 350 cc ulangan ke n

Untuk menentukan nomor petak perlakuan (daerah penempatan polybag) dilakukan dengan cara pengacakan yaitu menggunakan label bilangan teracak dengan cara mengundi (Gomes, 1995 dan Hanafiah, 2010) (Lampiran 1).

D. Cara Kerja

1. Di Laboratorium

a) Pembuatan Ekstrak Akar Alang-Alang

Ekstrak dibuat dengan perbandingan 1:10 antara simplisia dan aquades, Stok ekstrak yang akan digunakan adalah 5000 ml dalam empat perlakuan dan enam kali ulangan. Membuat ekstrak yaitu Simplisia yang sudah jadi di timbang sebanyak 100 gr dimasukkan kedalam gelas ukur yang kemudian di isi dengan aquades 1000 ml. kemudian gelas ukur ditutup dan dimasukkan ke dalam panci yang sudah berisi air. Panaskan pada suhu 90°C selama 30 menit terhitung setelah panci bagian bawah mulai mendidih setelah 30 menit gelas ukur dikeluarkan dan didinginkan di udara terbuka. Hasil dekok kemudian disaring menggunakan kertas saring, sehingga akhirnya didapatkan dekok akar alang-alang yang siap digunakan sebanyak 990 ml (Surya, 2012).

b) Ekstraksi *Meloidogyne spp.* dari akar

Akar tanaman yang terserang *Meloidogyne spp.* diambil, kemudian akar dibersihkan, Selanjutnya dipotong kecil-kecil kurang lebih 1 cm, diacak sampai tercampur rata. Akar selanjutnya diletakkan di atas saringan yang telah dilapisi kertas tisu diatas piring plastik dan diairi hingga akar tergenang. Setelah 24 jam, suspensi yang terdapat pada piring plastik dibuka dan ditampung pada gelas ukur. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop (Sukanaya, 1999 dalam Anto, 2002 “dalam” Wardhiany, 2014).

2. Di Lapangan

- a) Persiapan alat dan bahan serta tempat untuk pengaplikasian ekstrak pada tanaman tomat, mengamati perkembangan dan pertumbuhan nematoda puru akar serta tanaman tomat yang merupakan objek penelitian.
- b) Pembuatan bibit tanaman tomat lalu dilakukan penanaman bibit tomat ke polybag untuk penelitian.
- c) Menginfestasikan nematoda puru akar yang didapat dari hasil ekstraksi akar tomat yang terserang *Meloidogyne* spp ke tanaman tomat yang telah ditanam sebelumnya, yaitu 10 ekor/tanaman.
- d) Setelah satu minggu penginfestasian *Meloidogyne* spp lalu dilakukan pemberian ekstrak akar alang-alang ke tanaman tomat yang sudah terinfeksi nematoda, dimana stok ekstrak akar alang-alang sudah dipersiapkan sebanyak 5000 ml, lalu disiramkan dengan dosis 250 cc, 300 cc dan 350 cc yang dilakukan hanya satu kali selama penelitian.
- e) Pemeliharaan tanaman tomat hingga berumur dua bulan setelah tanam. Lalu dicabut untuk pengamatan populasi nematoda dalam akar serta mengamati morfologi tomat yang telah diberi perlakuan.
- f) Pengukuran intensitas penekanan atau Hambatan *Meloidogyne* spp untuk hidup menggunakan data hasil pengamatan populasi nematoda dalam 1 gr akar dengan perhitungan persentase penekanan dihitung dengan rumus :

$$\frac{n1-n2}{n1} \times 100\%$$

(Wardhiany, 2014)

Dimana : n_1 : Jumlah nematoda awal (infestasi awal)
 n_2 : Jumlah nematoda setelah mendapatkan perlakuan

Tabel 4. Tabulasi Data Hasil Pengamatan

Perlakuan (t)	Ulangan (r)						Jumlah (TA)	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
P ₀	Y ₁₀	Y ₂₀	Y ₃₀	Y ₄₀	Y ₅₀	Y ₆₀	TA ₀	
P ₁	Y ₁₁	Y ₂₁	Y ₃₁	Y ₄₁	Y ₅₁	Y ₆₁	TA ₁	
P ₂	Y ₁₂	Y ₂₂	Y ₃₂	Y ₄₂	Y ₅₂	Y ₆₂	TA ₂	
P ₃	Y ₁₃	Y ₂₃	Y ₃₃	Y ₄₃	Y ₅₃	Y ₆₃	TA ₃	
Jumlah (TU)	T_{i1}	T_{i2}	T_{i3}	T_{i4}	T_{i5}	T_{i6}	T_{ij}	

E. Analisis Data

1. Analisis Varian (ANOVA)

Data uji intensitas penekanan atau hambat dianalisis menggunakan ANOVA (uji F) untuk menguji adanya pengaruh atau perbedaan antar perlakuan variasi dosis dekok akar alang-alang terhadap pertumbuhan nematoda puru akar melalui rumus sebagai berikut (Hanafiah, 2010).

a) Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{rxt}$$

b) Jumlah Kuadrat Total (JKT)

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

c) Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

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

d) Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP$$

Hasil dari perhitungan tersebut disajikan ke dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 5. Analisis Sidik Ragam (Ansira) RAL

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 5%
Perlakuan	$t-1 = V1$	JKP	$JKP/V1 = KTP$	KTP/KTG	$F(V1, V2)$
Galat	$(rt-1)-(t-1)=V2$	JKG	$JKG/V2=KTG$		
Total	$Rt-1$	JKT			

KK = ...%

Sumber : (Hanafiah, 2010 dan Gomez, 1995)

e) Koefisien Keragaman (KK)

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

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

Keterangan :

SK = Sumber Keragaman

Y = Hasil Percobaan

DB = Derajat Bebas

i = ulangan ke i (1,2,3,.....,r)

JK = Jumlah Kuadrat

j = perlakuan ke j (0,1,2,.....,t)

KT = Kuadrat Tengah

r = ulangan

TA = Jumlah Perlakuan

t = perlakuan

Untuk menentukan persentase penekanan nematoda diantara perlakuan dilakukan dengan menggunakan Uji F, yaitu dengan membandingkan F hitung dengan F tabel dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Bila F hitung > F 5 % maka H_1 diterima pada taraf uji 5% artinya berbeda nyata = (*significant difference*). Hal ini ditunjukkan dengan menempatkan satu bintang (*) pada nilai F hitung dalam sidik ragam.

2. Bila $F \text{ hitung} \leq F_{5\%}$ maka H_0 diterima pada taraf 5% artinya tidak berbeda nyata = (*non significant difference*). Hal ini ditunjukkan dengan menempatkan tanda (^{tn}) pada nilai F hitung dalam sidik ragam.

2. Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND)

Setelah H_0 ditolak, maka selanjutnya ingin diketahui antar perlakuan (rata-rata) mana yang berbeda nyata, maka untuk mengetahui hal tersebut dalam hal ini dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan dengan menggunakan Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) dengan rumus:

$$BJND\alpha = P\alpha(p, v) \times \bar{sy} \quad (\text{Hanafiah, 2010})$$

Dimana : α	= Taraf nyata yang dikehendaki
$p\alpha$	= nilai p tabel pada taraf yang dikehendaki
v	= Derajat Bebas Galat
\bar{S}_y	= Standar eror