

IV. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2001. Pengambilan sampel polen pisang kultivar dilaksanakan di Kebun Plasma Nutfah Pisang Dinas Pertanian Kotamadya Yogyakarta. Pengambilan sampel polen pisang liar dan hias dilaksanakan di Kebun Raya Bogor. Pembuatan preparat mikroskopis polen pisang dilaksanakan di Laboratorium Mikroteknik Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Analisis dan identifikasi polen pisang dilaksanakan di Laboratorium Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi Universitas Diponegoro.

B. Alat dan Bahan

B.1. Alat

Tabel 2 . Alat yang digunakan dalam penelitian .

No.	Alat	Kegunaan
1.	Sentrifuge	Pemisahan bahan dari zat yang tidak berguna
2.	Vortex	Pencampuran bahan dengan pelarut dan pewarna
3.	Mikroskop binokuler	Memperjelas bahan sebelum dibuat preparat awetan
4.	Mikroskop	Memperjelas morfologi polen
5.	Mikrometer	Pengukuran polen
6.	Objek gelas dan gelas penutup	Tempat preparat polen
7.	Kompur listrik	Pemanas larutan
8.	Botol kecil	Tempat polen pada saat pengambilan sampel
9.	Jarum Pentul	Pengorek polen dari bunga pisang
10.	Tabung vial	Tempat larutan sampel

B.2. Bahan

Tabel 3. Bahan yang digunakan dalam penelitian.

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Sampel polen pisang kultivar antara lain : - kepok (ABB) - emas (AA) - klutuk/batu (BB) - raja 1 (AAB) - ambon (AAA)	Pembuatan preparat polen
2.	Sampel polen pisang liar antara lain : - <i>Musa salaccensis</i> - <i>Musa acuminata</i> Cola - <i>Musa acuminata</i>	Pembuatan preparat polen
3.	Sampel polen pisang hias : <i>Heliconia</i> sp	Pembuatan preparat polen
4.	Larutan asam asetat glasial 75 %	Pendehidrasi polen
5.	Aquadest	Pelarut bahan
6.	Alkohol	Pelarut bahan
7.	Larutan asam sulfat pekat	Pendehidrasi polen
8.	Larutan HCl 10 %	Pencucian bahan
9.	Larutan saffranin 1 %	Pewarna bahan
10.	Gliserin jelli	Pengeringan preparat polen
11.	Parafin	Penutup tepi dan sudut gelas benda dengan gelas penutup

C. Cara Kerja

C.1. Pengambilan sampel polen

Pengambilan polen pisang dilakukan pada saat terjadi pembungaan pada pisang. Bunga pisang yang sudah mekar pada braktea pertama dibuang, lalu diambil bunga pisang dari braktea ke dua. Pengambilan polen pisang dilakukan dengan cara mengorek kepala sari bunga pisang dengan jarum pentul. Sampel polen pisang dimasukkan dalam botol kecil yang telah berisi larutan asam asetat glasial.

C.2. Preparasi polen pisang

Preparasi polen pisang ini dilakukan berdasarkan metode dari Faegri dan Iversen (1989) dan Soeradikoesoemo, 1987 dalam Peni (1997) adalah sebagai berikut:

- Sampel polen dimasukkan dalam tabung berisi larutan asam asetat glasial, dibiarkan selama 24 jam. Larutan asam asetat glasial berguna untuk dehidrasi butir polen.
- Sampel polen dimasukkan dalam tabung vial, selanjutnya dilakukan sentrifuge (500-1000rpm) untuk menghomogenkan polen, cairan dibuang dan ditambahkan campuran asam asetat glasial dengan asam sulfat pekat (9ml:1ml).
- Tabung tersebut dididihkan dalam "waterbath" selama 10 menit, lalu diturunkan suhunya selama 15 menit.
- Kemudian dilakukan sentrifuge, cairan dibuang dan diganti dengan alkohol, dilakukan sentrifuge selama 15 menit. Setiap kali penggantian larutan tabung dilakukan vortex dan ditambahkan larutan sukrosa 30% agar polen terpisah dari lapisan tapetum.
- Polen diamati di bawah mikroskop binokuler.
- Apabila polen masih tampak keruh maka dilakukan "bleaching". Dilakukan "bleaching" yaitu ditambahkan 2 cc asam asetat glasial, 2-3 tetes natrium chlorat, 2-3 tetes HCl.
- Dilakukan sentrifuge selama 15 menit, cairan dibuang dan endapan dicuci dengan aquadest. Setiap kali pencucian disentrifuge selama 15 menit.

- Aquadest dibuang, ditambah zat warna saffranin dan dibiarkan selama beberapa menit.
- Dicuci dengan aquadest 2-3 kali, diganti gliserin jelli. Gliserin jelli dimaksudkan untuk pengeringan dan pada saat pembuatan preparat polen.
- Polen diletakkan pada gelas benda dan ditutup dengan gelas penutup, pada sudut-sudut dari gelas penutup dioleskan parafin.
- Dilakukan pengamatan polen di bawah mikroskop
- Dilakukan pemotretan polen.

C.3. Identifikasi polen

Polen diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran $40 \times 10\mu$ dan $100 \times 10\mu$ diolesi minyak emersi untuk melihat morfologi polen antara lain unit polen, polaritas polen, simetri dan bentuk polen, jumlah dan tipe aperture serta ornamentasi exine. Identifikasi polen berdasarkan kunci identifikasi polen menurut Andrews et al (1973).

D. Parameter yang diamati

Parameter yang diamati pada polen menurut Erdtman (1952) adalah sebagai berikut :

- Unit polen
- Polaritas polen
- Simetri polen
- Bentuk polen berdasarkan indeks P/E
- Tipe dan jumlah aperture
- Ornamentasi exine

E. Metode Analisis

Analisis polen dilakukan secara deskriptif, sehingga terlihat persamaan maupun perbedaan morfologi polen antara pisang kultivar, liar dan hias. Kemudian untuk mengetahui hubungan kekerabatan beberapa pisang kultivar, liar dan hias dilakukan penghitungan Indeks Similaritas dan Indeks Disimilaritas menurut Davis dan Heywood (1973). Adapun rumus Indeks Similaritas dan Indeks Disimilaritas adalah sebagai berikut :

$$IS = \frac{Ns}{Ns+Nd} \times 100$$

$$ID = 100 - IS$$

Dimana :

IS : Indeks Similaritas

ID : Indeks Disimilaritas

Ns : Jumlah karakter yang berpasangan

Nd : Jumlah karakter yang tidak berpasangan

Selanjutnya dari Indeks Disimilaritas dibuat dendogram untuk melihat secara lebih jelas jauh dekatnya hubungan kekerabatan beberapa tanaman pisang kultivar, liar dan hias (Macnaily, 1995).