

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biosistemika dan Laboratorium Histologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga dan Pusat Penelitian Gula PT. Perkebunan Nusantara X (PERSERO) Penataran Jengkol, Kecamatan Plosoklaten, Kabupaten Kediri selama empat bulan, mulai bulan Januari sampai dengan bulan April 2012.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Bahan dan spesimen yang digunakan adalah larutan fiksatif FAA, etanol, xilol, parafin, entellan, pewarna safranin, pewarna *fast green*, dan varietas tanaman segar dari spesies *Saccharum officinarum*, yaitu PS 862, PS 881, PS 882, Bululawang, dan VMC 76-16. Spesimen tersebut didapatkan di Pusat Penelitian Gula PT. Perkebunan Nusantara X (PERSERO) Penataran Jengkol, Kecamatan Plosoklaten, Kabupaten Kediri.

3.2.2 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat yang digunakan pada saat di lapangan maupun alat-alat yang digunakan di dalam laboratorium. Alat-alat yang digunakan pada saat di lapangan diantaranya meteran gulung untuk mengukur spesimen, pisau untuk memotong spesimen, kantong

plastik untuk tempat menampung spesimen, baskom untuk tempat spesimen, penggaris untuk mengukur spesimen, botol vial untuk tempat spesimen yang diawetkan, *sling psychometer* untuk mengukur kelembaban udara, dan pH meter (*soil tester*) untuk mengukur pH tanah. Sedangkan alat-alat yang digunakan di dalam laboratorium meliputi alat-alat untuk membuat preparat melintang daun tebu dengan metode parafin seperti *vacuum pump*, *paraffin bath*, *rotary microtome*, *oven*, dan pembakar *Bunsen*, serta alat-alat untuk mengamati anatomi spesimen daun seperti pipet, mikroskop cahaya, gelas objek, gelas penutup, kertas tisu, dan silet. Untuk mengukur pH nira tebu digunakan *pH paper*. Sedangkan untuk mendokumentasikan spesimen yang dikumpulkan digunakan kamera digital.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Definisi operasional

Dalam penelitian ini yang dimaksud dengan morfologi, yaitu meliputi morfologi luar dan morfologi dalam (anatomi). Sedangkan yang dimaksud dengan hubungan kekerabatan, yaitu merupakan hubungan kedekatan berdasarkan persamaan ciri-ciri/ karakter yang dimiliki bersama.

3.3.2 Tahap-tahap prosedur penelitian

Penelitian yang dikerjakan merupakan penelitian deskriptif dan secara umum terbagi menjadi tahap persiapan penelitian, pengambilan atau pengumpulan spesimen, pendataan karakter, dan pengolahan data. Adapun prosedur yang dilakukan pada setiap tahap akan diuraikan sebagai berikut.

3.3.2.1 Persiapan penelitian

Persiapan penelitian meliputi penentuan spesimen yang diteliti, koordinasi lokasi sampling, dan persiapan alat-alat yang dibutuhkan untuk pengambilan spesimen.

3.3.2.2 Pengumpulan spesimen

Pengumpulan spesimen dilakukan dengan mengambil sampel spesimen berupa bagian batang dan daun di lokasi sampling, yaitu di kebun tebu milik Pusat Penelitian Gula PT. Perkebunan Nusantara X (PERSERO) Penataran Jengkol, Kecamatan Plosoklaten, Kabupaten Kediri.

3.3.2.3 Pendataan karakter

Pendataan karakter dilakukan berdasarkan pengamatan spesimen baik yang dilakukan secara langsung di lokasi asal spesimen maupun yang dilakukan di laboratorium. Dari hasil pengamatan tersebut kemudian didata karakter-karakter morfologi serta keterangan lainnya sesuai dengan parameter yang diperlukan.

3.3.2.4 Parameter yang Diamati

3.3.2.4.1 Karakter morfologi eksternal

Pada penelitian karakter dan karakteristik morfologi eksternal, parameter yang diamati adalah sebagai berikut.

- a. Perawakan, meliputi habitus, tinggi tanaman, dan jumlah daun yang hijau.
- b. Batang, meliputi permukaan batang, warna batang dominan, jumlah warna batang, arah tumbuh batang, lapisan lilin, pengaruh lapisan lilin terhadap warna batang, kedudukan nodus, letak mata tunas, bentuk mata tunas,

permukaan internodus di atas mata, rambut jambul, lebar cincin tumbuh, panjang ruas antarnodus, warna batang bagian dalam yang dikuliti, kekerasan batang, lubang pada teras batang, panjang lingkaran batang, kemanisan nira, pH nira, kecepatan penurunan pH nira, dan ketahanan mata tunas dalam kondisi kering.

- c. Daun, meliputi warna permukaan atas daun, warna permukaan bawah daun, bangun daun, panjang maksimum daun, lebar maksimum daun, ujung daun, tepi daun, pangkal daun, titik lengkung daun dari pangkal, kedudukan telinga daun, susunan tulang daun, jarak antar tulang daun, fine hair, dan ukuran ligula.
- d. Nira tebu, meliputi tingkat kemanisan nira (berdasarkan *survey* terhadap 5 responden), dan perubahan pH nira (berdasarkan pengukuran terhadap nira tebu setelah didiamkan 12 jam dengan menggunakan pH *paper*).

