

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Maret sampai Mei 2011. Pengambilan sampel daun dilaksanakan di Leuweung Sancang, Kecamatan Cibalong, Kabupaten Garut dan pembuatan preparat anatomi daun serta pengamatan dilaksanakan di Laboratorium Struktur Tumbuhan, Jurusan Pendidikan Biologi, Universitas Pendidikan Indonesia

B. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian dasar atau penelitian murni dengan metode deskriptif. Penelitian dasar atau penelitian murni merupakan pencarian terhadap sesuatu karena ada perhatian dan keingintahuan terhadap hasil suatu aktivitas, serta tanpa memikirkan ujung praktis atau titik terapan (Nazir, 2005: 26). Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang bertujuan membuat deskripsi, gambaran atau lukisan secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki (Nazir, 2005: 54).

C. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1, Tabel 3.2, dan Tabel 3.3 sebagai berikut:

Tabel 3.1 Alat yang Digunakan

No.	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Baki pita	Bahan karton duplex	1 buah
2.	Botol vial	10 ml	60 buah
3.	Botol tempat larutan	600 ml	10 buah
4.	Box preparat	Bahan kayu isi 100	1 buah
5.	Corong	Bahan kaca	1 buah
6.	Desicator	Duran	1 buah
7.	Gelas piala	Bahan kaca pyrex ukuran 50 ml, 250 ml, 500 ml.	@ 1 buah
8.	Gelas ukur	Bahan kaca pyrex ukuran 10 ml, 250 ml	1 buah
9.	Hand Refractometer	ATAGO	1 buah
10.	Hot plate	ERMA F-1	1 buah
11.	Hygrometer	Dry and Wet Thermometer	1 buah
12.	Kaca objek	Sail Brand 25.4 x 76.2 mm	2 pak @72 buah
13.	Kaca penutup	Germany, 18 x 18 mm	2 pak @50 buah
14.	Kamera digital	Samsung ES28 12.2 Mega Pixel	1 buah
15.	Kuas	No.3	2 buah
16.	Luxmeter	Lutron, LX-1108	1 buah
17.	Mikroskop elektrik	Shimadzu	1 buah
18.	Mikrotom putar	Model Yamato KHKI PR-50	1 buah
19.	Oven	SIBATA SPF-450	1 buah
20.	Penggaris	Bahan besi	2 buah
21.	Pinset	Besi ujung lengkung	1 buah
22.	Pipet	Bahan kaca	2 buah
23.	Silet	Gillete Goal	6 buah
24.	Skala pengukur mikroskop	Skala okuler, skala objektif	@ 1 buah
25.	Staining jar	Bahan Kaca	12 buah
26.	Termometer	Alkohol	1 buah
27.	<i>Vacuum diafragh pump</i>	Ulvac sinko kiko DA-20D	1 buah

Tabel 3.2 Species Mangrove yang Digunakan

No.	Familia	Species	Nama Daerah
1	Acanthaceae	<i>Acanthus ilicifolius</i>	Jeruju Putih
2	Myrsinaceae	<i>Aegiceras corniculatum</i>	Teruntun, Kacang-kacangan
3	Verbenaceae	<i>Avicennia alba</i>	Api-api
4	Rhizophoraceae	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	Pertut, Bako
5	Rhizophoraceae	<i>Rhizophora apiculata</i>	Bakau minyak
6	Sonneratiaceae	<i>Sonneratia alba</i>	Pidada
7	Meliaceae	<i>Xylocarpus granatum</i>	Nili, Nirih, Nyireh

Tabel 3.3 Bahan yang Digunakan

No.	Nama Bahan	Kegunaan
1	Alkohol	Dehidrasi dan pewarnaan (50%, 70%, 80%, 90%, 100%) , membuat larutan FAA (50%)
2	Aquades	Pelarut, pembilas pada pewarnaan
3	Asam asetat glacial	Membuat larutan FAA
4	Entelan	Untuk penutupan kaca objek
5	Fast green	Pewarnaan
6	Formalin	Membuat larutan FAA
8	Haupt	Sebagai perekat
9	Parafin keras	Infiltrasi dan embedding
10	Parafin lunak	Infiltrasi
11	Safranin	Pewarnaan
12	Xilol	Pelarut parafin pada dehidrasi dan infiltrasi

