

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian dasar dengan metode deskriptif. Penelitian dengan metode deskriptif merupakan metode penelitian yang berusaha menggambarkan dan menginterpretasikan objek secara apa adanya tanpa adanya kontrol dan manipulasi variabel penelitian. Sehingga dapat dikatakan bahwa penelitian deskriptif adalah penelitian non eksperimen.

#### **B. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh spesies dari genus *Phalaenopsis*, adapun sampelnya adalah tujuh spesies dari genus *Phalaenopsis* (Tabel 3.1) sebagai *ingroup* yang diperoleh dari daerah Bandung dan sekitarnya. Sebagai *outgroup* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vanda tricolor* yang ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa spesies tersebut merupakan *sistergroup* dengan genus *Phalaenopsis* (Topik *et al.*, 2006).

**Tabel 3.1.** Sampel Tumbuhan yang Digunakan

<b>No.</b>	<b>Spesies</b>	<b>Keterangan</b>
1.	<i>Phalaenopsis amabilis</i>	<i>Ingroup</i>
2.	<i>Phalaenopsis bellina</i>	<i>Ingroup</i>
3.	<i>Phalaenopsis corningiana</i>	<i>Ingroup</i>
4.	<i>Phalaenopsis cornu-cervi</i>	<i>Ingroup</i>
5.	<i>Phalaenopsis inscriptiosinensis</i>	<i>Ingroup</i>
6.	<i>Phalaenopsis schilleriana</i>	<i>Ingroup</i>
7.	<i>Phalaenopsis viridis</i>	<i>Ingroup</i>
8.	<i>Vanda tricolor</i>	<i>Outgroup</i>

### **C. Pelaksanaan dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Februari hingga bulan Maret 2011 di Laboratorium Struktur Hewan Universitas Pendidikan Indonesia (UPI) Bandung karena tersedianya alat yang digunakan dalam penelitian yaitu mikroskop stereo terdapat pada laboratorium tersebut.

## D. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.2.

**Tabel 3.2.** Alat yang Digunakan

No.	Nama Alat	Kegunaan
1.	Silet	Memotong sampel tumbuhan
2.	Plastik Klip	Menyimpan sampel tumbuhan
3.	Kertas Label	Memberi identitas sampel
4.	Jarum Pentul	Mencuplik pollinaria
5.	Mikroskop Stereo	Mengamati pollinaria
6.	Penggaris	Mengukur sampel
7.	Tabel Skoring	Tabel yang berisikan karakter morfologi yang akan diamati
8.	Kamera Digital	Mendokumentasikan hasil penelitian

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ bunga dan pollinaria dari tujuh genus *Phalaenopsis* dan satu spesies *outgroup*. Seperti yang dapat terlihat pada Tabel 3.1.

## E. Cara Kerja

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

### 1. Persiapan Awal

Persiapan yang dilakukan meliputi pembuatan proposal penelitian, kegiatan survei ke lapangan untuk mencari lokasi pengambilan sampel bunga dan

mengetahui sampel yang akan dicuplik, dan menyiapkan alat-alat yang mendukung penelitian.

## **2. Identifikasi Tumbuhan**

Identifikasi tumbuhan dilakukan sesuai dengan buku sumber yaitu buku *Phalaenopsis Spesies*, penulis Rizal Djaafarer (2002) dan buku *Native Orchid of Indonesia*, penulis Frangkie Handoyo & Ramadani Prasetya (2006).

## **3. Pengambilan Sampel Tumbuhan**

Tumbuhan diambil dari beberapa tempat di daerah Bandung dan sekitarnya. Bagian dari tumbuhan yang diambil adalah bagian bunga yang kemudian disimpan di plastik klip agar tidak mudah layu dan sampel tidak rusak, pollinia yang telah diambil dari bagian column bunga disimpan dalam botol film agar tidak rusak.

## **4. 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 31 karakter. Untuk karakter morfologi bunga didapatkan dari Pedoman Karakterisasi Tanaman Hias Anggrek (Balai Penelitian Tanaman Hias., 2007) dengan jumlah karakter yang diamati adalah 35 karakter dimana enam karakter diamati dengan menggunakan mikroskop stereo yaitu karakter penampang melintang labellum, bentuk keping sisi labellum, tipe kurvatur keping sisi, corak warna keping sisi, tipe *callus* pada labellum, dan letak lekuk labellum, sedangkan untuk morfologi pollinaria diperoleh dari literature jurnal *Evolutionary Analysis of Pollinaria Morphology of*

*Subtribe Aeridinae (Orchidaceae)* (Topik *et al.*, 2006) dengan jumlah karakter yang diamati adalah empat karakter yang diamati dengan mikroskop stereo.

