

BAB 3

PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan menggunakan metode survei. Untuk pengamatan mengenai karakteristik stomata daun dilakukan dengan pembuatan preparat stomata menggunakan metode replika atau cetakan. Metode replika dilakukan dengan pemberian kutex transparan pada permukaan bawah (abaksial) daun, lalu dibiarkan selama kurang lebih 10 menit atau sampai cat kuku kering pada daun kemudian diamati dibawah mikroskop (Haryanti, 2010).

3.2 Variabel Penelitian

Variabel bebas dari penelitian ini adalah tingkat pencemaran udara dari setiap wilayah pengambilan sampel. Variabel terikat dari penelitian ini adalah karakteristik stomata pada daun tumbuhan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*).

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini merupakan tumbuhan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*) yang terdapat di sepanjang jalan raya pada wilayah Kabupaten Tasikmalaya. Observasi pendahuluan menunjukkan bahwa jenis tumbuhan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*) paling dominan kelimpahannya di wilayah Tasikmalaya terutama di pinggir-pinggir jalan raya yang banyak dilalui kendaraan bermotor. Penentuan lokasi pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling* dimana terdapat pertimbangan tertentu pada lokasi penelitian yaitu karakteristik lingkungan harus memiliki tingkat polusi udara yang tinggi, tingkat polusi udara sedang, dan tingkat polusi udara yang rendah serta terdapat tumbuhan Anggrek Merpati yang hidup secara alami. Hasil mini riset pada pra-penelitian yang dilakukan secara langsung yaitu perhitungan kendaraan bermotor dalam waktu 10 menit pada setiap lokasi penelitian didapatkan wilayah Terminal Singaparna sebagai wilayah dengan intensitas kendaraan paling tinggi, sehingga wilayah ini diasumsikan sebagai wilayah kategori berpolusi tinggi. Selanjutnya wilayah Sukaraja-Mangunreja didapatkan

sebagai wilayah dengan kategori berpolusi sedang dan Gunung Galunggung sebagai wilayah dengan kategori berpolusi rendah.

Sampel dalam penelitian ini adalah daun tumbuhan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*) yang diambil secara langsung dari tiga wilayah yang berada di Tasikmalaya yaitu Pusat Terminal Singaparna, Jalan Sukaraja-Mangunreja dan Gunung Galunggung. Setiap titik wilayah diambil tiga sampel daun dari satu tumbuhan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*), setiap sampel terdiri dari permukaan bawah daun (abaksial). Karakteristik khas tumbuhan yang diambil yaitu memiliki 10-20 daun serta ukuran sampel daun yang relatif sama. Tumbuhan yang digunakan diasumsikan memiliki umur yang sama, hal ini didasari dengan hasil pengamatan sampel daun sejak bulan September-November 2020 di setiap wilayah penelitian pada saat musim berbunga ternyata hampir semua tanaman anggrek di pinggir sepanjang jalan raya juga ikut berbunga termasuk tumbuhan yang ditandai sebagai sampel penelitian. Daun yang diambil berasal dari bagian tengah tumbuhan atau dipilih dengan posisi daun antara 3-5 dari pucuk daun setiap tumbuhan yang menghadap ke jalan raya. Metode pengambilan sampel pada setiap daun mengacu pada Taulu dalam Palit, J. J (2008) yang dimodifikasi oleh peneliti yaitu mengambil sampel pada bagian tengah daun dengan ukuran panjang x lebar 1,0 x 0,5 cm.

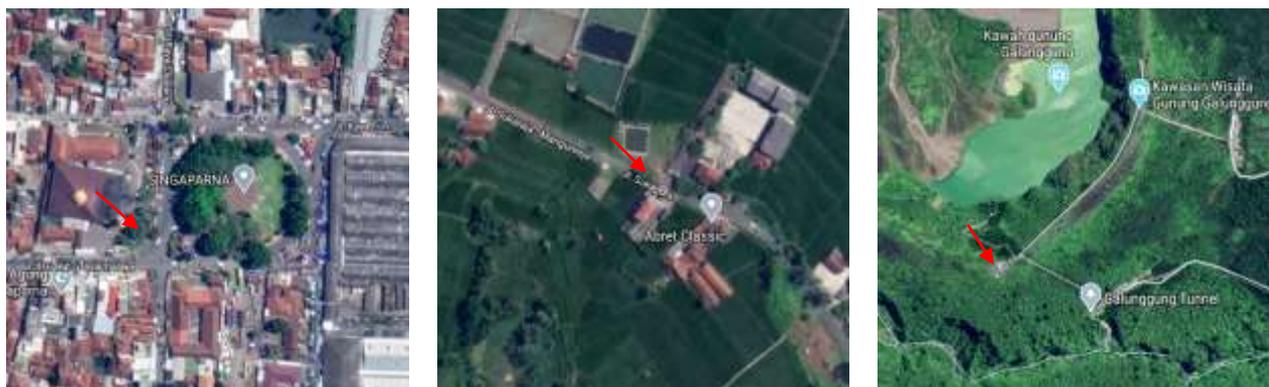
3.4 Desain Penelitian

Untuk desain penelitian yang digunakan adalah survei (koleksi lapangan). Survei atau koleksi lapangan merupakan pengambilan sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian secara langsung ke lapangan berupa bahan (spesimen) segar. Penelitian ini dilakukan melalui cara observasi tanpa adanya manipulasi terhadap objek penelitian serta tanpa adanya kontrol (Nazir, 2017:75).

