

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian dasar dengan metode deskriptif, untuk mengetahui perkembangan evolusi tumbuhan Cryptogamae berdasarkan karakter morfologi. Untuk mendapatkan sampel secara lengkap desain penelitian yang dipakai berupa dokumentasi dan survei (koleksi lapangan). Untuk dokumentasi adalah perolehan sampel dari koleksi herbarium baik itu basah maupun kering dan preparat mikroskopis. Survei (koleksi lapangan) adalah pengambilan sampel secara langsung ke lapangan berupa bahan (spesimen) segar.

#### B. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh divisi dari kelompok tumbuhan Cryptogamae. Adapun sampel tumbuhan Cryptogamae yang dijadikan bahan penelitian terdiri dari *Representative taxa* dengan jumlah spesies 31 taksa in group kelompok Cryptogamae dan 1 taksa outgroup dengan total divisi 15 divisi. Sampel berupa spesimen segar dan spesimen awetan berupa herbarium basah atau kering dan preparat mikroskopis.

Spesimen segar kelompok tumbuhan Bryophyta dan Pteridophyta didapatkan dari kawasan Hutan Jaya Giri kota Lembang Kabupaten Bandung Barat, spesimen segar kelompok tumbuhan alga makroskopis didapatkan dari kawasan Pantai Sindang Kerta dan Sayang Heulang Garut Jawa Barat. Spesimen mikroskopis yang berasal dari koleksi Laboratorium Struktur Tumbuhan Jurusan Pendidikan

Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia (UPI) Bandung. Adapun spesimen yang terpilih sebagai sampel penelitian terdapat pada Tabel 3.1 berikut :

**Tabel 3. 1** Daftar Spesimen Tumbuhan Cryptogamae yang Diobservasi Menurut Sistem Vashista (1980)

No.	Divisi Tumbuhan	Spesies Tumbuhan
1	Cyanophyta	<i>Anabaena sp, Rivularia sp</i>
2.	Chlorophyta	<i>Spirogyra sp, Chlorella sp</i>
3.	Bacillariophyta	<i>Pinnularia sp, Melosira sp</i>
4.	Xanthophyta	<i>Vaucheria sessilis, Vaucheria sp</i>
5.	Rhodophyta	<i>Gracilaria sp, Euchema sp</i>
6.	Phaeophyta	<i>Sargassum sp, Turbinaria sp</i>
7.	Bryophyta	<i>Polytrichum sp, Marchantia sp, Anthoceros sp</i>
8.	Psilophyta	<i>Psilotum sp, Psilotum nudum</i>
9.	Calamophyta	<i>Equisetum sp, Equisetum debile</i>
10.	Lepidophyta	<i>Selaginella sp, Lycopodium sp</i>
11.	Pterophyta	<i>Pteris sp, Alsophylla sp</i>
12.	Euglenophyta	<i>Euglena sp, Euglena viridis</i>
13.	Eumycophyta	<i>Saccharomyces sp, Aspergillus sp, Volvariella sp</i>
14.	Charophyta	<i>Chara sp, Nitella sp</i>
15	Eubakteria (outgroup of Cryptogamae)	<i>Eschericia coli</i>

Keterangan : Untuk Divisi Eumycophyta dan Bryophyta terdiri 3 spesies sebagai perwakilan tiap kelompok.

### C. Pelaksanaan dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan April 2010 hingga bulan September 2010 di beberapa tempat yaitu di Laboratorium Struktur Tumbuhan Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia (UPI) Bandung, Hutan Jaya Giri Kawasan Gunung Tangkuban Perahu Lembang Kabupaten Bandung Barat serta tempat lainnya yang mewakili sampel. Pelaksanaan penelitian secara bertahap diamati dahulu setiap divisi dari sampel yang didapat.

### D. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian tersedia dalam Tabel 3.2.

**Tabel 3. 2** Daftar Alat yang digunakan

No.	Nama Alat	Kegunaan
1.	Pisau	Memotong organ tumbuhan yang diamati
2.	Kamera digital	Mendokumentasikan hasil penelitian
3.	Mikroskop cahaya	Mengamati sampel mikroskopis
4.	Trash bag	Menampung sampel yang dibawa dari lapangan
5.	Tromol	Menyimpan sampel sementara agar tetap segar hingga dibawa ke Laboratorium
6.	Tabel Skoring	Tabel yang berisikan karakter morfologi yang akan diamati
7.	Papan Jalan	Alas menulis saat observasi dilapangan
8.	Kertas Label	Memberi identitas sampel
9.	Loupe	Alat bantu pengamatan sampel yang kecil

