

## BAB III METODE PENELITIAN

### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif untuk mendata dan mengevaluasi karakteristik morfologi daun, duri, buah, mata dan mahkota pada 10 kultivar nanas Subang, yang kemudian hasilnya akan dianalisis dengan menggunakan *software* MEGA 4.0.2 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) untuk menghasilkan pohon filogenetik yang terstruktur mengenai hubungan kekerabatan kultivar nanas Subang serta kultivar nanas Subang dan Malaysia.

### B. Populasi dan Sampel

#### 1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh kultivar *Ananas comosus* (L.) Merr., yang terdapat di Perkebunan Toto Mariuk, Jalan Cagak Subang dan Kebun Percobaan Subang, Jawa Barat.

#### 2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 kultivar nanas Subang terpilih yang diamati (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 Sampel Tumbuhan yang Digunakan

No.	Kultivar <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.
1.	<i>Cayenne</i> Biasa
2.	<i>Cayenne</i> Simadu

3.	<i>Cayenne Duri</i>
4.	<i>Cayenne Leor</i>
5.	<i>Cayenne Bulat</i>
<b>No.</b>	<b>Kultivar <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.</b>
6.	<i>Cayenne Hilo</i>
7.	<i>Cayenne Gelung Duri</i>
8.	<i>Cayenne Bottleneck</i>
9.	<i>Cayenne Big Eye</i>
10.	<i>Queen Blitar</i>

### C. Waktu dan Lokasi Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Bulan Maret 2013. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Struktur Tumbuhan FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia Jalan Setiabudi 229 Bandung.

### D. Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan utama yaitu kultivar nanas Subang. Nanas yang digunakan dalam penelitian ini adalah nanas yang diperoleh dari Perkebunan Toto Mariuk, Jalan Cagak Subang dan Kebun Percobaan Subang, Jawa Barat.

#### 1. Alat

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

Tabel 3.2 Daftar Alat yang Digunakan

No.	Nama Alat	Kegunaan	Jumlah
1.	Pisau	Memotong sampel tumbuhan	1 buah
2.	<i>Camera digital</i>	Mendokumentasikan hasil penelitian	1 buah
3.	Kertas label	Memberi identitas sampel	1 pack

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubunagn Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Di Kabupaten Subang

4.	Tabel skoring karakteristik morfologi	Tabel yang berisikan karakter morfologi yang akan di amati	3 buah
5.	Penggaris	Mengukur sampel	2 buah

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ daun, buah dan mahkota dari 10 kultivar nanas, seperti yang dapat terlihat pada Tabel 3.1.

### E. Langkah Kerja

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

#### 1. Persiapan Awal

Persiapan yang dilakukan meliputi pembuatan proposal penelitian, kegiatan survei ke lapangan untuk mencari lokasi pengambilan sampel nanas dan mengetahui sampel yang akan dicuplik, serta menyiapkan alat – alat yang mendukung penelitian.

#### 2. Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan dengan sumber berupa jurnal dan skripsi yang berhubungan dengan tanaman nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.).

#### 3. Pengambilan Sampel Tumbuhan

Metode sampling dilakukan secara langsung, dengan pengambilan sampel nanas sebanyak 10 buah yang berasal dari Perkebunan Toto Mariuk,

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubunagn Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)  
Di Kabupaten Subang

Jalan Cagak Subang dan Kebun Percobaan Subang, Jawa Barat. Bagian dari tumbuhan yang diambil adalah organ daun, buah, dan mahkota.