3.3.2.4.2 Karakter morfologi internal (anatomi)

Pada penelitian karakter dan karakteristik morfologi internal (anatomi), parameter yang diamati berasal dari organ daun, meliputi tebal kutikula, ukuran stomata, tipe stomata, kerapatan stomata, tebal epidermis adaksial, tebal epidermis abaksial, panjang sel penjaga, lebar sel penjaga, bentuk trikoma, ukuran trikoma, kekuatan trikoma, sifat trikoma, variasi sel buliform, dan tebal lamina.

3.4 Cara Kerja Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara mengambil masing-masing tiga sampel untuk setiap varietas yang diamati. Setiap sampel diambil dari tiga tanaman yang berbeda, baik untuk sampel morfologi eksternal maupun sampel

morfologi internal (anatomi). Secara spesifik cara pengambilan sampel bergantung kepada sifat karakter yang akan didata. Cara kerja untuk masing-masing sampel dan pendataan karakter dijelaskan sebagai berikut.

3.4.1. Sampel morfologi eksternal

Data karakter morfologi eksternal diambil secara langsung dari kebun tebu milik Pusat Penelitian Gula PT. Perkebunan Nusantara X (PERSERO) Penataran Jengkol, Kecamatan Plosoklaten, Kabupaten Kediri melalui pengamatan dan pengukuran. Untuk satu varietas, karakter perawakan, batang, dan daun diambil dari tiga tanaman yang berbeda. Setiap karakter diambil dengan tata cara yang berbeda.

- a. Batang, dipilih ruas ke 6-8 dari pangkal.
- b. Daun, dipilih dengan posisi daun antara ke 3-5 dari setiap tanaman.
- c. Trikoma, didapatkan dengan mengambil bagian tepi daun.

3.4.2. Sampel morfologi internal (anatomi)

1. Menyiapkan masing-masing tiga botol vial untuk setiap sampel yang telah ditentukan.
2. Mengisi setiap botol dengan larutan fiksatif FAA sampai setengah volume botol.
3. Sampel jaringan tumbuhan diambil sesuai dengan tujuan pengambilan dan sifat karakter yang didata. Untuk karakter morfologi internal (anatomi) daun yang meliputi tebal kutikula, tebal epidermis adaksial, tebal abaksial, dan tebal lamina, diambil potongan daun berukuran $\pm 1,5$ cm (untuk irisan melintang). Untuk karakter bentuk trikoma dan ukuran trikoma didapatkan

dengan cara mengambil 2-3 cm bagian tepi daun. Sementara ukuran stomata, tipe stomata, panjang sel penjaga, lebar sel penjaga, dan variasi sel buliform diperoleh dengan cara mengelupas epidermis bagian adaksial daun (untuk irisan paradermal). Kemudian sampel-sampel tersebut langsung difiksasi di dalam botol vial yang sudah disiapkan.

3.5 Analisis data

3.5.1 Analisis data metode fenetik

1. Data hasil identifikasi karakter sampel (perawakan, batang, dan daun) yang diperoleh disusun dalam matriks Satuan Taksonomi Operasional (STO) vs. karakter. Satuan Taksonomi Operasional (STO) dinyatakan dalam spesies dari sampel yang dilihat dan karakter yang dinyatakan sebagai data *biner* (1 = ada dan 0 = tidak ada) dan *multivariate* yang diperoleh pada setiap sampel yang digunakan.
2. Setelah melakukan *scoring*, data dimasukkan dalam program SPSS. Hal ini bertujuan untuk menentukan indeks kesamaan (*IS*) (STO vs STO) dengan menggunakan jarak taksonomi. Nilai jarak taksonomi ini digunakan untuk melihat kehadiran dan ketidakhadiran suatu karakter dalam pengelompokan.
3. Matrik kesamaan tersebut dibuat fenogram dengan analisis gugus *simple matching* untuk melihat pengelompokan secara hierarkis.
4. Hasil pengelompokan analisis gugus kemudian dikonfirmasi ulang dengan menggunakan analisis komponen utama (PCA).
5. Analisis komponen utama juga digunakan untuk mengetahui bobot nilai setiap karakter dalam pemisahan STO.

6. Semua perhitungan dilakukan dengan program SPSS 16.00.

3.5.2 Analisis data metode deskriptif

Data morfologi eksternal dan internal yang diperoleh dianalisis secara deskriptif analitik, diagnostik, dan diagnostik diferensial. Deskripsi analitik berisi semua sifat atau karakter alamiah organisme (*character naturalis*), deskripsi diagnostik berisi karakter yang penting saja (*character essentialis*) yaitu karakter sebagai tanda pengenal khas, sementara deskripsi diagnostik diferensial berisi karakteristik pembeda antara varietas *Saccharum officinarum* satu dengan yang lainnya dengan menyebutkan varietas yang dibandingkan.