## 2. Bahan

Bahan yang di perlukan adalah seluruh organ vegetatif dan generatif atau tubuh tumbuhan sampel dari tiap divisi pada kelompok tumbuhan Cryptogamae. Bahan terdiri dari jenis mikroskopis (preparat awetan), maupun makroskopis tergantung divisinya. Dari setiap tingkatan takson yang berbeda diambil spesies perwakilan sebanyak dua buah (*familiar representative species*). Diambil bahan yang mudah didapat, dan representatif. Seperti yang terlihat pada (Tabel 3.1) halaman sebelumnya.

## E. Cara Kerja

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu tahap persiapan, pengambilan sampel, dan observasi morfologi dengan ditambah studi pustaka.

### 1. Persiapan awal

Persiapan yang dilakukan meliputi pembuatan proposal penelitian, kegiatan survei ke lapangan untuk penentuan lokasi pengambilan sampel dan mengetahui sampel yang akan dicuplik, membuat surat perijinan dan menyiapkan alat-alat yang mendukung penelitian.

### 2. Pengambilan sampel Tumbuhan

Pengambilan sampel divisi Pterophyta dan Bryophyta dilakukan di daerah Lembang. Tepatnya kawasan Hutan Jaya Giri Lembang Kabupaten Bandung, serta tempat lainnya yang mewakili. Untuk sampel kelompok Algae makroskopis dilakukan di daerah Pantai Sayang Heulang Garut Jawa Barat. Sampel yang diambil adalah seluruh organ baik itu vegetatif maupun generatif. Setiap divisi

masing-masing memiliki dua sampel atau lebih yang mewakili sesuai dengan tingkatan takson pembedanya.

### 3. Observasi Morfologi dan Studi Pustaka

Untuk mempermudah pengamatan saat kegiatan observasi digunakan tabel skoring. Tabel tersebut berisi karakter-karakter morfologi dengan bobot setiap karakter. Total Karakter yang diamati berjumlah 50 karakter. Pemilihan karakter sebagian besar mengacu pada buku panduan Karakterisasi dan Evaluasi Cryptogamae yang diterbitkan oleh Botanical Society LIPI Bogor serta karakter yang terdapat pada buku panduan karakterisasi dan determinasi Vashista (1998). Karakter yang digunakan merupakan *Multi State* karakter dengan nilai skor angka 0,1, dan 2.

Angka 0 merupakan nilai skoring yang paling rendah (karakter primitif), angka 1 bernilai sedang atau pertengahan atau rendah sedangkan nilai 2 merupakan nilai paling tinggi pada skoring menunjukkan karakter kemajuan. Karakter-karakter morfologi yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada (Tabel 3.3). Setelah itu observasi dilakukan dengan bantuan berbagai sumber pustaka (kajian teoritis) untuk mencocokkan antara data hasil pengamatan dengan jurnal ataupun hasil penelitian ilmiah peneliti yang berhubungan dengan evolusi morfologi tumbuhan Cryptogamae.

**Tabel 3.3.** Karakter-karakter Morfologi yang Diobservasi

No.	Objek bagian pengamatan	Karakter Utama	Skoring dan karakter skoring	Keterangan
1	S	Jumlah sel*	0 = uniseluler 1 = multiseluler	Diamati pada setiap divisi
2		Jumlah inti sel*	0 = satu inti 1 = > 1 inti sel	Diamati pada setiap divisi
3		Bentuk tubuh*	0 = serupa thallus 1 = serupa kormus	Diamati pada bagian tubuh
4		Struktur tubuh*	0 = lunak / rapuh 1 = rigid / keras	Diamati setiap divisi pada bagian tubuh
5	D	Kelamin tumbuhan	0 = monoecius 1 = dioecius	Diamati pada bagian tubuh
6		Simetri tumbuhan	0 = bilateral 1 = radial (banyak)	Diamati pada bagian tubuh
7	A	Jenis Kelamin	0 = biseksual 1 = uniseksual	Diamati pada bagian tubuh
8		Bentuk hidup*	0 = soliter (bebas) 1 = koloni	Diamati pada saat mencuplik sampel
9	H	Habitat tumbuhan*	0 = akuatik 1 = terrestrial (darat)	Diamati pada saat pengambilan sampel
10		Cara hidup habitat (penyerapan nutrisi)	0 = epifit/heterotrof 1 = tidak epifit/autotrof	Diamati pada saat pengambilan sampel
11	B	Pigmen warna /kromatofora	0 = tidak berpigmen 1 = berpigmen	Diamati setiap divisi bagian tubuh (Visual)
12		Pigmen Fukosantin* (coklat)	0 = tidak ada 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh (Visual)
13	T	Pigmen Fikoeritrin* (merah)	0 = tidak ada 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh (Visual)

