

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Metode Penelitian**

Metode penelitian ini menggunakan metode deskriptif untuk mendeskripsikan karakter morfologi serbuk sari enam tumbuhan suku Apocynaceae meliputi unit serbuk sari, ukuran, bentuk tampak polar, bentuk tampak ekuatorial, bentuk berdasarkan indeks P/E, polaritas, simetri, kelas apertura, dan ornamentasi eksin.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Pengambilan sampel dilaksanakan mulai Maret 2021. Pengambilan sampel dilakukan di berbagai tempat di kota Palembang. Sementara itu, pembuatan preparat dan pengambilan data dilakukan pada bulan Maret hingga Juni 2021 di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

#### **3.3 Alat dan Bahan Penelitian**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya gunting tanaman, pisau *cutter*, pipet tetes, gelas kimia, corong, tabung reaksi, tabung kultur, tabung sentrifuge, sentrifuge, *hotplate*, kaca objek, kaca penutup, mikroskop, dan mikrometer okuler, kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel serbuk sari dari beberapa jenis tumbuhan Apocynaceae. Bahan kimia yang digunakan yakni

Formalin 37%, Alkohol 70%, Asam asetat glacial (AAG), safranin 1%, bayclin, aquades, gelatin, dan gliserin pekat.

### **3.4 Langkah Kerja**

Langkah kerja pada penelitian ini dibagi menjadi empat tahapan, yaitu persiapan pembuatan larutan, pengambilan sampel serbuk sari, preparasi serbuk sari Apocynaceae yang akan diamati, dan pengamatan preparat serbuk sari.

#### **3.4.1 Pembuatan Larutan**

Pada penelitian ini diperlukan larutan Formalidehyde Acetic-acid Alcohol (FAA), gliserin jelly, dan safranin 1% untuk pembuatan preparat serbuk sari. Larutan FAA diperlukan sebagai larutan fiksatif yang digunakan untuk mempertahankan morfologi asli serbuk sari. Gliserin jelly diperlukan untuk proses penempelan preparat. Safranin 1% digunakan sebagai zat pewarna preparat serbuk sari yang akan diamati.

Larutan FAA terdiri dari formalin 37%, alkohol 70%, dan Asam asetat glacial (AAG) 100% dengan perbandingan 5 ml : 90 ml : 5 ml. Untuk membuat gliserin jelly diperlukan 150 gram gelatin, aquades 175 ml, gliserin pekat 150 ml, dan fenol kristal 7 gram. Pembuatan gliserin jelly dilakukan dengan melarutkan gelatin ke dalam aquades, kemudian fenol kristal dan gliserin ditambahkan, lalu diaduk dan disaring. Sedangkan untuk pembuatan safranin 1% dilakukan dengan cara melarutkan bubuk safranin sebanyak 1 gram ke dalam 100 ml alkohol 70%.

### **3.4.2 Pengambilan Sampel Serbuk Sari**

Sampel diambil dari bunga enam jenis tumbuhan yang telah ditentukan. Pengambilan sampel serbuk sari dilakukan dengan cara mengetukkan bunga yang telah mekar di atas permukaan kertas lalu dimasukkan ke dalam tabung kultur yang telah berisi larutan fiksatif lalu didiamkan selama kurang lebih 24 jam.

### **3.4.3 Pembuatan Preparat Serbuk Sari**

Setelah sampel serbuk sari berhasil didapat, langkah berikutnya yaitu preparasi serbuk sari dengan metode asetolisis. Adapun tahapan yang perlu dilakukan, yaitu :

- a) Serbuk sari dipindahkan ke dalam tabung sertifuge, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit untuk mengendapkan serbuk sari.
- b) Setelah itu, cairan fiksatif dibuang lalu diganti dengan asam asetat glasial dan asam sulfat pekat dengan perbandingan 9 ml : 1 ml ke dalam tabung. Penambahan asam sulfat pekat ke dalam larutan asam asetat glasial dilakukan setetes demi setetes.
- c) Tabung tersebut dimasukkan ke dalam gelas kimia yang telah berisi air yang telah dipanaskan menggunakan hotplate dengan suhu 60°C selama 10 menit lalu pemanasan dihentikan tabung didinginkan selama 15 menit.
- d) Kemudian, tabung disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit lalu cairan dibuang.
- e) Sampel serbuk sari kemudian dicuci dengan aquades sebanyak 2-3 kali. Setiap kali pencucian, sampel harus disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit.

