

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian dasar dengan metode deskriptif, untuk mengetahui kekerabatan pada genus *Mangifera* berdasarkan karakter morfologi daun. Untuk desain penelitian yang dipakai adalah survei (koleksi lapangan). Survei (koleksi lapangan) adalah pengambilan sampel secara langsung ke lapangan berupa bahan (spesimen) segar.

B. Pelaksanaan dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Desember 2010 hingga bulan Januari 2011 di Kebun Raya Bogor dan Laboratorium Struktur Tumbuhan Universitas Pendidikan Indonesia (UPI) Bandung.

C. Sampel Tumbuhan

Sebanyak 16 tumbuhan, terdiri dari 15 spesies *ingroup* *Mangifera* dan satu spesies *outgroup* yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor digunakan dalam penelitian ini. Jenis tumbuhan dari genus *Bouea* dipilih sebagai *outgroup* berdasarkan penelitian sebelumnya. Adapun spesimen tumbuhan yang terpilih sebagai sampel penelitian terdapat pada Tabel 3.1 berikut ini.

Tabel 3. 1 Spesimen Tumbuhan

No.	Genus	Spesies	Ket.
1.	<i>Bouea</i>	<i>Bouea oppositifolia</i> (Roxb.) Meiss	<i>Outgroup</i>
2.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera altissima</i> Blanco.	<i>Ingroup</i>
3.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera applanata</i> Kosterm.	<i>Ingroup</i>
4.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera caesia</i> Jack ex Wall.	<i>Ingroup</i>
5.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera casturi</i> Kosterm.	<i>Ingroup</i>
6.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera foetida</i> Lour.	<i>Ingroup</i>
7.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera gedebe</i> Miq.	<i>Ingroup</i>
8.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera indica</i> L.	<i>Ingroup</i>
9.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera kemanga</i> Blume.	<i>Ingroup</i>
10.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera laurina</i> Blume.	<i>Ingroup</i>
11.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera longipes</i> Griffith.	<i>Ingroup</i>
12.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera macrocarpa</i> Blume.	<i>Ingroup</i>
13.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera odorata</i> Griffith.	<i>Ingroup</i>
14.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera pedicellata</i> Kosterm.	<i>Ingroup</i>
15.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera rufocostata</i> Kosterm.	<i>Ingroup</i>
16.	<i>Mangifera</i>	<i>Mangifera similis</i> Blume.	<i>Ingroup</i>

D. Alat dan Bahan

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

Tabel 3. 2 Alat yang Digunakan

No.	Nama Alat	Kegunaan
1.	Gunting stekers	Memotong organ tumbuhan yang diamati
2.	Kamera digital	Mendokumentasikan hasil penelitian

3.	Kertas Label	Memberi identitas sampel
4.	Plastik	Menampung sampel yang dibawa dari lapangan
No.	Nama Alat	Kegunaan
5.	Penggaris	Mengukur sampel
6.	Tabel Skoring	Tabel yang berisikan karakter morfologi yang akan diamati
7.	Papan Jalan	Alas menulis saat observasi dilapangan
8.	Spidol	Menulis pada kertas label

Bahan yang digunakan adalah daun dari kelima belas spesies *Mangifera* dan satu spesies *Bouea*.

E. Cara Kerja

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap, yaitu persiapan awal, pengambilan sampel tumbuhan, observasi karakter morfologi dan analisis data.

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

Tumbuhan diambil dari Kebun Raya Bogor. Setiap spesies yang dicuplik hanya daun saja dari empat sisi pohon agar data yang diperoleh valid. Daun diambil dari ranting dan pada buku ke-8. Daun yang diperoleh dimasukkan ke

dalam kantong plastik yang telah diberi label. Daun yang telah dimasukkan ke dalam kantong plastik kemudian disimpan di tempat yang sejuk sampai siap diidentifikasi.

3. Observasi Karakter Morfologi

Untuk mempermudah pengamatan saat kegiatan observasi digunakan tabel skoring. Tabel tersebut berisi karakter-karakter morfologi dengan bobot setiap karakter. Total Karakter yang diamati berjumlah 13. Pemilihan karakter dan studi pustaka sebagian besar mengacu dari literatur yang relevan yaitu buku *Flora of Java* (Backer & Van Den Brink, 1965), buku *Mangga* (Kusumo *et al.*, 1975), buku *An Integrated System of Classification of Flowering Plants* (Cronquist, 1981), *Edible Fruits and Nuts* (Verheij & Coronel, 1992), buku *Mengerti Morfologi Tumbuhan* (Yudianto, 1992), *The Mangoes* (Kostermans & Bompard, 1993), buku *Morfologi Tumbuhan* (Tjitrosoepomo, 2003), skripsi “Kekerabatan Morfologi pada Kultivar *Mangifera indica* L. Menggunakan Metode Fenetik” (Maharani, 2008) dan buku *Agribisnis Mangga* (Soedarya, 2009). Karakter yang digunakan merupakan *Multi State* karakter dengan nilai skor angka 0, 1, 2, 3 dan 4. Angka 0 merupakan nilai skoring yang paling rendah (karakter primitif), angka 1, 2, 3 dan 4 merupakan nilai tinggi pada skoring menunjukkan karakter kemajuan. Karakter-karakter morfologi yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Karakter-karakter Morfologi yang Diobservasi

