

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Mikroteknik Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta. Penelitian ini telah dimulai pada bulan Desember 1996- Maret 1997. Penanaman tanaman bawang dimulai pada bulan November 1996 - Februari 1997 di Tembalang Semarang.

#### B. Bahan dan Alat

Bahan : bibit berupa umbi dari keempat jenis bawang, yaitu bawang putih, bawang merah, bawang bombay dan bawang daun, asam asetat 45%, HCl 1N, 8-hidroksiquinolin 0,002M, aceto-orcein 2%, tanah dan pupuk kandang.

Alat : gelas preparat, 'cover glass', mikroskop, silet, petridish, botol kecil, kertas saring, fotomikrografi, gunting, milimeter blok dan polibag.

#### C. Cara kerja

##### 1. Penanaman tanaman bawang.

Penanaman ini dilakukan dengan tujuan untuk mengamati adanya perbedaan morfologi luar tanaman bawang.

Bibit berupa umbi dari keempat jenis tanaman bawang ditanam di polibag yang berukuran sama. Perbandingan tanah dan pupuk kandang adalah 1 : 1.

Tiap jenis ditanam tiga tanaman. Penanaman dilakukan selama tiga bulan. Kemudian dilakukan identifikasi ciri-ciri morfologi luarnya, meliputi : tinggi tanaman, bentuk dan warna daun, ukuran daun, bentuk.

## 2. Pembuatan preparat kromosom dengan metode "squashing".

Umbi dari keempat jenis tanaman bawang diletakkan pada petridish yang berisi air. Setelah tiga hari, muncul akar lalu akar dipotong bagian ujungnya yang berwarna putih pada jam 08.00 - 10.00.

Ujung yang telah dipotong tadi direndam dalam 8-hidroksi quinolin 0,002M pada suhu 4 °C selama 24 jam, sebagai praperlakuan. Kemudian dicuci dengan akuades 3 kali. Difiksasi dengan menggunakan asam asetat 45% selama 15 menit pada suhu 4 °C. Kemudian dilunakkan dalam HCl 1N pada suhu 60 °C selama 2 menit.

Dilakukan pewarnaan dengan asetoorcein 2% selama 2 jam. Kemudian spesimen diletakkan pada gelas preparat, ditetesi dengan gliserin lalu ditutup dengan gelas penutup.

Dilakukan "squashing" dengan menggunakan ujung jari dan ditekan-tekan agar sel-sel lebih menyebarkan. Kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran kecil. Pada tahap metafase kromosom dipotret dengan fotomikrografi pada perbesaran 1000x.

### 3. Pembuatan kariotipe.

Hasil pemotretan kromosom kemudian di "cropping" 5R, lalu kromosom digunting sesuai dengan bentuknya. Kromosom hasil pengguntingan kemudian dihitung jumlahnya.

Pengukuran panjang lengan kromosom dengan cara :

Panjang lengan diukur dengan satuan milimeter. Pengukuran panjang kromosom meliputi lengan panjang dengan lengan pendek kromosom. Kemudian ukuran lengan kromosom dikonversikan ke dalam satuan mikron, dengan cara seperti pada Lampiran 1. Dari hasil pengukuran panjang lengan, lengan pendek = p, dan lengan panjang = q, maka dilakukan pengukuran :

$$* \text{ Rasio lengan} = q/p$$

$$* \text{ Panjang total} = q + p.$$

$$* \text{ Panjang relatif} = \frac{q + p \times 100}{Z [ q + p ] \text{ set kromosom haploid}}$$

$$* \text{ Indeks sentromer} = \frac{p \times 100}{p + q}$$

(Powar, 1988; Suryo, 1995).

Menentukan pasangan kromosom dengan cara :

Mula-mula kromosom dalam satu sel diberi nomor 1 dan seterusnya secara acak, kemudian pasangan kromosom ditentukan dengan menggunakan diagram pencar, yaitu dengan memplotkan panjang total sebagai sumbu X dan rasio lengan sebagai sumbu Y. Setiap titik dalam diagram pencar diberi

nomor sesuai dengan nomor kromosom. Kromosom kemudian dipasang-pasangkan berdasarkan dua titik yang berdekatan. Apabila terdapat lebih dari dua titik yang berdekatan, penentuan pasangan kromosom dapat dilakukan dengan melihat bentuk kromosom. Bentuk kromosom yang sama menunjukkan pasangan yang sama. Pasangan-pasangan kromosom ini kemudian dipergunakan untuk pembuatan idiogram.

#### 4. Pembuatan idiogram.

Pembuatan idiogram dilakukan dengan cara merata-rata panjang total setiap pasangan kromosom dari yang terkecil sampai yang terbesar. Kemudian pasangan-pasangan kromosom ini dikelompokkan menurut rasionya, yaitu :

- pasangan kromosom dengan rasio  $1,0 - < 1,7$  disebut metasentrik.
- pasangan kromosom dengan rasio  $1,7 - < 3,0$  disebut submetasentrik.
- pasangan kromosom dengan rasio  $3 - < 7$  disebut subtelosentrik.
- pasangan kromosom dengan rasio  $> 7$  disebut telosentrik (Powar, 1988; Roland, 1970).

## 5. Pengamatan sitologi

Pengamatan sitologi setiap jenis tanaman bawang meliputi :

1. Jumlah kromosom
2. Morfologi kromosom, yaitu panjang lengan pendek, panjang lengan panjang, panjang total, panjang relatif, rasio lengan, indeks sentromer dan tipe kromosom.
3. Penyusunan kariotipe.
4. Penyusunan idiogram.