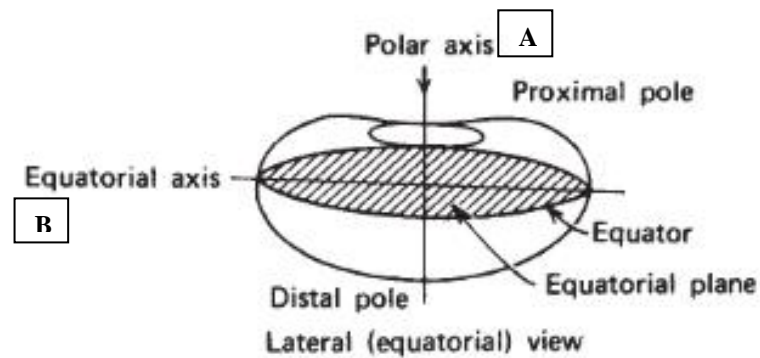
- f) Sampel serbuk sari dicek di bawah mikroskop, apabila masih tampak gelap maka perlu dilakukan *bleaching* dengan larutan bayclin.
- g) Setelah dilakukan *bleaching*, bahan disentrifugasi kembali, lalu larutan *bleaching* dibuang.
- h) Cuci sampel serbuk sari dengan aquades sebanyak 2-3 kali, lalu buang cairan aquades.
- i) Sampel serbuk sari ditetesi dengan 1 tetes safranin yang dilarutkan dalam 2 tetes aquades lalu didiamkan selama 5 menit.
- j) Setelah itu, sampel serbuk sari disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit kemudian cairan tersebut dibuang hingga tersisa endapan serbuk sari di bagian dasar tabung.
- k) Sampel serbuk sari yang terdapat di dasar tabung diambil dengan pipet tetes dan diletakkan pada kaca objek kemudian ditetesi dengan gliserin jelly yang telah dipanaskan terlebih dahulu lalu ditutup dengan kaca penutup.
- l) Preparat yang telah jadi diberi label nama tumbuhan, tanggal pembuatan, dan nama kolektor (Hidajat & Utomo, 1980).

#### **3.4.4 Pengamatan Morfologi Serbuk Sari**

Setelah pembuatan preparat selesai, selanjutnya serbuk sari diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Adapun parameter yang akan diamati meliputi unit serbuk sari, ukuran serbuk sari, simetri serbuk sari, polaritas serbuk sari, kelas apertura, tipe apertura, bentuk serbuk sari tampak polar, bentuk serbuk sari tampak ekuator, bentuk serbuk sari berdasarkan indeks P/E, dan ornamentasi eksin.

Teknik pengamatan terhadap parameter yang dapat diamati dilakukan dengan cara :

1. Unit serbuk sari ada beberapa tipe yaitu monad, diad, tetrad, dan polyad.
2. Ukuran serbuk sari ditentukan berdasarkan panjang aksis serbuk sari, jika serbuk sari memiliki ornamentasi eksin berduri maka perhitungan panjang aksis tidak termasuk panjang duri.