Karakter yang digunakan merupakan *Multi State* karakter dengan nilai skor angka 0,1, 2, dan 3. Angka 0 merupakan nilai skoring yang paling rendah (karakter primitif), angka 1 bernilai sedang atau pertengahan atau rendah sedangkan nilai 2-3 merupakan nilai paling tinggi pada skoring menunjukkan karakter kemajuan. Karakter-karakter morfologi yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada (Tabel 3.3 dan Tabel 3.4).

**Tabel 3.3.** Karakter Morfologi Bunga Anggrek

No.	Karakter Morfologi Bunga	Skoring	Keterangan
1.	Ketegakkan tangkai bunga	0 = Horizontal 1 = Tegak 2 = Agak Tegak 3 = Menggantung	Diamati tingkat ketegakkan tangkai bunga.
2.	Bentuk bunga	0 = Keriting 1 = Bintang 2 = Bulat	Diamati bentuk bunga secara umum.
3.	Arah hadap bunga	0 = Segala arah 1 = Dua arah 2 = Satu arah	Diamati arah bunganya.
4.	Aroma bunga	0 = Ada 1 = Tidak ada`	Dengan menggunakan indera penciuman.

No.	Karakter Morfologi Bunga	Skoring	Keterangan
5.	Lebar bunga	0 = < 4,5 cm 1 = > 4,5 cm	Dihitung dari bagian terlebar bunga.
6.	Panjang bunga	0 = > 4,6 cm 1 = < 4,6 cm	Dihitung dari ujung sepal dorsal sampai ujung labellum atau sepal lateral.
No.	Karakter Morfologi Sepal dan Petal	Skoring	Keterangan
7.	Bentuk sepal dorsal	0 = <i>Spathulate</i> 1 = <i>Oblong</i> 2 = <i>Elliptic</i>	Diamati bentuk sepal dorsal dari pangkal hingga bagian ujung sepal.
8.	Bentuk ujung sepal dorsal	0 = <i>Apiculate</i> 1 = <i>Acute</i> 2 = <i>Mucronate</i> 3 = <i>Obtusus</i>	Diamati pada bagian ujung sepal baik dari permukaan atas maupun permukaan bawah.
9.	Panjang sepal dorsal	0 = > 2,5 cm 1 = ≤ 2,5 cm	Diukur dari bagian pangkal sampai ujung sepal dorsal.
10.	Lebar sepal dorsal	0 = > 1,3 cm 1 = < 1,3 cm	Diukur dari bagian terlebar pada sepal dorsal.
11.	Corak warna sepal dorsal	0 = Berbintik 1 = Bercorak 2 = Polos	Diamati tipe corak pada sepal.

No.	Karakter Morfologi Sepal dan Petal	Skoring	Keterangan
12.	Bentuk sepal lateral	0 = <i>Spathulate</i> 1 = <i>Elliptic</i> 2 = Asimetris	Diamati bentuk sepal lateral dari pangkal hingga bagian ujung sepal.
13.	Bentuk ujung sepal lateral	0 = <i>Obtusius</i> 1 = <i>Acute</i> 2 = <i>Acuminate</i> 3 = <i>Mucronate</i>	Diamati pada bagian ujung sepal baik dari permukaan atas maupun permukaan bawah.
14.	Panjang sepal lateral	0 = > 2,5 cm 1 = < 2,5 cm	Diukur dari bagian pangkal sampai ujung sepal lateral.
15.	Lebar sepal lateral	0 = > 1,3 cm 1 = < 1,3 cm	Diukur dari bagian terlebar pada sepal lateral.
16.	Corak warna sepal lateral	0 = Berbintik 1 = Bercorak 2 = Polos	Diamati tipe corak pada sepal.
17.	Penampang melintang sepal dorsal	0 = Cembung 1 = Cekung	Diamati dengan melihat bagian melintang dari sepal dorsal
18.	Bentuk petal	0 = <i>Spathulate</i> 1 = <i>Elliptic</i> 2 = <i>Oblong</i>	Diamati bentuk petal dari pangkal hingga bagian ujung petal.

No.	Karakter Morfologi Sepal dan Petal	Skoring	Keterangan
19.	Bentuk ujung petal	0 = <i>Obtusus</i> 1 = <i>Acute</i> 2 = <i>Acuminate</i> 3 = <i>Mucronate</i>	Diamati pada bagian ujung petal baik dari permukaan atas maupun permukaan bawah.
20.	Panjang petal	0 = > 2,2 cm 1 = ≤ 2,2 cm	Diukur dari bagian pangkal sampai ujung petal.
21.	Lebar petal	0 = > 1,5 cm 1 = < 1,5 cm	Diukur dari bagian terlebar pada petal.
22.	Corak warna petal	0 = Berbintik 1 = Berbintik & Bercorak 2 = Bercorak 3 = Polos	Diamati tipe corak pada petal.
23.	Jumlah warna petal	0 = Dua 1 = Satu 2 = Tiga	Dihitung berdasarkan jumlah warna yang terdapat pada petal.
No.	Karakter Morfologi Labellum	Skoring	Keterangan
24.	Penampang melintang labellum	0 = Membalik sangat dalam 1 = Membalik agak dalam 2 = Melengkung Sangat dalam	Diamati labellum tampak samping.



