

III. TATA CARA PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Agrobioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan Januari sampai Maret 2019.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan antara lain benih jagung varietas Pulut dan varietas *Black aztec*, media tanam pasir, aquades, kertas saring, tissue, larutan asam asetat glasial, larutan asam hidroklorid (HCl) 1 N, Aceto-orcein, dan gliserin. Alat yang akan digunakan antara lain mikroskop *B41X* dan optilab, preparat, *cover glass*, oven, lemari pendingin, baki, silet, pipet tetes, pinset, botol flakon, gelas kimia, kertas label, dan alat tulis.

C. Metode Penelitian

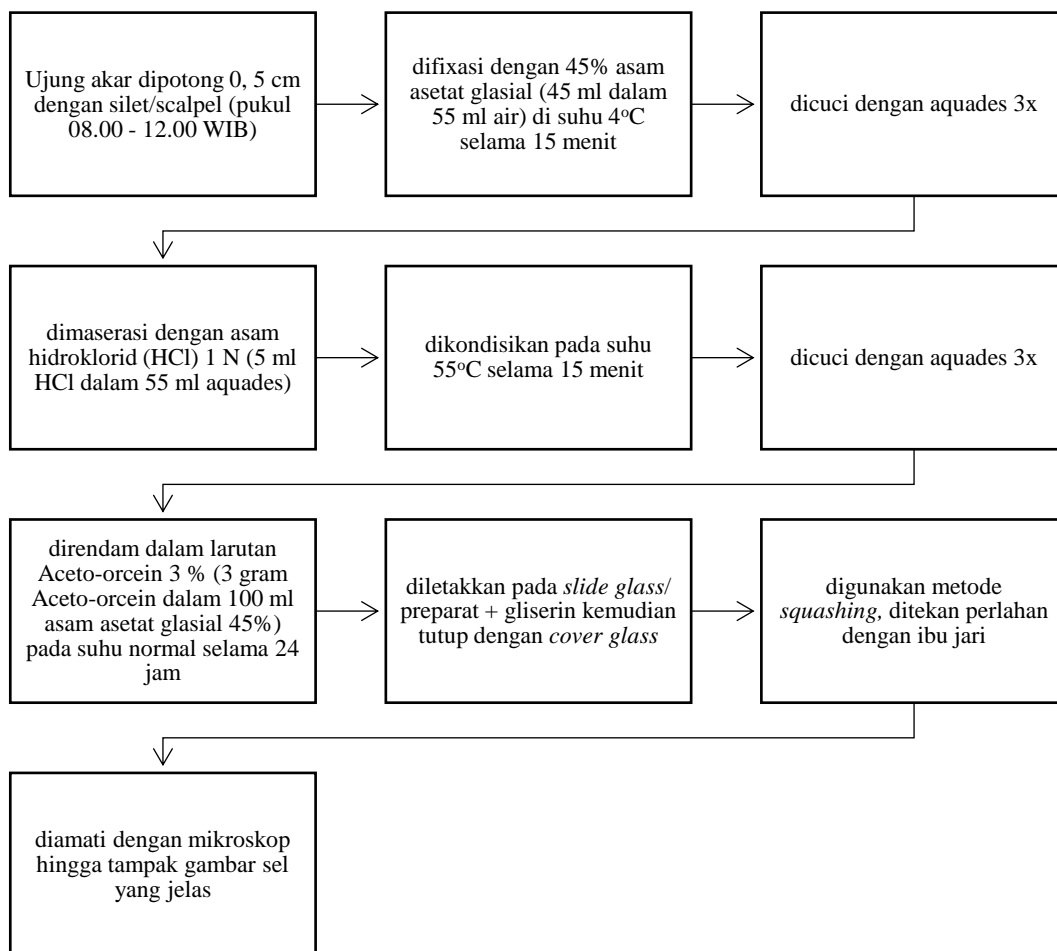
Metode penelitian yang digunakan merupakan metode survei laboratorium melalui pengamatan karakter kromosom pada kedua varietas di laboratorium pada rentang waktu sel mitosis terbaik antara pukul 08.00-12.00 WIB. Menurut (Jahier dan Tanguy, 1996), pengamatan jumlah, ukuran dan bentuk kromosom dapat dilakukan dengan metode *Squashing* yaitu bagian ujung akar meristematis diambil secara acak $\pm 0,5$ cm antara pukul 08.00-12.00 WIB dan diletakkan pada preparat, bahan ditetesi dengan gliserin dan ditutup dengan *cover glass* kemudian dipencet (*squashing*) sampai terbentuk lapisan yang sangat tipis sehingga bagian sel yang