D. Cara Kerja

1. Pengambilan Sampel Daun Mangrove di Lapangan

Sampel daun mangrove diambil dari Leuweng Sancang, Kecamatan Cibalong, Kabupaten Garut. Terlebih dahulu dilakukan pengukuran faktor abiotik dan klimatik berupa salinitas, suhu, kelembaban, dan intensitas cahaya di tempat pengambilan sampel daun. Daun diambil dari buku ke tiga sebanyak lima daun

per pohon dari tiga pohon pada setiap species, masing-masing untuk pembuatan preparat awetan dan pengamatan morfologi. Daun yang akan dibuat preparat awetan diambil dengan menggunakan silet tajam dan langsung dimasukkan ke dalam larutan FAA 50%, sedangkan daun yang digunakan untuk pengamatan morfologi dan sayatan segar dibungkus dengan menggunakan kertas basah dan dimasukkan ke dalam kantong plastik.

2. Pengamatan Morfologi Daun Mangrove

Karakter morfologi daun mangrove yang diamati meliputi bentuk helaian daun, tipe ujung daun, tipe pangkal daun, tipe tepi daun, dan tipe pertulangan daun,

3. Pembuatan Preparat Anatomi Sayatan Segar

Untuk mengamati tipe stomata dan kelenjar garam dibuat preparat anatomi sayatan segar dengan menyayat permukaan daun. Hasil sayatan paradermal daun disimpan di atas kaca objek yang telah ditetesi aquades, kemudian ditutup dengan kaca penutup dan diamati di bawah mikroskop.

4. Pembuatan Preparat Anatomi dengan Metode Parafin

Preparat awetan anatomi daun mangrove dibuat dengan metode parafin (Sass, 1958). Sampel daun mangrove yang telah dimasukkan ke dalam larutan FAA 50%, kemudian dipotong dengan ukuran 1 cm x 0,5 cm dan dimasukkan ke dalam botol vial 10 ml yang telah diisi larutan FAA 50%. Setiap botol berisi tiga potong daun. Sampel daun kemudian diaspirasi dengan menggunakan aspirator (*desicator* yang dihubungkan dengan *vacuum diafragh pump*). Proses ini bertujuan untuk menghilangkan udara yang ada di dalam daun, sehingga mempermudah larutan

untuk masuk ke dalam daun pada proses dehidrasi dan infiltrasi. Setelah tidak terlihat adanya gelembung yang keluar dari daun pada tekanan vakum maksimal, dilanjutkan pada proses dehidrasi dengan seri alkohol xilol. Proses ini bertujuan untuk menarik air dari daun agar parafin mudah masuk ke dalam daun pada saat infiltrasi.

Sampel diinfiltrasi dalam xilol : parafin 3:1; xilol : parafin 1:1; xilol : parafin 1:3 selama masing-masing 2 jam di dalam oven dengan suhu 48⁰C. Proses infiltrasi dilanjutkan dengan menggunakan parafin lunak selama 2 x 2 jam (48⁰C), kemudian dengan menggunakan parafin keras selama 2 x 2 jam dalam oven dengan suhu 58⁰C. Sampel ditanam di dalam *paraffin plate* bersama dengan parafin keras. Setelah blok parafin mengeras, kemudian disayat dengan menggunakan mikrotom putar pada ketebalan 10-12 μ m.

Hasil sayatan yang berupa pita-pita parafin kemudian ditempelkan pada kaca objek yang telah diberi perekat haupt dan ditetesi aquades. Setelah itu disimpan di atas papan pemanas dengan suhu 40⁰C hingga kering. Dilanjutkan pada proses pewarnaan dengan menggunakan pewarna safranin dan *fast green* (Lampiran IV). Sayatan yang telah diwarnai kemudian ditutup dengan kaca penutup yang telah ditetesi entelan. Langkah pembuatan preparat anatomi dengan metode parafin dapat dilihat dalam Lampiran V.

5. Pengamatan Anatomi

a. Pengamatan anatomi daun pada preparat awetan daun

Anatomi daun yang diamati pada preparat awetan daun yaitu tebal kutikula, tebal palisade, tebal daun, jumlah lapisan epidermis, hipodermis, dan palisade,

bentuk sel penyusun hipodermis dan palisade, letak palisade dan stomata, struktur birai pada stomata, struktur kelenjar garam, jenis kristal, diameter dan letak kristal drus, serta letak tanin.