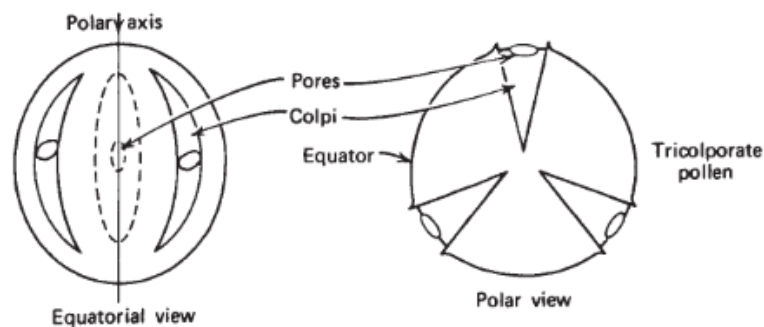


**Gambar 18 Panjang aksis pada serbuk sari**

Ket : panjang aksis polar (A) diameter ekuatorial (B)

(Sumber : Stuessy, 2009)

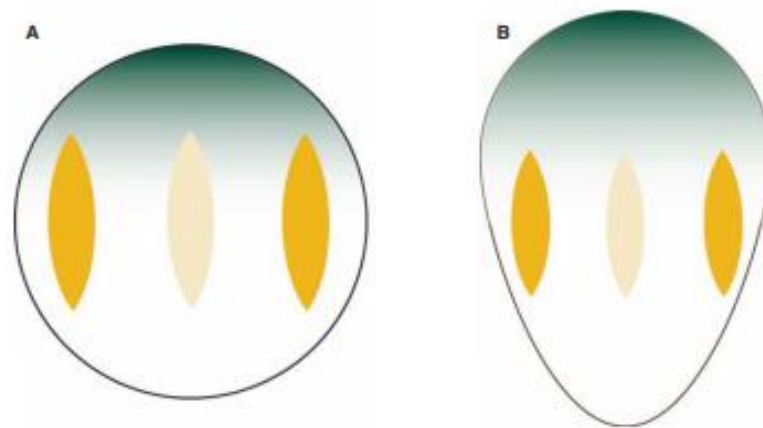
3. Bentuk serbuk sari tampak polar dan tampak ekuatorial diamati dengan melihat serbuk sari dari pandang polar dan pandang ekuatorial.



**Gambar 19 Serbuk sari pandang polar dan ekuatorial**

(Sumber : Stuessy, 2009)

4. Bentuk serbuk sari berdasarkan indeks P/E diamati dengan mengukur panjang aksis polar (P) dan diameter ekuator (E).
5. Polaritas serbuk sari dapat ditentukan dengan pengamatan terhadap panjang aksis polar dan ekuator, apabila bidang ekuator membagi serbuk sari menjadi belahan yang sama maka tipe polaritas serbuk sari adalah isopolar, sedangkan jika aksis polar tidak sama maka tipe polaritasnya heteropolar.



**Gambar 20 Polaritas serbuk sari (A) isopolar (B) heteropolar**

(Sumber : Halbritter, dkk., 2018)

6. Simetri serbuk sari dibagi menjadi dua tipe, yaitu simetri radial jika bidang simetri lebih dari dua dan simetri bilateral jika memiliki dua bidang simetri vertikal dan aksis ekuatorial tidak sama panjang.
7. Kelas apertura ditentukan berdasarkan jumlah apertura pada serbuk sari, posisi dan tipe apertura.

### 3.4.5 Identifikasi Serbuk Sari

Begitu preparat selesai dibuat, serbuk sari diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x hingga 1000x tergantung pada ukuran serbuk sari. Deskripsi hasil pengamatan dibuat berdasarkan parameter yang telah ditentukan.

### **3.5 Metode Analisis Data**

Pengamatan menggunakan parameter dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan secara kualitatif yaitu dengan memperhatikan unit, polaritas, simetri, bentuk, kelas apertura, tipe apertura, jumlah apertura dan ornamentasi eksin serbuk sari suku Apocynaceae. Sedangkan pengamatan secara kuantitatif yakni dengan mengukur panjang aksis polar (P) dan diameter bidang ekuatorial (E) serbuk sari suku Apocynaceae. Data hasil pengamatan serbuk sari tersebut selanjutnya dianalisa secara deskriptif, sehingga akan terlihat perbedaan dan persamaan morfologi serbuk sari.