ingin diamati terlihat dengan jelas.

Penelitian ini dilakukan berdasarkan pengamatan mikroskopis dengan parameter panjang lengan pendek kromosom (p) dan panjang lengan panjang kromosom (q) yang dapat diketahui dengan menggunakan *software Image Raster 3.0*. Selanjutnya, dilakukan perhitungan panjang lengan absolut kromosom (p+q), indeks sentromer (IS) dan rasio lengan kromosom (RLK) sehingga dapat diketahui nilai rasio (R) kromosom.

Penelitian ini terdiri macam 2 kultivar yaitu jagung (*Zea mays* L.) varietas Pulut dan varietas *Black aztec*. Setiap kultivar masing-masing terdiri dari 10 sampel dari 10 individu tanaman yang berbeda sehingga terdapat 20 unit percobaan, setiap kultivar masing-masing 10 preparat (Lampiran 1). Pada setiap sampel kedua varietas, masing-masing diambil 1 gambar sel sehingga terdapat 20 gambar sel.

Preparasi kromosom tanaman jagung dilakukan menggunakan metode *Squashing*. Dalam preparasi tersebut, digunakan pewarna kromosom Aceto-orcein 3%. Kemudian, hasil preparasi kromosom diamati dengan menggunakan mikroskop dan dilakukan pengukuran kromosom menggunakan *Image Raster 3.0*. Pengukuran diawali dengan kalibrasi skala/objek mikrometer kemudian dilakukan pengukuran panjang objek pada foto (Lampiran 2). Selanjutnya data hasil pengukuran diolah data pada Ms. Excel 2013. Berikut merupakan skema metode preparasi kromosom menggunakan metode *Squashing* yang digunakan dalam karakterisasi kromosom tanaman jagung (*Zea mays* L.) varietas Pulut dan varietas *Black aztec*.



Gambar 10. Metode preparasi kromosom menggunakan metode *Squashing* yang digunakan dalam karakterisasi kromosom tanaman jagung (*Zea mays* L.) varietas Pulut dan varietas *Black aztec*.

D. Parameter yang Diamati

Jumlah, ukuran dan bentuk kromosom dapat menentukan karakter kromosom suatu individu dengan mengetahui jumlah kromosom, panjang lengan pendek kromosom (p) dan panjang lengan panjang kromosom (q), panjang lengan absolut kromosom (p+q), nilai Indeks Sentromer (IS), dan nilai rasio (R). Pengamatan dilakukan dengan metode *Squashing* menggunakan ujung akar yang diambil secara acak pada setiap individu tanaman 2 varietas jagung. Kemudian, setiap preparat diambil satu gambar sel yang mengalami mitosis pada fase

prometafase kemudian dianalisis jumlah, ukuran dan bentuk kromosomnya. Berikut merupakan parameter yang diamati (Aristya *et al.*, 2015) :

1. Jumlah Kromosom

Kromosom yang tampak pada pengamatan dengan mikroskop BX41 dan optilab kemudian dipotret dan dari hasil cetakan dapat dihitung jumlah kromosomnya sehingga diketahui jumlah kromosom pada setiap sel.