#### 4. Observasi Morfologi

Untuk mempermudah pengamatan saat kegiatan observasi digunakan tabel skoring. Tabel berisi karakter – karakter morfologi dengan bobot setiap karakter. Total karakter yang diamati berjumlah 21 karakter yaitu delapan karakter pengamatan daun, enam karakter pengamatan duri, tiga karakter pengamatan buah, tiga karakter pengamatan mata buah dan satu karakter pengamatan mahkota. Total karakter yang diamati untuk nanas Subang dan Malaysia berjumlah 15 karakter yang meliputi tujuh karakter pengamatan daun yaitu bentuk daun, tepi daun, permukaan daun, permukaan daun mengkilap, warna daun bagian atas, warna daun bagian bawah, bentuk petak daun, lima karakter pengamatan duri yaitu daun berduri, lokasi duri, pola distribusi duri, bentuk duri, ukuran duri, dua karakter pengamatan buah yaitu bentuk buah, warna kulit buah dan satu karakter pengamatan bentuk mata. Karakter morfologi daun, duri, buah dan mata berpedoman pada “*Morphological Characteristic and Phylogeny of Malaysian Pineapple*” oleh Syafiqah (2012) dan karakter morfologi mahkota berdasarkan pada Panduan Pengujian Individual Kebaruan, Keunikan, Keseragaman dan Kestabilan yang diterbitkan oleh Departemen Pertanian Republik Indonesia: Pusat Perlindungan Varietas Tanaman (2007).

Karakter yang digunakan merupakan *Multi State* karakter dengan nilai skor angka 0, 1, 2, 3, 4 dan 5. Angka 0 merupakan nilai skoring yang paling rendah (karakter primitif), angka 1 bernilai sedang, pertengahan atau rendah, sedangkan nilai 2, 3, 4 dan 5 merupakan nilai paling tinggi pada skoring

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubungan Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Di Kabupaten Subang

menunjukkan karakter kemajuan. Jika skor angka dikonversi untuk dianalisis dengan *software* MEGA 4.0.2 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*), maka 0 – 5 diubah menjadi m, k, l, i, f, dan n seperti urutan protein pada bakteri. Karakter – karakter morfologi yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Karakteristik Morfologi yang Diobservasi

No.	Karakteristik Morfologi	Skor	Keterangan
1.	Daun berduri	0 – ada 1 – tidak ada	Diamati adanya duri di bagian tepi daun.
2.	Lokasi duri	0 – sepanjang tepi daun 1 – ujung dan pangkal daun 2 – ujung daun 3 – pangkal daun 4 – tidak ada	Diamati sebaran duri pada daun, dari bagian ujung, tengah dan pangkal daun.
3.	Pola distribusi duri	0 – rapat (< 0,2 cm) dan jumlah banyak 1 – renggang (> 0,2) dan jumlah banyak 2 – rapat (< 0,2 cm) dan jumlah sedikit 3 – renggang (> 0,2) dan jumlah sedikit	Dihitung jarak antar duri, dan jumlah duri yang ada pada daun.

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubungan Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Di Kabupaten Subang

		4 – tidak ada	
4.	Bentuk duri	0 – tumpul 1 – tajam 2 – tidak ada	Diamati bentuk ujung duri yang terdapat pada bagian daun dan dengan sentuhan tangan.
5.	Ukuran duri	0 – panjang (> 0,1 cm) 1 – pendek (< 0,1 cm) 2 – tidak ada	Dihitung dari pangkal duri hingga ujung duri.
6.	Arah duri	0 – mengarah ke ujung 1 – mengarah ke pangkal 2 – keduanya	Diamati arah orientasi duri.
<b>No.</b>	<b>Karakteristik Morfologi</b>	<b>Skor</b>	<b>Keterangan</b>
7.	Warna duri	0 – kehijauan 1 – kemerahan 2 – keunguan	Diamati warna duri pada daun dewasa.
8.	Bentuk daun	0 – <i>linear</i> (sempit dan panjang) 1 – <i>acuminatus</i> (meruncing ke satu titik)	Diamati bentuk daun dewasa.
9.	Tepi daun	0 – berduri 1 – <i>entire</i> (halus) 2 – <i>ciliate</i> (berambut)	Diamati tekstur tepi daun dewasa.
10.	Permukaan daun	0 – halus 1 – kasar	Diamati tekstur permukaan daun dewasa.