Lanjutan tabel 3.3

14	A	Kloroplas bentuk khusus*	0 = tidak ada 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh (Visual)
15	T	Pigmen Fikosianin* (biru)	0 = tidak ada 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh (Visual)
16	T	Bentuk thallus*	0 = bulat / batang 1 = filamen 2 = silindris	Diamati setiap divisi bagian tubuh
17	H	Jenis thallus*	0 = isospora 1 = homospora 2 = heterospora	Diamati setiap divisi bagian tubuh (thallus)
18	A	Struktur thallus / batang*	0 = tidak bersekat 1 = bersekat / berbuku-buku	Diamati setiap divisi bagian tubuh (thallus)
19	L	Permukaan thallus / batang	0 = halus 1 = kasar	Diamati setiap divisi bagian tubuh (thallus)
20	L	Percabangan thallus*	0 = tidak bercabang 1 = bercabang – cabang	Diamati setiap divisi bagian tubuh (thallus)
21	U	Jenis percabangan thallus*	0 = tidak bercabang 1 = dikotom 2 = tidak dikotom	Diamati setiap divisi bagian tubuh (thallus)
22	S	Arah tumbuh thallus*	0 = horizontal / datar 1 = vertikal / tegak	Diamati setiap divisi bagian tubuh (thallus)
23	D	Ada tidaknya daun*	0 = tidak ada daun 1 = filoid (daun semu) 2 = daun	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)
24	A	Jenis daun*	0 = absen 1 = tunggal 2 = majemuk	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)
25	U	Bentuk daun	0 = absen /tidak berbentuk 1 = memiliki bentuk	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)
26	N	Lebar nya daun	0 = absen 1 = berdaun tidak lebar 2 = berdaun lebar	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)

Lanjutan tabel 3.3

27	D A U N B A T A N G	Filotaksis daun*	0 = tidak ada 1 = spiral 2 = tidak spiral	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)
28		Susunan daun*	0 = absen 1 = menyayap 2 = tidak menyayap	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)
29		Pola pertulangan daun*	0 = belum berpola/ absen 1 = sudah berpola	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)
30		Daun berpembuluh*	0 = tidak berpembuluh 1 = berpembuluh	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun) di mikroskop
31		Keberadaan ala	0 = absen 1 = ala 2 = daun	Diamati setiap divisi bagian tubuh (daun)
32		Keseragaman daun*	0 = absen 1 = homofil (sama) 2 = heterofil	Diamati setiap divisi bagian tubuh
33	B A T A N G	Sifat batang utama*	0 = absen 1 = tidak berkayu 2 = berkayu	Diamati setiap divisi bagian tubuh (batang)
34		Rongga batang*	0 = absen 1 = tak berongga 2 = berongga	Diamati setiap divisi bagian tubuh disayat (batang)
35		Posisi batang	0 = absen 1 = basalis 2 = tidak basalis	Diamati setiap divisi bagian tubuh (batang)
36		Bentuk batang utama*	0 = absen 1 = tidak silindris 2 = silindris	Diamati setiap divisi bagian tubuh (batang)
37	R H I	Keberadaan rhizoid / Akar	0 = tidak ada rhizoid 1 = ada rhizoid	Diamati setiap divisi bagian tubuh (rhizoid)
38		Kekompleksan rhizoid	0 = absen 1 = sederhana 2 = kompleks	Diamati setiap divisi bagian tubuh (rhizoid)