3.5 Langkah-langkah Penelitian

3.5.1 Tahap Persiapan

- 1) Mendapat Surat Keputusan Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi mengenai penetapan pembimbing skripsi pada tanggal 09 Oktober 2019;
- 2) Mengkonsultasikan judul serta permasalahan yang akan diteliti bersama pembimbing 1 dan 2;
- 3) Judul diterima dan ditandatangani oleh pembimbing 1 dan 2 pada tanggal 06 Desember 2019;
- 4) Mengusulkan judul kepada Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 22 November 2019;
- 5) Menyusun proposal penelitian
- 6) Melaksanakan seminar proposal penelitian pada tanggal 19 Mei 2020, sehingga mendapat saran, koreksi atau perbaikan proposal penelitian salah satunya pergantian judul;
- 7) Mengkonsultasikan perbaikan judul pada pembimbing 1 dan 2;
- 8) Mendapatkan surat pernyataan revisi judul dari Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 1 Juni 2020;
- 9) Mengkonsultasikan perbaikan proposal dengan pembimbing 1 dan 2;
- 10) Mendapatkan surat keterangan revisi proposal pada penguji 1, penguji 2 dan penguji 3 serta pembimbing 1 dan pembimbing 2 pada tanggal 20 September 2020;
- 11) Melakukan survei lapangan atau observasi dan pengamatan awal mengenai keberadaan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*) dan perhitungan kendaraan bermotor yang melintasi titik pengambilan sampel dengan durasi 10 menit. Pada tahap ini didapatkan 3 lokasi penelitian yaitu Terminal Singaparna dengan kategori wilayah berpolusi tinggi, Jalan Sukaraja-Mangunreja sebagai kategori wilayah berpolusi sedang dan Gunung Galunggung sebagai wilayah kategori polusi rendah. Lokasi penelitian disajikan pada gambar 3.1;



a) Terminal Singaparna b) Jalan Sukaraja-Mangunreja c) Gunung Galunggung

Gambar 3.1 Lokasi Penelitian
Sumber : Pencitraan *Google Earth*

- 12) Mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan pada saat penelitian, adapun alat dan bahan penelitian disajikan pada Tabel 3.9;

3.5.2 Tahap Pelaksanaan

Untuk memperoleh data dalam penelitian ini, dilakukan pengambilan data fisik yaitu mengukur tingkat konsentrasi polutan kimia HCHO (*Formaldehyde*) dan TVOC (*Total Volatile Organic Compounds*), suhu, kelembaban, intensitas cahaya matahari, dan melakukan perhitungan kendaraan bermotor yang melintasi titik wilayah pengambilan sampel, serta mengambil sampel untuk diteliti dengan menggunakan metode replika, langkah-langkah dalam membuat preparat segar menggunakan metode replika sebagai berikut (Haryanti, S. 2010):

- a) Daun diambil dari tanaman yang sudah ada di titik pengambilan sampel, tumbuh secara alami dan tanpa adanya kontrol dari peneliti.
- b) Daun yang sudah diambil dibersihkan permukaan bawahnya dengan menggunakan tissue guna menghilangkan debu/kotoran yang menempel.
- c) Bagian permukaan bawah daun diolesi dengan kutex berwarna transparan dan dibiarkan 10 menit supaya kutex kering.
- d) Setelah olesan kutex kering ditemplei selotip transparan dan diratakan.
- e) Selotip dikelupas secara pelan-pelan kemudian ditempelkan pada gelas benda.
- f) Diratakan kemudian diberi label dengan keterangan tempat pengambilan sampel.

- g) Melakukan kalibrasi pada kamera mikroskop dan *Image Raster* dengan bantuan *object glass micrometer*.
- h) Setelah itu melakukan pengukuran pada objek pengamatan dan melakukan pengamatan karakteristik stomata untuk tiap lokasi per bidang pandang menggunakan mikroskop dengan perbesaran yang sama (10 x 40) serta mencatat beberapa parameter yang dibutuhkan dalam penelitian.

3.6 Teknik Pengumpulan Data

- 1) Mencatat data fisik titik pengambilan sampel yaitu konsentrasi HCHO dan TVOC dengan menggunakan alat ukur *Multifunction Air Detector* disajikan dalam Tabel 4.5, suhu dan kelembaban yang diukur dengan menggunakan *Altimeter*, tingkat intensitas cahaya matahari dengan menggunakan Lux meter yang disajikan dalam Tabel 4.14, menghitung jumlah kendaraan yang melintasi titik pengambilan sampel pada waktu pagi, siang, dan sore hari yang disajikan dalam Tabel 4.9.



Gambar 3.2 Pengambilan data fisik di Gunung Galunggung
Sumber: Dokumentasi Penulis (11 Oktober 2020)



Gambar 3.3 Pengambilan data fisik di Terminal Singaparna
Sumber: Dokumentasi Penulis (12 Oktober 2020)



Gambar 3.4 Pengambilan data fisik di Jalan Sukaraja-Mangunreja
Sumber: Dokumentasi Penulis (13 Oktober 2020)

- 2) Pengamatan spesimen di bawah mikroskop yang dilakukan dengan bantuan kamera Optilab tipe *Professional Seri Model MTN001* yang terdapat aplikasi *Image Raster* dan sebelumnya sudah dikalibrasi dengan bantuan *object glass micrometer*, data pengamatan stomata disajikan dalam Tabel 3.3.