No.	Karakter Morfologi Labellum	Skoring	Keterangan
25.	Panjang keping tengah labellum	0 = > 1,5 cm 1 = ≤ 1,5 cm	Diukur dari bagian pangkal sampai ujung keping tengah.
26.	Lebar keping tengah labellum	0 = > 1,0 cm 1 = ≤ 1,0 cm	Diukur dari bagian terlebar pada keping tengah.
27.	Corak keping tengah labellum	0 = Bergaris 1 = Berbintik 2 = Bercorak	Diamati tipe corak pada keping tengah.
28.	Tonjolan keping tengah labellum	0 = Tidak ada 1 = Ada	Diamati ada tidaknya tonjolan pada keping tengah labellum.
29.	Bentuk keping tengah labellum	0 = <i>Semi-Circular</i> 1 = <i>Obdeltoid</i> 2 = <i>Rhombic</i> 3 = <i>Elliptic</i>	Diamati bentuk keping tengah secara umum.
30.	Bentuk keping sisi labellum	0 = Tipe V 1 = Tipe IV 2 = Tipe III	Diamati bentuk keping sisi secara umum.

No.	Karakter Morfologi Labellum	Skoring	Keterangan
31.	Tipe kurvatur keping sisi labellum	0 = Tipe I 1 = Tipe II	Diamati bentuk kurvatur dari keping sisi.
32.	Corak warna keping sisi	0 = Berbintik 1 = Berbintik & Bercorak 2 = Bercorak 3 = Polos	Diamati tipe corak pada keping sisi.
33.	Sungut pada labellum	0 = Tidak ada 1 = Ada	Diamati ada tidaknya sungut pada bagian ujung dari keping tengah.
34.	Tipe callus pada labellum	0 = <i>Simple</i> 1 = <i>Lamellate</i> 2 = <i>Complex</i>	Diamati tipe callus pada labellum.
35.	Letak lekuk labellum	0 = Tengah & Ujung 1 = Tengah 2 = Ujung 3 = Tidak Berlekuk	Diamati bagian labellum yang mengalami pelekukan.

Sumber : Balai Penelitian Tanaman Hias (2007)

**Tabel 3.4.** Karakter Morfologi Pollinaria

No.	Karakter Morfologi	Skoring	Keterangan
1.	Jumlah dan lubang dari pollinia	0 = Dua berlekuk 1 = Dua tersusun padat	Diamati ada tidaknya pori/lekuk pada bagian pollinia.
2.	Letak pollinia	0 = Apical 1 = Ventral	Diamati letak pollinia pada stipe dan kaudikel.
3.	Bentuk viscidium	0 = Segiempat 1 = Segitiga 2 = Seperti papan luncur	Diamati bentuk viscidium secara umum.
4.	Pelebaran <i>viscidium</i>	0 = Tidak ada 1 = Ada	Diamati ada tidaknya pelebaran viscidium secara umum.

Sumber : Topik *et al.* (2006)

## 5. 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.

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

- a. Setelah melakukan observasi morfologi langsung dan melakukan skoring, didapat matriks skoring dari tiap karakter.