2. Panjang Lengan Pendek Kromosom (p) dan Panjang Lengan Panjang Kromosom (q)

Untuk mengetahui karakter suatu kromosom, dilakukan pengukuran panjang lengan pendek kromosom (p) dan panjang lengan panjang kromosom (q) menggunakan *software* Image Raster 3.0.

3. Panjang Lengan Absolut Kromosom (p+q)

Panjang absolut adalah panjang total atau keseluruhan kromosom. Panjang lengan absolut diperoleh dengan menjumlah panjang lengan pendek kromosom (p) dengan panjang lengan panjang kromosom (q). Rumus perhitungan panjang lengan absolut kromosom (Levan *et al.*, 1964):

$$\text{Panjang lengan absolut} = p + q$$

4. Nilai Indeks Sentromer (IS)

Berdasarkan letak sentromer, bentuk kromosom dibedakan menjadi 4 macam yaitu metasentrik, submetasentrik, akrosentrik dan telosentrik. Letak sentromer merupakan salah satu sifat morfologi kromosom yang

penting dalam identifikasi kromosom. Antara kromosom yang berbentuk metasentrik dan submetasentrik terkadang tidak dapat dibedakan secara langsung satu dengan yang lainnya. Bentuk kromosom ditentukan berdasarkan perhitungan nilai *indeks sentromer* (IS), yaitu perbandingan antara panjang lengan pendek kromosom (p) dengan panjang absolut kromosom (p + q).

Rumus perhitungan nilai Indeks Sentromer (IS) (Levan *et al.*, 1964):

$$IS = \frac{p}{p+q} \times 100$$

5. Nilai Rasio Lengan Kromosom (RLK)

Selain indeks sentromer, nilai rasio lengan pendek terhadap lengan panjang (RLK) juga dapat digunakan untuk mengetahui bentuk kromosom. Nilai RLK didapatkan dengan membandingkan panjang lengan panjang kromosom (q) terhadap panjang lengan pendek kromosom (p).

Rumus perhitungan nilai Rasio Lengan Kromosom (RLK) (Levan *et al.*, 1964):

$$RLK = \frac{q}{p}$$

6. Nilai Rasio (R)

Nilai rasio (R) diperoleh dari perbandingan antara panjang absolut kromosom terpanjang dan panjang absolut kromosom terpendek. Nilai rasio (R) didapatkan dengan cara nilai panjang absolut kromosom diurutkan menggunakan *software* Microsoft Excel yaitu setelah didapatkan

panjang absolut kromosom, Indeks Sentromer (IS) dan Rasio Lengan Kromosom (RLK), kromosom diurutkan lagi berdasarkan panjang absolut kromosom menggunakan menu *Sort, Descendence*. Setelah menu *Sort* dieksekusi, tampilan tabel ukuran absolut kromosom akan mengurutkan panjang absolut kromosom dari yang terpanjang di baris paling atas dan yang terpendek di baris paling bawah (Aristya *et al.*, 2015).

Rumus perhitungan nilai R (Levan *et al.*, 1964):

$$R = \frac{(p+q)_{\text{terpanjang}}}{(p+q)_{\text{terpendek}}}$$

Nilai R tersebut menunjukkan variasi ukuran kromosom. Semakin besar nilai R menunjukkan variasi ukuran kromosom semakin besar, sedangkan selisih nilai R antar tanaman atau kultivar dapat digunakan untuk menunjukkan perbedaan karakter kromosom atau variasi genetik pada kultivar yang diteliti (Aristya *et al.*, 2015).

E. Analisis Data

Data hasil pengamatan karakter kromosom tanaman jagung (*Zea mays* L.) varietas Pulut dan *Black aztec* berupa jumlah, bentuk dan ukuran disajikan dalam bentuk gambar dan idiogram, kemudian dianalisis secara deskriptif. Analisis deskriptif dapat dilakukan dengan cara membandingkan berbagai teori maupun *literature*.