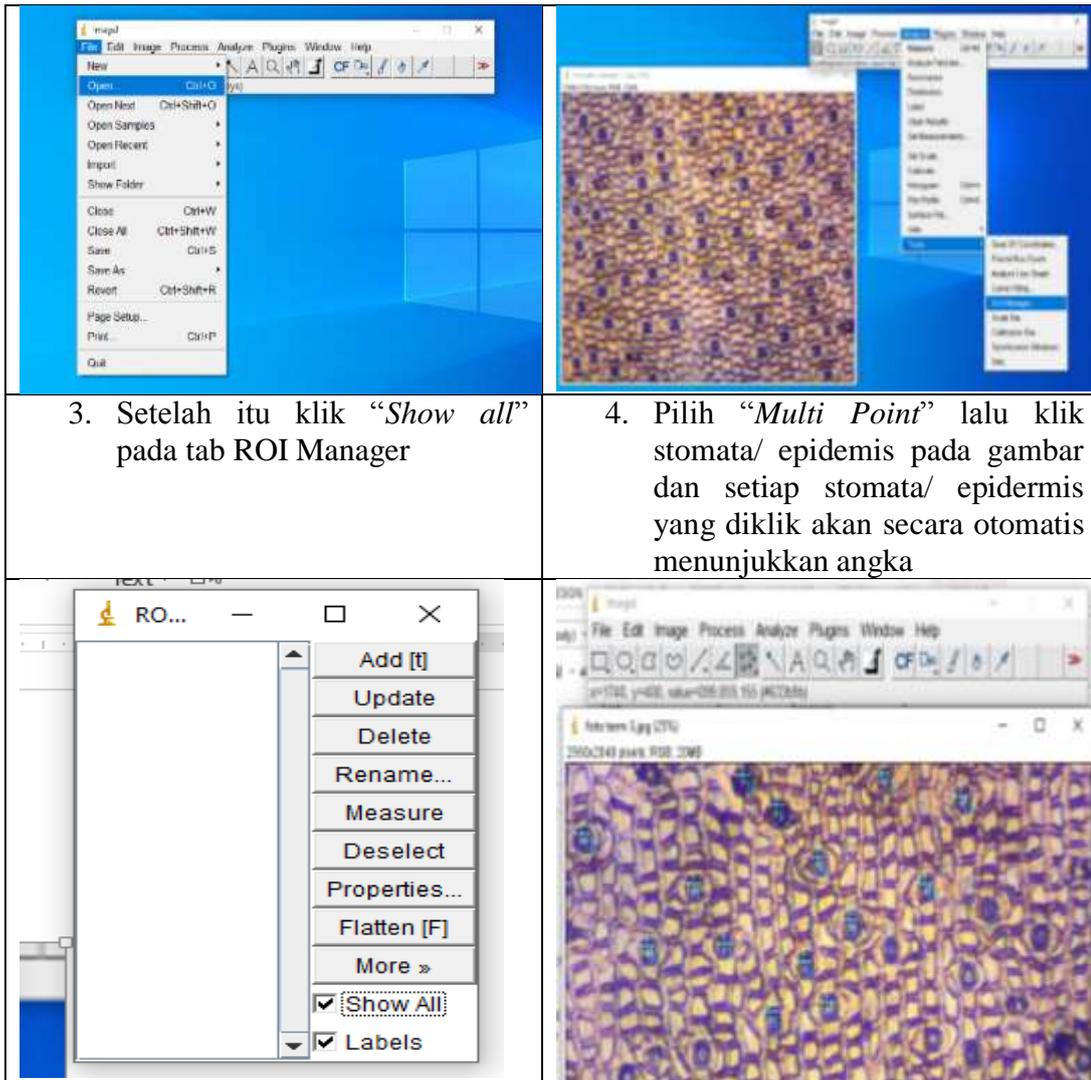


Gambar 3.5 Pengamatan Karakteristik Stomata
Sumber: Dokumentasi Penulis (14 Oktober 2020)

- 3) Menghitung jumlah stomata dan epidermis dengan menggunakan aplikasi *Image-J*. Berikut langkah-langkah perhitungan disajikan pada tabel 3.1

Tabel 3.1 Langkah-langkah perhitungan stomata dan epidermis menggunakan aplikasi *Image-J*

Langkah-langkah Perhitungan Stomata dan Epidermis dengan Aplikasi <i>Image-J</i>	
1. Buka aplikasi <i>Image-J</i> , lalu pilih gambar yang ingin dihitung stomata dan epidermisnya dengan memilih " <i>File</i> " kemudian " <i>Open</i> " pilih gambar lalu "OK"	2. Pilih " <i>Analyze</i> " lalu " <i>Tools</i> " lalu " <i>ROI Manager</i> "



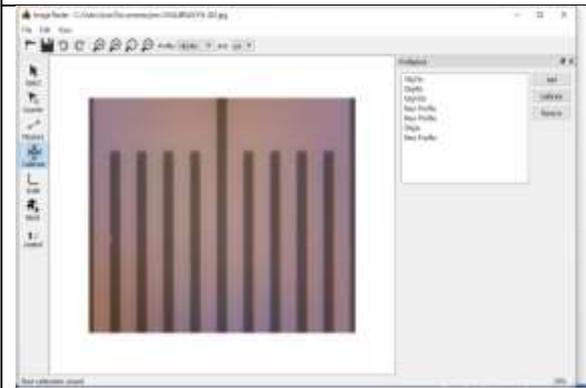
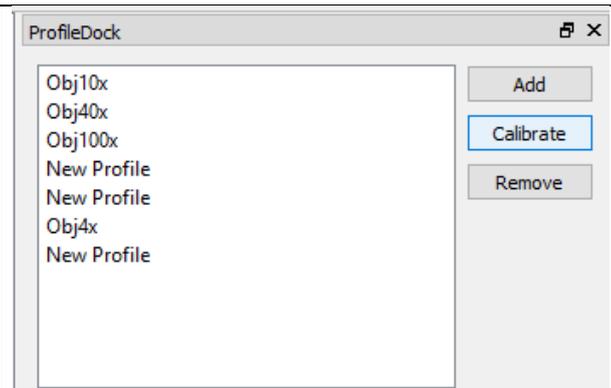
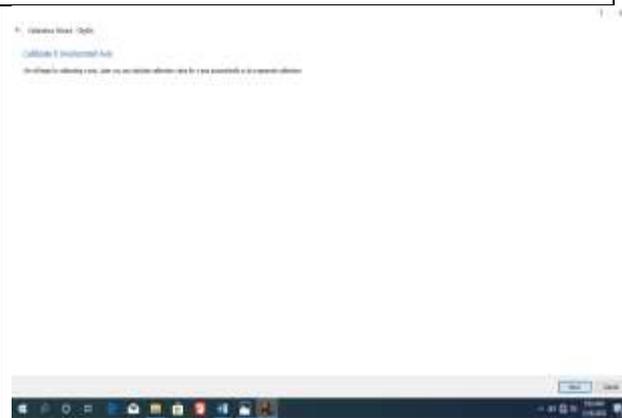
3. Setelah itu klik “*Show all*” pada tab ROI Manager