Hubungan kekerabatan dianalisis menggunakan data karakter morfologi yang telah didapat berdasarkan hasil pengamatan. Data tersebut diterjemahkan menjadi data biner lalu kemudian dilakukan analisis *Cluster* dengan menggunakan program *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSYS). Data kekerabatan akan tersaji dalam bentuk dendrogram sesuai indeks kemiripan morfologi serbuk sari.

### **3.6 Analisis Kualitas Lembar Kerja Peserta Didik**

Hasil penelitian ini akan disumbangkan pada materi Keanekaragaman Hayati SMA Kelas X Kompetensi Dasar 3.3 yaitu Menjelaskan prinsip-prinsip klasifikasi makhluk hidup dalam lima kingdom. Sumbangan berupa Lembar Kerja Peserta Didik (LKPD). Identifikasi morfologi serbuk sari dapat dijadikan bahan pembelajaran terkait keanekaragaman hayati tingkat jenis.

LKPD sebagai sumbangan hasil penelitian untuk pembelajaran SMA divalidasi oleh dua orang pakar yang terdiri dari satu dosen (ahli 1) dan satu guru biologi SMA (ahli 2) yang telah senior. Dua orang pakar tersebut diminta untuk menilai validitas dari LKPD. LKPD telah sesuai atau tidak dengan indikator validitas yang telah ditetapkan (Lembar validitas terlampir). Kemudian skor akan

dibandingkan dan dianalisis dengan menggunakan rumus Koefisien Kappa. Kappa digunakan untuk mengukur persetujuan antara dua individu. Kappa mengukur persentasi dari nilai data dalam tabel diagonal mengatur nilai untuk sejumlah persetujuan yang diperkirakan pada kesempatan yang sama.

Perhitungan koefisien Kappa LKPD:

**Tabel 3 Variasi persetujuan di antara ahli**

		Ahli 1		
		Setuju	Tidak	Total
Ahli 2	Setuju	A	b	M1
	Tidak	C	D	M2
Total		N1	N2	N

(Viera & Garrett, 2005)

Keterangan :

- A : Jumlah pertanyaan yang mana kedua ahli sama-sama setuju
- D : Jumlah pertanyaan yang mana kedua ahli sama-sama tidak setuju
- B : Jumlah pertanyaan yang mana ahli 1 tidak setuju, ahli 2 setuju
- C : Jumlah pertanyaan yang mana ahli 1 setuju, ahli 2 tidak setuju

N1 : (a+c)

N2 : (b+d)

M1 : (a+b)

M2 : (c+d)

N : Total keseluruhan

Po (Proporsi kesepakatan teramati )

$$P_o = \frac{a + d}{N}$$

Pe (Proporsi kesepakatan harapan)

$$P_e = \frac{N_1 \times M_1}{N_1} + \frac{N_2 \times M_2}{N_2}$$

Catatan:



1. Jika tidak ada perbedaan pendapat (*disagreement*) antara dua ahli, maka nilai (b) dan (c) = 0 atau  $P_o = 1$
2. Jika tidak ada persetujuan pendapat (*agreement*) antara dua ahli, maka nilai (a) dan (d) = 0 atau  $P_o = 0$

Jadi, rumus Koefisien Kappa:

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

(Viera & Garrett, 2005)

Keterangan:

K= Koefisien Kappa

$P_o$  = Proporsi kesepakatan teramati

$P_e$  = Proporsi kesepakatan harapan

1= Konstanta

LKPD yang telah divalidasi kemudian direvisi apabila interpretasinya belum baik atau Koefisien Kappa kurang dari 0,61. Pada interpretasi skor Koefisien Kappa, kemungkinan data yang akan diperoleh dari hasil analisis penelitian adalah sebagai berikut:

**Tabel 4 Interpretasi Kappa**

Koefisien Kappa	Interpretasi
0,01 – 0,20	Buruk
0,21 – 0,40	Kurang
0,41 – 0,60	Cukup
0,61 – 0,80	Baik
0,81 – 0,99	Hampir Sempurna
1	Sempurna

(Viera & Garrett, 2005)