Lanjutan tabel 3.3

39	Z O I D	Percabangan rhizoid*	0 = absen 1 = tidak bercabang 2 = bercabang-cabang	Diamati setiap divisi bagian tubuh (rhizoid)
40	A L A T R E P R O D U K S I	Anteridium* (Spermatogonium)	0 = tidak ada 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
41		Arkegonium* (Oogonium)	0 = tidak ada 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
42		Strobilus*	0 = absen 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh
43		Sporofit	0 = absen 1 = berligula 2 = aligulopsida (tanpa - ligula)	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
44		Dominansi sporofit*	0 = dominan 1 = tidak dominan	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
45		Keberadaan sporangium	0 = tidak ditemukan 1 = ada	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
46		Keadaan sporangium	0 = sendiri / berpisah 1 = mengumpul	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
47		Keterbukaan sporangium	0 = terbuka 1 = tertutup	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
48		Posisi sporangium atau sorus*	0 = absen 1 = tepi daun 2 = bawah daun	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)
49	Perkembangan zigot*	0 = dari zigospora 1 = dari embrio	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)	
50	Dominansi siklus hidup (mutagenesis)	0 = gametofit 1 = sporofit	Diamati setiap divisi bagian tubuh (organ reproduksi)	

Keterangan : (\*) Karakter-karakter yang mengacu kepada buku Panduan Karakterisasi dan Determinasi Tumbuhan Cryptogamae (Vashista *et al.*, 1998 , 35-37). Nilai skoring 1-2 = karakter lebih maju, 0 = karakter primitif.

#### 4. Analisis Data

Data yang berupa bobot dari setiap karakter diolah dengan menggunakan program komputer PAUP (*Phylogenetic Analysis Using Parsimony*) versi 4.0b10. Sehingga diperoleh hubungan kekerabatan berupa pohon filogenetika dengan tingkat atau presentasi yang berbeda-beda sebagai hasil dan interpretasi hasilnya. Pada konstruksi pohon filogenetika ini dilakukan dengan seratus kali ulangan untuk mendapatkan pohon filogenetika yang paling optimal, sebagai pembanding untuk melakukan konstruksi pohon filogenetika digunakan outgroup 1 taksa yang merupakan sister group dari Cryptogamae yang diwakili oleh kelompok bakteri (Eubakteria).

Langkah-langkah dalam melakukan analisis filogenetik dan merekonstruksi pohon filogenetik adalah dapat kita rinci sebagai berikut :

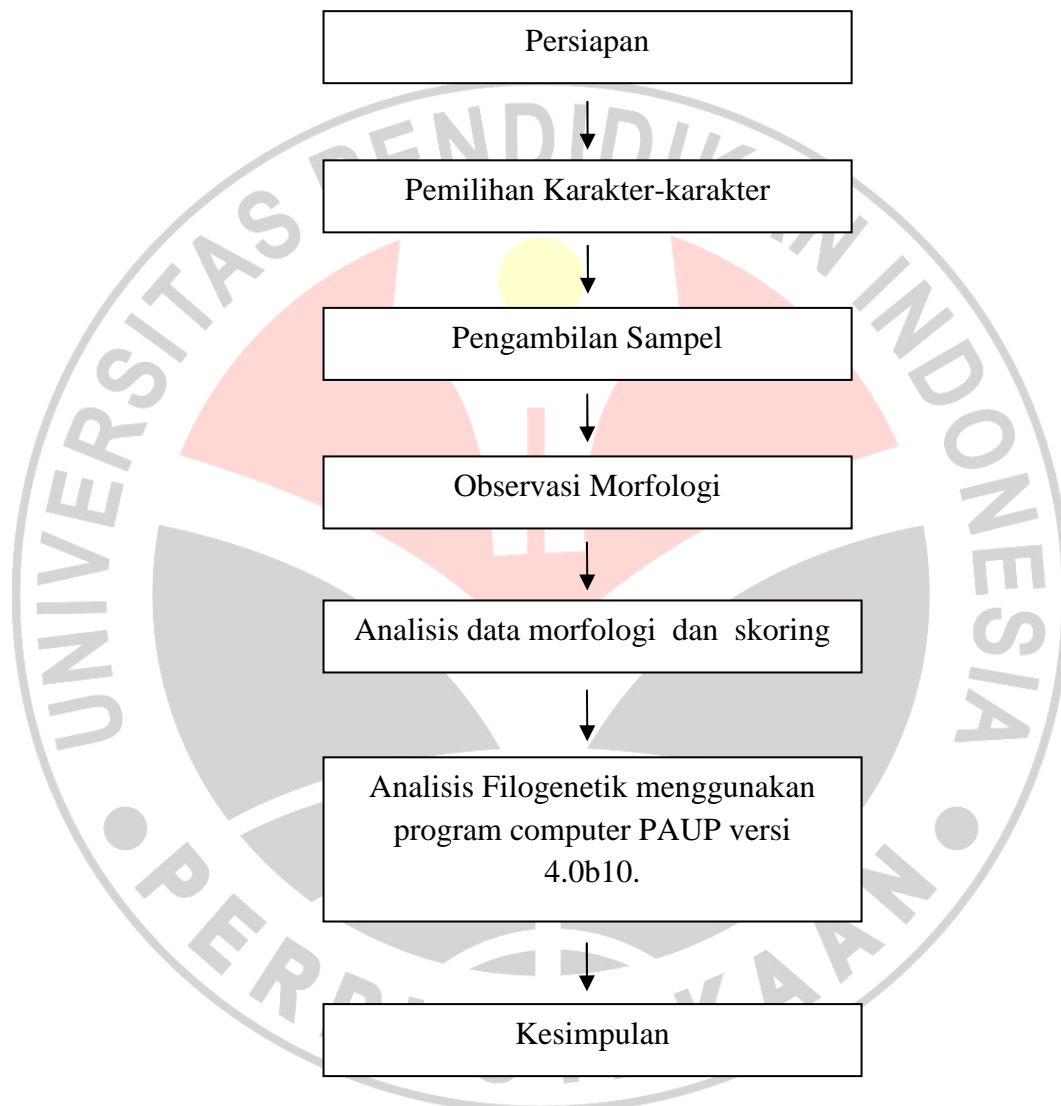
- a. Setelah dilakukan observasi morfologi langsung dan dilakukan skoring didapat matriks skoring dari tiap karakter.
- b. Dibuat dan dipindahkan matriks data yang didapatkan kedalam program **PAUP** dalam bentuk **NEXUS.files** sehingga berupa matriks data hasil penelitian.
- c. Save data tersebut. Usahakan data dalam posisi yang benar dan tidak terdapat kesalahan dalam memasukan matriks skoring, sesuai dengan urutan dan karakter yang diamati.