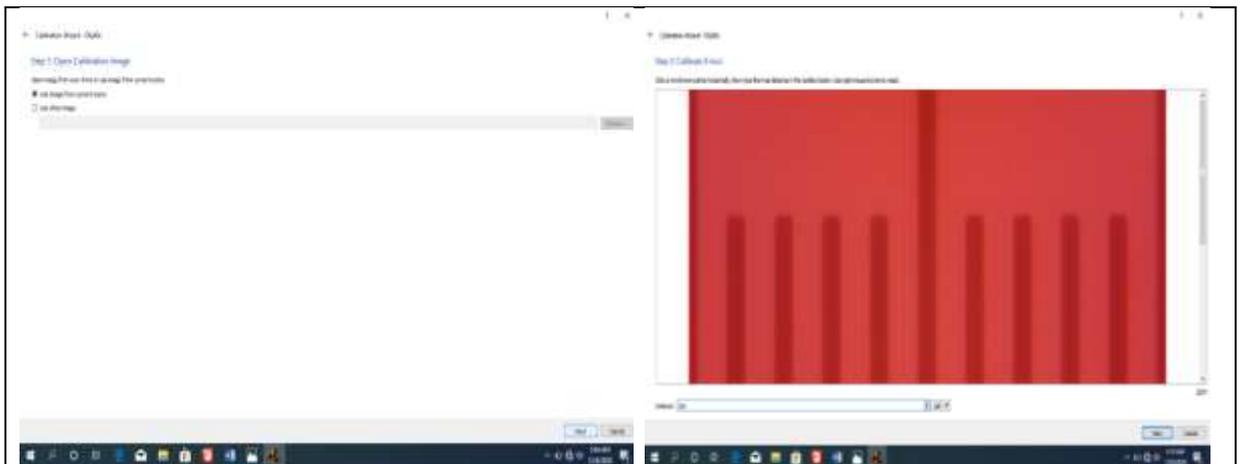
4. Pilih “*Multi Point*” lalu klik stomata/ epidermis pada gambar dan setiap stomata/ epidermis yang diklik akan secara otomatis menunjukkan angka

Sumber: Dokumentasi Penulis

- 4) Mengukur ukuran stomata dengan menggunakan aplikasi *Image Raster* yang sebelumnya dikalibrasi menggunakan *object glass micrometer*. Berikut langkah-langkah mengkalibrasi secara manual disajikan pada tabel 3.2.

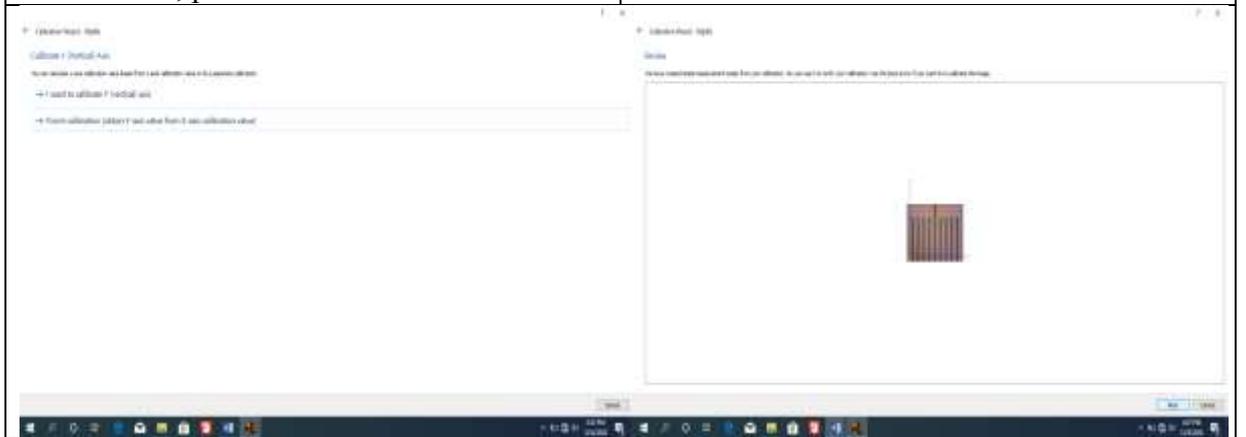
Tabel 3.2 Langkah-langkah Mengkalibrasi dan Mengukur Ukuran Stomata menggunakan aplikasi *Image Raster*

Langkah-langkah mengkalibrasi ukuran stomata dengan menggunakan Aplikasi <i>Image Raster</i>	
1. Buka Aplikasi <i>Image Raster</i> lalu pilih “ <i>File</i> ” kemudian “ <i>Open Image</i> ” dan pilih foto <i>micrometer calibration</i> , lalu pilih icon “ <i>Calibrate</i> ” di panel sebelah kiri, lalu akan muncul menu “ <i>Profile Dock</i> ” di sebelah kanan	2. Pilih perbesaran <i>Profile Dock</i> yang sesuai dengan stomata yang akan di kalibrasi kemudian klik “ <i>Calibrate</i> ”
	
3. Lalu akan muncul jendela untuk memulai kalibrasi, klik “ <i>Next</i> ”.	4. Muncul jendela informasi sumbu X, klik “ <i>Next</i> ”
	
5. Pilih gambar yang akan digunakan untuk kalibrasi, lalu klik “ <i>Next</i> ”	6. Klik titik awal pengukuran, lalu klik ulang di titik akhir pengukuran. Masukkan jarak antara dua titik sesuai ukuran pada mikrometer, lalu klik “ <i>Next</i> ”