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubungan Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Di Kabupaten Subang

11.	Permukaan daun bagian atas mengkilap	0 – ada 1 – tidak	Diamati pada permukaan daun dewasa bagian atas.
12.	Warna daun (bagian atas)	0 – hijau 1 – hijau kemerahan 2 – hijau kecoklatan	Diamati dengan melihat warna pada permukaan daun bagian atas.
13.	Warna daun (bagian bawah)	0 – hijau keputihan 1 – hijau kemerahan 2 – hijau kecoklatan	Diamati dengan cara melihat warna pada permukaan daun bagian bawah.
14.	Bentuk petak daun	0 – <i>canaliculatus</i> (bentuk menyerupai huruf U) 1 – <i>carinatus</i> (bentuk menyerupai huruf V)	Diamati dengan cara melihat bentuk daun secara keseluruhan.
<b>No.</b>	<b>Karakteristik Morfologi</b>	<b>Skor</b>	<b>Keterangan</b>
15.	Bentuk buah	0 – silinder 1 – bulat 2 – kerucut	Diamati bentuk buah secara keseluruhan.
16.	Warna kulit buah	0 – kuning 1 – hijau tua 2 – hijau muda 3 – hijau – oranye 4 – oranye – kemerahan	Diamati warna kulit buah ketika buah sudah matang.
17.	Warna daging buah (diamati ketika matang)	0 – hijau 1 – hijau keperakan 2 – kuning keputihan	Diamati warna daging buah ketika buah sudah matang.

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubungan Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Di Kabupaten Subang

		3 – kuning kemerahan 4 – kecoklatan	
18.	Bentuk mata	0 – menonjol 1 – datar	Diamati bentuk mata pada buah
19.	Kedalaman mata	0 – dangkal 1 – dalam	Diraba dengan indra perasa sentuhan tangan.
20.	Ukuran mata	0 – kecil (<1,9 cm) 1 – besar (>1,9cm)	Dihitung bagian terlebar mata.
21.	Bentuk mahkota	0 – jorong jambul ( <i>oblong blocky</i> ) 1 – bentuk hati ( <i>akron</i> ) 2 – kerucut panjang ( <i>long – conical</i> ) 3 – silindris dengan ujung lebat ( <i>lengthened cylindrical with buncy top</i> ) 4 – kerucut ( <i>cone</i> )	Diamati bentuk mahkota secara keseluruhan.
<b>No.</b>	<b>Karakteristik Morfologi</b>	<b>Skor</b>	<b>Keterangan</b>
		5 – silindris memanjang ( <i>lengthened cylindrical</i> )	

Keterangan : (\*) Hasil skor 1, 2, 3, 4, 5 = karakter lebih maju atau modern, 0 = karakter primitif. Konversi hasil skor k, l, i, f, n = karakter lebih maju atau modern, m = karakter primitif.

Sumber : Syafiqah (2012); Departemen Pertanian Republik Indonesia (2007)

## 5. Analisis Data

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubunagn Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Di Kabupaten Subang



Hasil pengamatan dimasukkan ke dalam tabel skoring yang karakter telah diamati. Setelah seluruh data morfologi daun, duri, buah, mata dan mahkota terkumpul, dilakukan analisis dengan menggunakan MEGA 4.0.2 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) yang merupakan analisis karakteristik dalam data berupa deskriptif untuk membangun pohon filogenetik (Syafiqah, 2012). Sehingga diperoleh hubungan kekerabatan berupa pohon filogenetik yang terstruktur mengenai hubungan kekerabatan kultivar nanas Subang serta kultivar nanas Subang dan Malaysia.

Langkah – langkah dalam melakukan analisis filogenetik dan merekonstruksi pohon filogenetik adalah sebagai berikut:

- a. Setelah dilakukan observasi morfologi langsung dan skoring, didapat matriks skoring dari tiap karakter.
- b. Ubah skoring 0, 1, 2, 3, 4, 5, menjadi urutan protein pada bakteri m, k, l, i, f, n.
- c. Buka program **ClustalX (1.83)** sebelum dimasukan ke program **MEGA 4.0.2**
- d. Klik **file**, kemudian **Load Sequences → Open**
- e. Setelah file dalam bentuk notepad dipilih, klik **Aligment → Output Format Option**
- f. Pilih output format dalam bentuk **NEXUS format → Close**
- g. Klik **Do Complete Aligment** hingga didapatkan dalam bentuk **NEXUS.files**.
- h. Buka program **MEGA 4.0.2** untuk membangun pohon filogenetik
- i. Klik File kemudian **Open Data**
- j. Pilih **all files** agar nxs.file dapat terbaca → klik **nxs.file**
- k. Klik icon **convert to MEGA format**