- d. Buka program **PAUP**. Jika membuka file yang telah disave, klik **file**, kemudian klik kembali **open**. Pilih **edit** (optional) hasil dari matriks data skoring dalam **NEXUS.files**, pilih **execute**.
- e. Untuk menentukan karakter pilih **exclude 1** (karakter no 1 tidak dilibatkan dalam analisis), Ketik **include 1** (karakter no 1 dilibatkan dalam analisis).
- f. Ketik **delete takson1** (takson 1 tidak dilibatkan dalam analisis), ketik **undelete takson 1** (takson 1 dilibatkan dalam analisis).
- g. Ketik **cstatus** (untuk cek status karakter).
- h. Untuk merekonstruksi Pohon Filogenetik maka langkah yang ditempuh adalah Ketik **outgroup takson1 takson2** (takson 1 dan 2 menjadi outgroup).
- i. Ketik **hsearch ?** (untuk cek set heuristic search). Bila ingin mengubah set parsimoni, contoh ketik **hsearch addseq=random nreps=100 multrees=yes** (meubah addition sequences menjadi random dengan 100 replikasi dan lebih dari 1 pohon akan di-save).
- j. Selanjutnya untuk memunculkan pohon klik Ketik **showtrees** (1 pohon filogenetik akan tampil) . Ketik **savetrees nama file** (semua pohon akan di-save).
- k. Untuk menyimpan pohon konsensus dan pohon hasil bootstrap tekan **Alt+PrtSc** ketika layar menampilkan pohon tersebut.

- l. Atau bisa disimpan dalam bentuk display buffer dengan cara: klik **Edit** klik **display buffer** klik **File** klik **Save As**.
- m. Catatan: Ketik **help command** (untuk melihat kode-kode perintah).
- n. Untuk membuka pohon yang telah di dapatkan kita buka di software lain yaitu **Treeview** (Treev32).
- o. Setelah programnya terinstal caranya kita buka klik icon **treeview** kemudian klik **open** file nexus hasil show trees
- p. Jika ada outgroup pilih klik **tree** pilih **define outgroup**.
- q. Klik takson yang dijadikan outgroup pada display tekan **ok**.
- r. Klik **tree** kembali pilih **root with outgroup**. Lakukan sebanyak 100 kali ulangan untuk mendapatkan pohon filogenetik yang representatif dan pilih tampilan yang terbaik.

## F. Alur penelitian

Alur kegiatan dari penelitian ini adalah dibagi menjadi beberapa tahap secara jelasnya sebagai berikut :



**Gambar 3.1.** Alur Penelitian