No.	Karakter Morfologi	Skoring	Keterangan
1.	Letak bagian terlebar pada helaian daun	0= bagian tengah 1= atas bagian tengah	Diamati dengan cara melipat daun menjadi dua bagian yang sama lalu diamati letak bagian terlebarnya.
2.	Bentuk helaian daun	0= <i>oblongus</i> 1= <i>ovalis</i> 2= <i>lanceolatus</i> 3= <i>linearis</i> 4= <i>spathulatus</i>	Diamati bentuk daun secara umum dari bagian ujung sampai pangkal.
3.	Bentuk ujung helaian daun	0= meruncing 1= runcing	Diamati bentuk ujung helaian daun.
4.	Bentuk pangkal helaian daun	0= runcing 1= tumpul	Diamati bentuk pangkal helaian daun.
5.	Tepi helaian daun	0= rata 1= bergelombang	Diamati pada permukaan helaian daun bagian tepi.
6.	Permukaan helaian daun	0= mengkilat 1= kusam	Diamati mengkilat tidaknya permukaan helaian daun bagian atas dan dilihat dibawah

			sinar matahari.
7.	Kekasaran tulang daun pada permukaan atas helaian daun	0= halus 1= kasar	Diraba bagian atas permukaan helaian daun.
8.	Lipatan daun	0= datar 1= agak melipat	Diamati melipat atau datar pada helaian daun.
9.	Panjang maksimal helaian daun	0= $\leq 27,0$ cm 1= $> 27,0$ cm	Diukur menggunakan penggaris pada helaian daun dari ujung sampai pangkal.
No.	Karakter Morfologi	Skoring	Keterangan
10.	Lebar maksimal helaian daun	0= $\leq 7,5$ cm 1= $> 7,5$ cm	Diukur menggunakan penggaris pada bagian terlebar helaian daun.
11.	Bentuk petiolus	0= pipih 1= bulat	Diamati bentuk petiolus.
12.	Panjang maksimal petioles	0= $\leq 4,0$ cm 1= $> 4,0$ cm	Diukur menggunakan penggaris pada petiolus.
13.	Letak daun	0= tegak 1= mendatar	Diamati letak daun yang masih menempel pada batang.

Keterangan : (*) Nilai skoring 1, 2, 3, 4 = karakter lebih maju, 0 = karakter primitive

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.

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

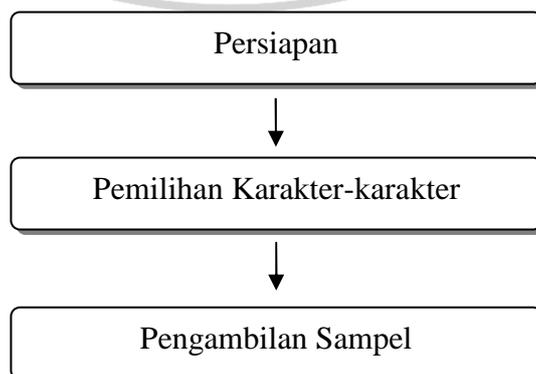
- a. Setelah melakukan observasi morfologi langsung dan melakukan skoring, didapat matriks skoring dari tiap karakter.
- b. Dibuat dan dipindahkan matriks data yang didapatkan kedalam program **PAUP** dalam bentuk **NEXUS.files** sehingga berupa matriks data hasil penelitian.
- c. Save data tersebut. 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**.

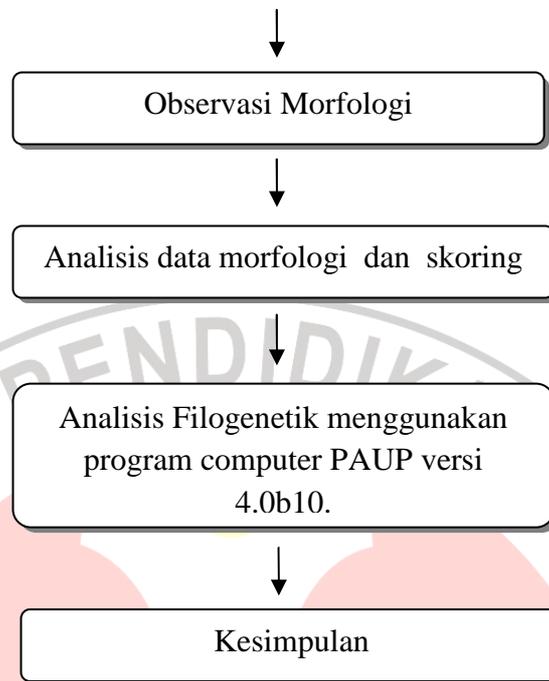
- e. Ketik **hsearch ?** (untuk cek set heuristic search). Bila ingin meubah set parsimoni, contoh ketik **hsearch addseq=random nreps=100 multrees=yes** (meubah addition sequences menjadi random dengan 100 replikasi dan lebih dari 1 pohon akan di-save).
- f. Selanjutnya untuk memunculkan pohon klik 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 adalah dibagi menjadi beberapa tahap (Gambar 3.1) secara jelasnya sebagai berikut :





Gambar 3.1. Alur Penelitian