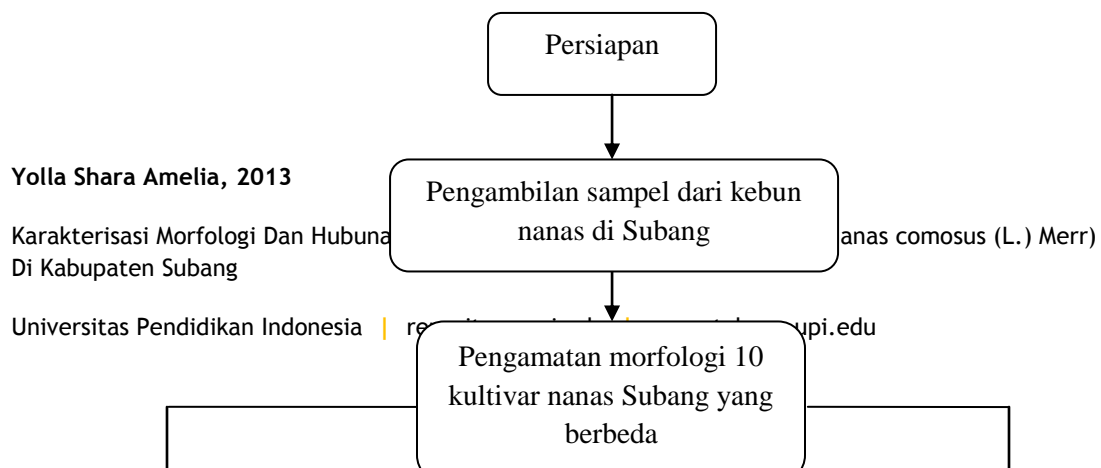
Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubunagn Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Di Kabupaten Subang

- l. Setelah masuk ke data format pilih .nexus (PAUP, McClade) – **OK**
- m. **Save as** untuk mendapatkan data berupa **mega.file** untuk tahap selanjutnya.
- n. Untuk mengaktifkan data file yang akan dianalisis, buka **click me to activate a data file**
- o. Pilih data dalam bentuk **mega.file** yang telah disave as → **input data**, kemudian klik **protein sequences** karena tabel skoring diubah menjadi urutan protein bakteri → **OK** → close
- p. Klik **phylogeny** → **construct phylogeny** → **maximum parsimony** → **compute**
- q. Jika terdapat outgroup klik **place root on branch** agar outgroup terpisah dari ingroup
- r. Untuk menyimpan file berupa foto klik **image save as TIFF file**.
- s. Lakukan beberapa kali ulangan, hingga didapatkan pohon filogenetik yang representatif dan pilih tampilan yang terbaik.

Setelah didapatkan pohon filogenetik nanas Subang yang representatif, langkah selanjutnya adalah menganalisis pohon filogenetik nanas Subang. Selain menganalisis pohon filogenetik dari nanas Subang dilakukan perbandingan dengan menyatukan data antara nanas Subang dengan nanas Malaysia berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Syafiqah (2012) sehingga dapat terlihat perbedaan ataupun persamaan karakter dari pohon filogenetik nanas Subang – nanas Malaysia yang mengindikasikan jauh dan dekatnya hubungan kekerabatan kedua kelompok nanas berbeda asal negara ini.

## F. Alur Penelitian





Gambar 3. 1. Bagan Alur Penelitian

Yolla Shara Amelia, 2013

Karakterisasi Morfologi Dan Hubunagn Filogenetik Sepuluh Kultivar Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)  
Di Kabupaten Subang

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](http://repository.upi.edu) | [perpustakaan.upi.edu](http://perpustakaan.upi.edu)