7. Muncul jendela untuk kalibrasi sumbu Y, jika sumbu Y ingin dikalibrasi secara otomatis, pilih “*Finish Calibration*”

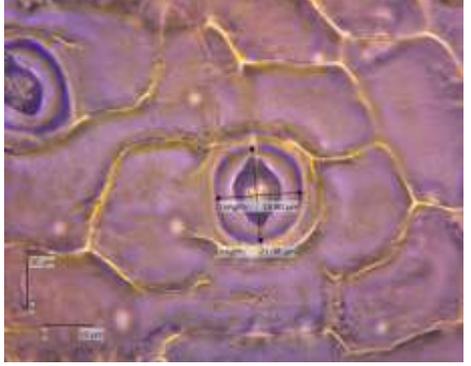
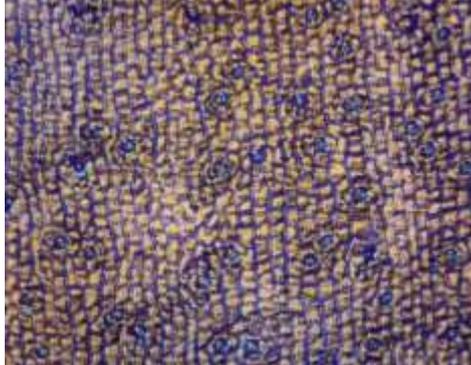
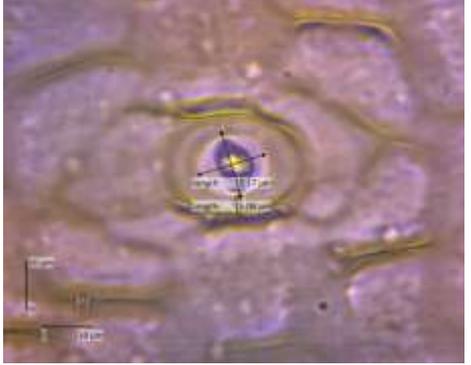
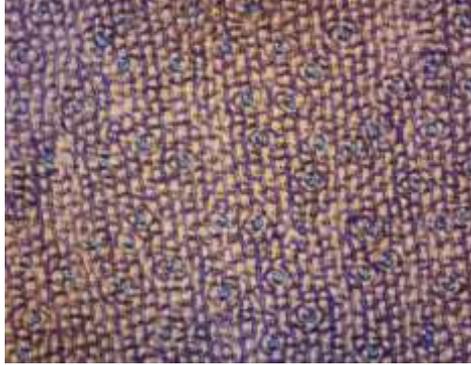
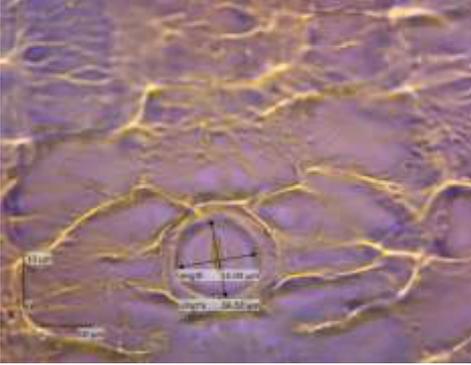
8. Muncul jendela skala sesuai dengan nilai kalibrasi, tekan “*Next*” untuk melanjutkan

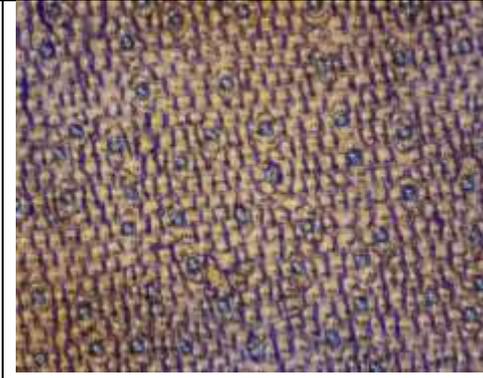
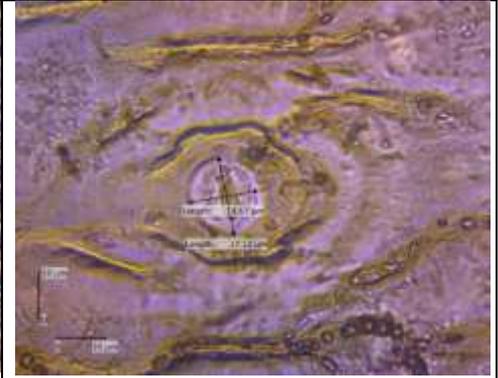
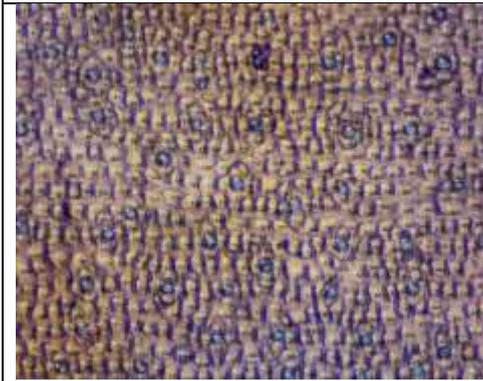
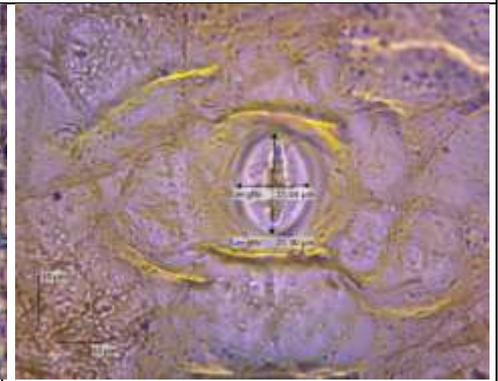
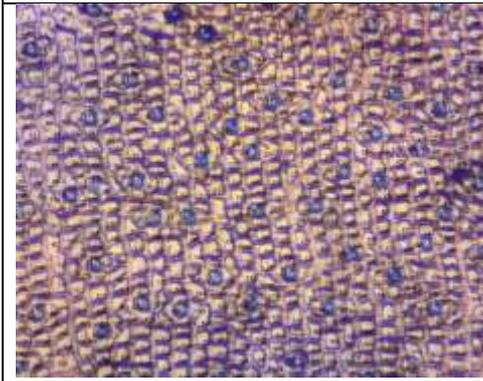
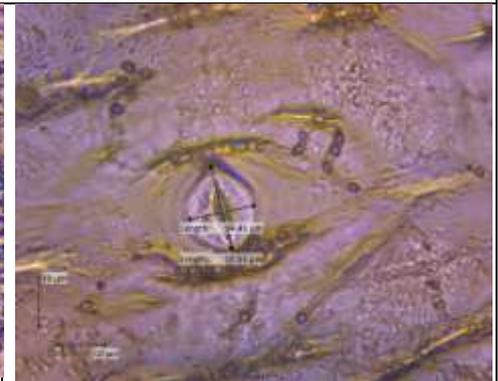
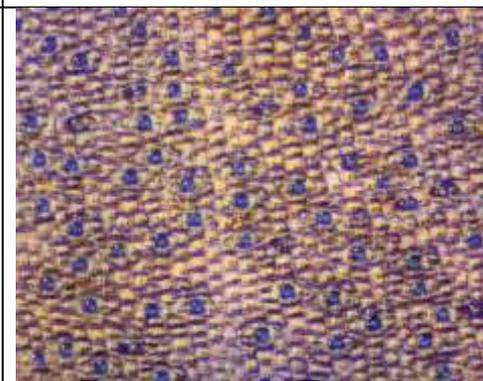
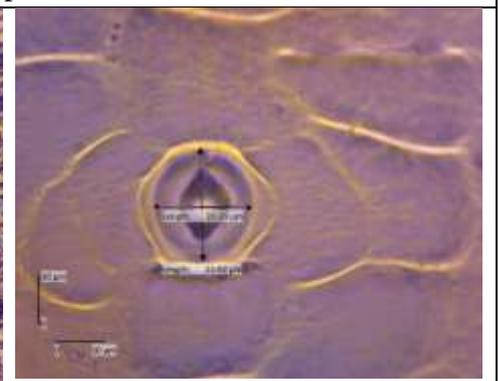