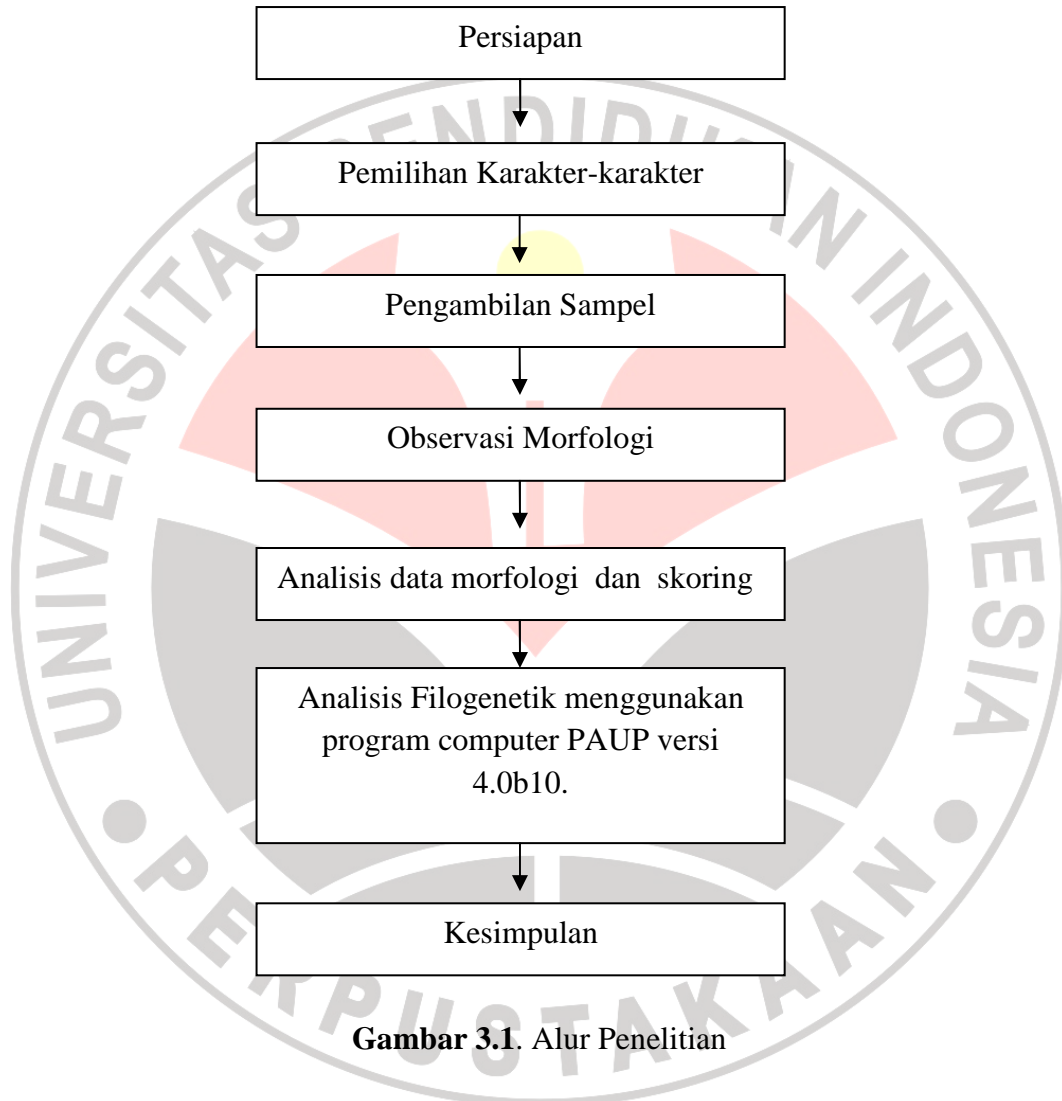
- b. Dibuat dan dipindahkan matriks data yang didapatkan kedalam program **PAUP** dalam bentuk **NEXUS.files** sehingga berupa matriks data hasil penelitian.
- c. Save data tersebut. Usahakan data dalam posisi yang benar dan tidak terdapat kesalahan dalam memasukan matriks skoring, sesuai dengan urutan 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. Ketik **hsearch ?** (untuk cek set heuristic search). Bila ingin meubah 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).
- f. Selanjutnya untuk memunculkan pohon klik Ketik **showtrees** (1 pohon filogenetik akan tampil) . Ketik **savetrees nama file** (semua pohon akan di-save).
- g. Untuk menyimpan pohon konsensus dan pohon hasil bootstrap tekan **Alt+PrtSc** ketika layar menampilkan pohon tersebut.
- h. Atau bisa disimpan dalam bentuk display buffer dengan cara: klik **Edit** klik **display buffer** klik **File** klik **Save As**.
- i. Catatan: Ketik **help command** (untuk melihat kode-kode perintah).
- j. Untuk membuka pohon yang telah di dapatkan kita buka di software lain yaitu **Treeview** (Treev32).

- k. Setelah programnya terinstal caranya kita buka klik icon **treeview** kemudian klik **open** file nexus hasil show trees
- l. Jika ada outgroup pilih klik **tree** pilih **define outgroup**.
- m. Klik takson yang dijadikan outgroup pada display tekan **ok**.
- n. Klik **tree** kembali pilih **root with outgroup**. Lakukan beberapa kali ulangan untuk mendapatkan pohon filogenetik yang representatif dan pilih tampilan yang terbaik.



## F. Alur penelitian

Alur kegiatan dari penelitian ini (Gambar 3.1) dibagi menjadi beberapa tahap secara jelasnya sebagai berikut :



**Gambar 3.1.** Alur Penelitian