b. Pengamatan anatomi daun pada preparat sayatan segar daun

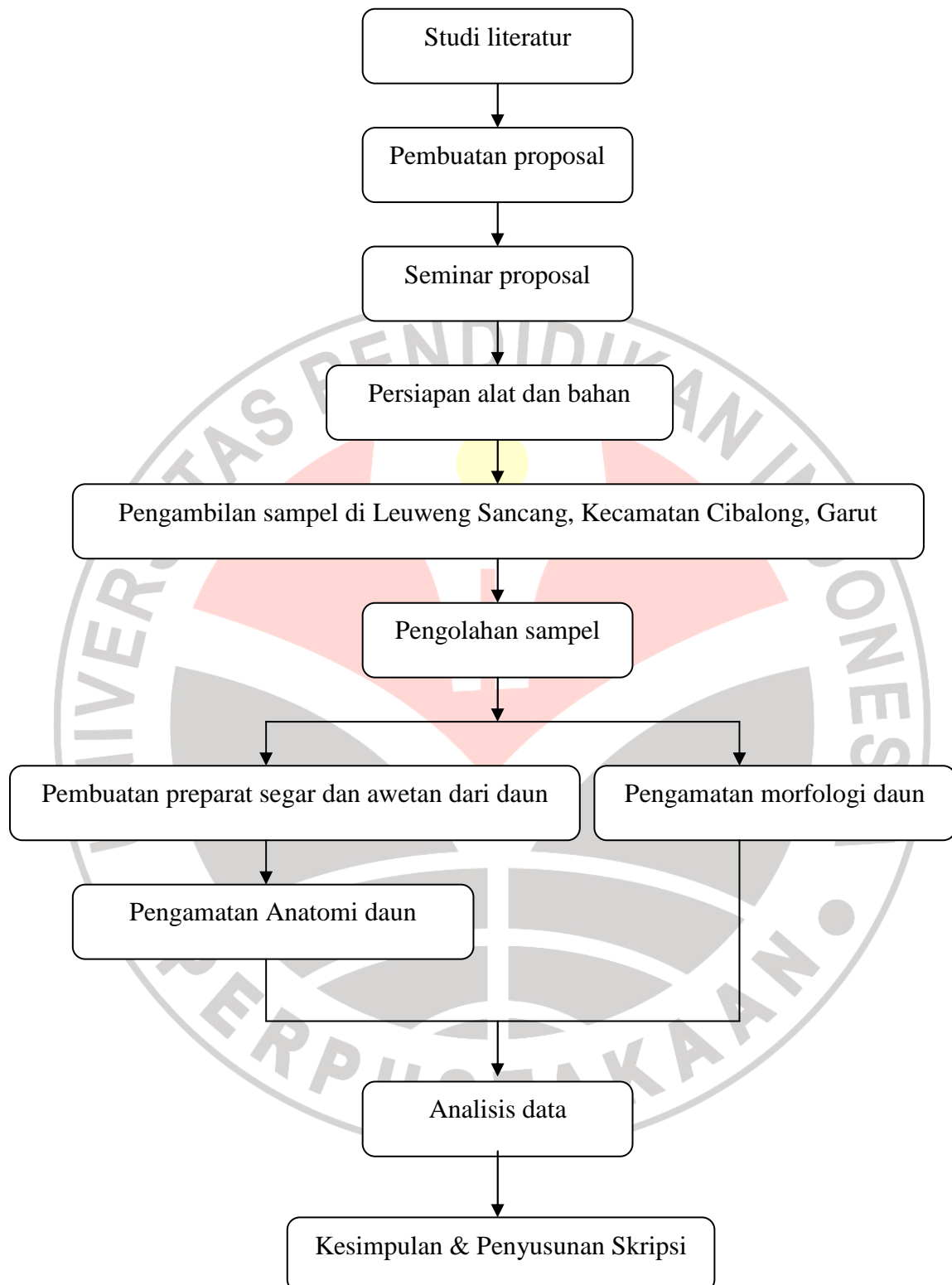
Anatomi daun yang diamati pada sayatan segar paradermal daun yaitu tipe stomata, kelenjar garam, dan sel epidermis.

6. Analisis Data

Data morfologi dan anatomi yang telah diperoleh, kemudian dianalisis. Data morfologi yang meliputi panjang dan lebar daun diolah sehingga didapatkan data indeks daun. Data anatomi yang berupa tebal palisade, tebal daun, dan diameter kristal drus diolah sehingga didapatkan kisaran tebal palisade, tebal daun, dan diameter kristal drus.

E. Alur Penelitian

Langkah-langkah penelitian mulai dari awal sampai penyusunan laporan penelitian (skripsi) dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Alur Penelitian