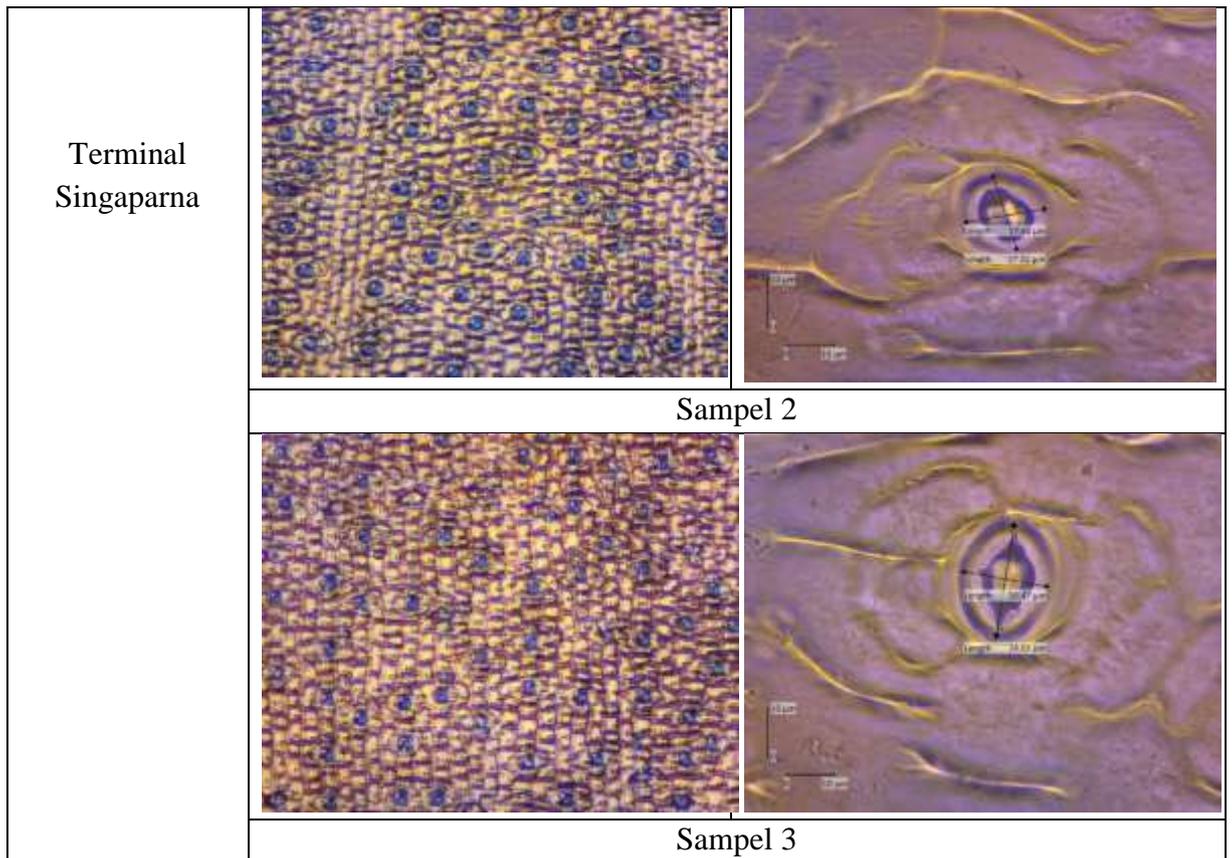
Pilih “*I’m done/finish*” dan kalibrasi selesai

Sumber: Dokumentasi Penulis

Tabel 3.3 Hasil Pengamatan Stomata dan Pengukuran Stomata

Stasiun	Gambar	
Gunung Galunggung		
	Sampel 1	
		
	Sampel 2	
		
	Sampel 3	

		
	Sampel 1	
Jalan Sukaraja- Mangunreja		
	Sampel 2	
		
	Sampel 3	
		
	Sampel 1	



Sumber: Dokumentasi Penulis

Tabel 3.3 diatas menunjukkan hasil pengamatan stomata dan pengukuran stomata yang dilakukan dengan bantuan beberapa aplikasi yaitu *Image-J*, dan *Image Raster*. Setiap sampel daun terdapat dua gambar dimana gambar pertama diambil dengan menggunakan mikroskop perbesaran 10x dan 40x. Pada perbesaran 10x dihasilkan perhitungan stomata dengan menggunakan aplikasi *Image-J*, jumlah stomata ditandai dengan tanda tambah (+) berwarna biru dan jumlah epidermis ditandai dengan titik (.) berwarna hitam. Pada gambar dengan perbesaran 40x merupakan pengukuran panjang dan lebar stomata yang ukurannya sudah dikalibrasi dengan bantuan aplikasi *Image Raster*.

3.7 Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)

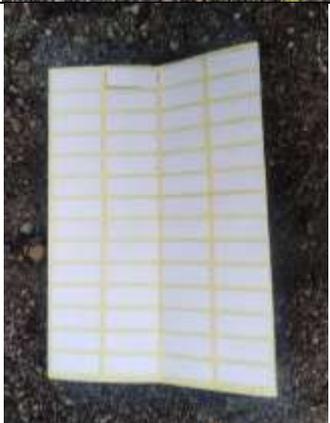
Alat yang dibutuhkan berupa *Multifunction Air Detector*, *Altimeter*, lux meter, mikroskop *olympus* binokuler tipe CX-23, kamera *Optilab* tipe *Professional Seri Model MTN001* yang terdapat aplikasi *Image Raster* dan

sebelumnya sudah dikalibrasi dengan bantuan *object glass micrometer*, aplikasi *Image-J*, gunting, gelas benda, penggaris, selotip transparan, kutex warna transparan, dan label. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun tumbuhan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*) yang diambil dari tiga wilayah dengan tingkat polusi udara yang berbeda di Tasikmalaya.

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3.4 sebagai berikut:

Tabel 3.4 Alat dan Bahan Penelitian

No	Alat	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
1	Lux Meter	Lutron LX-1102 (Mengukur intensitas cahaya)	1 buah	
2	Technical watch (<i>Altimeter, Higr thermometer</i> dan <i>Digital compass</i>)	Eiger (Mengukur suhu dan kelembaban)	1 buah	
3	Gunting	<i>Stainless steel</i> dan plastik (Memotong selotip transparan)	1 buah	

4	Selotip Transparan	Plastik (Merekatkan spesimen pada objek gelas)	1 buah	
5	Kertas Label	No. 112 8x20mm (memberi keterangan pada spesimen)	1 lembar	
6	Objek gelas	Kaca (tempat meletakkan spesimen)	9 buah	
7	Detektor kualitas udara	Intruksi Manual (ZYG-010) (Mengukur tingkat konsentrasi HCHO dan TVOC)	1 buah	

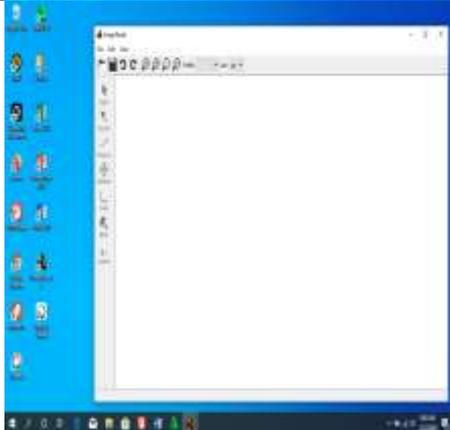
8	Kutex transparan	Tone 10x shine top coat 8ml (Mencetak ulang penampakan spesimen pada daun)	1 buah	
9	Alat tulis	Pulpen (Mencatat data lapangan)	1 buah	
10	Laptop	acer <i>Aspire E51-432 series</i> (Mengumpulkan data spesimen yang dibutuhkan)	1 buah	
11	Kamera Optilab	Optilab Advance (Menghubungkan mikroskop analog menjadi mikroskop digital)	1 buah	
12	Kamera Mikroskop binokuler	Olympus CX-23 (Mendokumentasikan objek penelitian)	1 buah	

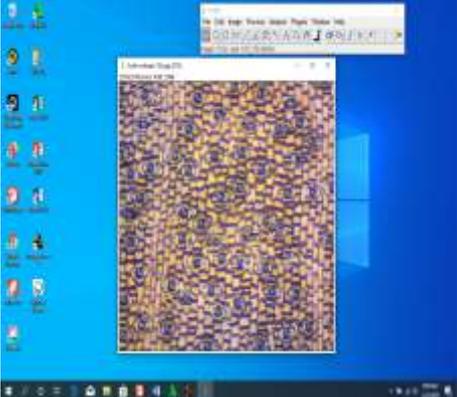
13	<i>Micrometer Calibration</i>	Kaca (Mengkalibrasi secara manual)	1 buah	
14	Pouch sampel	Oriflame Eksklusiv Stockholm (wadah spesimen)	1 buah	
15	Penggaris	Besi (Mengukur panjang titik pengambilan sampel)	1 buah	
16	Daun Anggrek Merpati	Tumbuhan (sampel uji)	9 daun	 (wilayah Terminal Singaparna)

				 <p>(wilayah Jalan Sukaraja-Mangunreja)</p>  <p>(wilayah Gunung Galunggung)</p>
--	--	--	--	--

Sumber: Dokumentasi Penulis

Tabel 3.5 Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian

No	Software	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
1	Aplikasi <i>Image Raster</i>	Software (Menghitung dan mengkalibrasi ukuran stomata)	1 buah	

2	Aplikasi <i>Image-J</i>	Software (Menandai hitungan stomata dan epidermis)	1 buah	
---	-------------------------	---	--------	---

Sumber: Dokumentasi Penulis

3.8 Teknik Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan angka dan secara deskriptif dengan menunjukkan gambar, grafik serta tabel agar dapat memberikan keterangan mengenai karakteristik stomata pada daun Anggrek Merpati. Data kerapatan stomata yang diperoleh dikelompokkan dalam kategori: [kerapatan rendah <math><300/\text{mm}^2</math>], [kerapatan sedang 300-500/ $\text{mm}^2</math>], dan [kerapatan tinggi >500/ $\text{mm}^2</math>]. Perhitungan indeks stomata dengan menggunakan rumus jumlah stomata per jumlah sel epidermis di tambah jumlah stomata di kali dengan 100% (Widianti, Violita & Chatri, 2017).$$

$$\text{Indeks stomata} = \frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{Jumlah sel epidermis} + \text{jumlah stomata}} \times 100\%$$

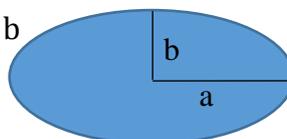
Kerapatan stomata dihitung dengan mengadopsi rumus Anisa (2017).

$$\text{Kerapatan stomata} = \frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{Luas bidang pandang} (\text{mm}^2)}$$

Ukuran stomata dihitung berdasarkan luas areanya dengan asumsi stomata terlihat seperti bangun datar elips, sehingga perhitungan menggunakan rumus luas area elips sebagai berikut (Anonim).

$$\text{Luas Area} = \pi \cdot a \cdot b$$

$$\pi = 3,14$$



Gambar 3.6 Rumus Luas Elips

Hasil perhitungan dari rumus dirata-rata. Setelah hasil diketahui kemudian dianalisis dengan menggunakan uji analisis sidik ragam (ANOVA) menggunakan program SPSS. Analisis data yang digunakan adalah uji analisis varian satu jalan (*one way ANOVA*), yaitu untuk melihat perbandingan rata-rata beberapa kelompok, biasanya lebih dari dua kelompok dengan asumsi-asumsi yang harus dipenuhi yaitu data harus berdistribusi normal dan memiliki varians atau ragam yang sama (homogen), saling bebas atau setiap kelompok tidak saling berhubungan, dan aditif yang artinya data yang dianalisis merupakan data interval/rasio. Jika salah satu saja tidak memenuhi asumsi tersebut maka digunakan analisis statistik nonparametrik Kruskal-Wallis (Tyastirin & Hidayati, 2017).

3.8.1 Uji Prasyarat Analisis

a. Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan bantuan perangkat lunak SPSS yaitu uji shapiro-wilk hal ini dikarenakan jumlah sampel kurang dari 30. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah populasi data berdistribusi normal atau tidak, jika data berdistribusi tidak normal maka lupakan uji parametrik dan metode yang digunakan adalah statistik nonparametrik. Dasar pengambilan keputusan adalah jika nilai Sig. (signifikansi) atau disebut juga nilai probabilitas $< 0,05$, maka data berdistribusi tidak normal atau H_0 ditolak. Tetapi jika nilai Sig. (signifikansi) atau nilai probabilitas $> 0,05$, maka data berdistribusi normal atau H_0 diterima (Tyastirin & Hidayati, 2017).

Jumlah sampel pada penelitian ini adalah sebanyak 3 sampel, jika data berdistribusi tidak normal maka uji hipotesis yang digunakan adalah uji Kruskal-Wallis yang digunakan dalam analisis komparatif untuk menguji lebih dari dua sampel independen (bebas) dengan ketentuan jumlah sampel tidak sama dan antara ketiga sampel tidak saling mempengaruhi. Uji ini untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara ketiga sampel tersebut. Kriteria pengujian diambil berdasarkan nilai probabilitas (Sig.) $> 0,05$, maka H_0

diterima, dan jika nilai probabilitas (Sig.) $< 0,05$, maka H_0 ditolak (Siregar,2013).

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan bantuan perangkat SPSS dengan tujuan untuk mengetahui varian dari beberapa populasi sama atau tidak. Uji ini digunakan sebagai prasyarat dalam analisis *Independent Sample T-Test* dan ANOVA. Uji homogenitas varians dalam penelitian ini dihitung menggunakan uji *levene test*. Dasar pengambilan keputusannya adalah jika nilai Sig. (signifikansi) atau disebut juga nilai probabilitas $< 0,05$, maka dikatakan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah tidak sama, dan jika nilai Sig. (signifikansi) atau disebut juga nilai probabilitas $> 0,05$, maka dikatakan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah sama (Widiyanto,2010).

3.8.2 Uji Hipotesis

Uji asumsi data sudah berdistribusi normal dan memiliki varian data yang homogen maka dilanjutkan dengan uji ANOVA yang dibantu dengan perangkat lunak SPSS, dengan dasar pengambilan keputusan jika nilai signifikansi (Sig.) $> 0,05$ maka memiliki rata-rata yang sama atau H_0 diterima. Dan jika nilai signifikansi (Sig.) $< 0,05$ maka memiliki rata-rata berbeda atau H_0 ditolak (Tyastirin & Hidayati,2017).

3.9 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September sampai November 2020, pengamatan stomata daun Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*) dilaksanakan di laboratorium Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Siliwangi serta tiga wilayah yang berada di Tasikmalaya dengan tingkat polusi udara yang berbeda yaitu terminal Singaparna dengan kategori tingkat polusi udara tinggi, Jalan Sukaraja-Mangunreja dengan kategori tingkat polusi udara sedang dan Gunung Galunggung dengan kategori tingkat polusi udara rendah.

