

## Modifikasi Metode Preparasi Pewarnaan Kromosom Pada Akar Kangkung (*Ipomoea reptans*)

Tri Puji Astuti<sup>1\*</sup>, Ike Apriani<sup>2</sup>, NurulFadhillah<sup>3</sup>, Maryati Wendira<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup>Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah  
Palembang

\*email: tripujiastuti2705@gmail.com

### ABSTRAK

Pewarnaan kromosom dilakukan untuk mempermudah perhitungan jumlah kromosom. Metode pewarnaan yang optimal dapat membantu dalam studi penentuan keragaman dan tingkat ploidi suatu tanaman. Pewarnaan pada preparat bertujuan untuk memperjelas dan mempertajam gambaran kromosom sehingga mempermudah pengamatan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode pewarnaan kromosom yang tepat dan sederhana. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif yang meliputi kejelasan preparat dan kekontrasan warna, yang terdiri dari 3 perlakuan, yaitu P<sub>1</sub> (kontrol) menggunakan aquadest, P<sub>2</sub> perlakuan dengan menggunakan HCL : asam asetat glasial 45% dengan perbandingan 3 : 1 yang dipanaskan selama 10 menit pada suhu 60°C dan direndam acetocarmin selama 15 menit dan P<sub>3</sub> perlakuan dengan menggunakan asam asetat glasial 45% direndam selama 2 jam dan pemanasan ujung akar menggunakan HCL selama 3-4 menit, selanjutnya direndam menggunakan asam acetocarmin selama 20 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P<sub>3</sub> menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Metode pewarnaan kromosom dari semua perlakuan belum menunjukkan hasil yang tepat dan sederhana.

**Kata Kunci:** *Pewarnaan Kromosom, Asam Acetocarmin, ujung akar Ipomoea reptans*

### ABSTRACT

Chromosome staining is done to facilitate the calculation of the number of chromosomes. The optimal coloring method can help in the study of determining the diversity and level of ploidy in a plant. Coloring on preparations aims to clarify and sharpen the chromosome image so as to facilitate observation. This study aims to get the right and simple chromosome staining method. This study used a qualitative descriptive method which includes clarity of preparation and color contrast, consisting of 3 treatments, namely P<sub>1</sub> (control) which only uses aquadest, P<sub>2</sub>: Treatment using HCL: 45% glacial acetic acid with a 3: 1 ratio heated during 10 minutes at 60°C and soaked with acetocarmin for 15 minutes and P<sub>3</sub>: Treatment using 45% glacial acetic acid soaked for 2 hours and heating the root tip using HCL for 3-4 minutes, then soaked with acetocarmin acid for 20 hours. The results showed that P<sub>3</sub> treatment showed better results compared to other treatments. The chromosome staining method of all treatments has not shown the exact and simple results.

**Keywords:** *Chromosomal Staining, Acetocarmin Acid, root tip Ipomoea reptans*

© Copyright © 2018 Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang. All Right Reserved

## PENDAHULUAN

Kromosom merupakan benang-benang yang terdapat pada inti sel yang berfungsi membawa DNA yang bersifat bawaan dan berisi tentang sebagian besar informasi untuk aktivitas regulasi sel sehingga memiliki peranan yang sangat penting bagi keberlangsungan suatu makhluk hidup. Kromosom terdapat didalam inti sel, dengan jumlah yang berbeda pada setiap organisme. Pada sel yang aktif membelah kromosom akan tampak lebih jelas. Teknik penggandaan kromosom pada tanaman biasanya diseleksi berdasarkan penampilan fenotipnya saja, sedangkan perubahan genotip jarang diteliti. Perubahan genotip dapat dilihat dari perhitungan jumlah kromosom (Wulandari, 2015).

Teknik perhitungan kromosom harus didukung dengan metode pewarnaan yang tepat. Pada kromosom, metode pewarnaan kromosom didasarkan pada pola kondensasi pola kromosom pada tahap mitosisnya, seperti daerah heterokromatin, konstiksi, dan nukleolar. Metode pewarnaan yang biasa digunakan adalah metode Darnaedi (1991) dan metode Fukui (1996). Pada metode penghitungan jumlah kromosom Darnaedi (1991), pada ujung akar dengan menggunakan HCL, Asam asetat glasial 45%, dan asam aseto-orcein. Sedangkan metode Fukui (1996) dengan menggunakan Etanol, HCL, dan Asam asetat, dan asam aseto-orcein juga dapat menghasilkan hasil pengamatan yang baik. Kedua metode tersebut menggunakan aceto-orcein sebagai pewarna.

Alternatif pewarnaan kromosom dapat menggunakan zat warna lainnya, seperti asam acetocarmin. Menurut Suntoro (1983) acetocarmin adalah larutan pewarna yang digunakan untuk mewarnai jaringan, untuk pemeriksaan dibawah mikroskop. Acetocarmin

merupakan campuran dari carmin dan asam asetat. Carmin merupakan zat warna alam, zat warna ini diperoleh dari jenis insekta golongan Hemiptera yang disebut *Coccus cacti*. Pewarnaan carmin paling banyak digunakan untuk mewarnai nukleus. Dengan demikian, penelitian ini perlu dilakukan dalam penggunaan pewarna alternatif acetocarmin.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 yang bertempat di Laboratorium Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang.

### Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan alat sebagai berikut: Gelas ukur 100 ml, gelas beker, silet/curter, hotplate, cawan petri, mikroskop, object glass, deck glass, dan pipet tetes. Bahan yang digunakan sebagai berikut: Aquades, asam klorida (HCl), asam asetat glasial 45%, asam asetokarmin.

### Prosedur Penelitian

Rancangan percobaan pada penelitian akar kangkung (*Ipomoea reptans*) ke dalam pewarna acetocarmin sebagai berikut:

#### 1. Seleksi Jenis Akar Sesuai Untuk Pewarnaan Kromosom

Pada percobaan ini dengan menggunakan akar kangkung (*Ipomoea reptans*) yang ambil dari akar yang paling muda.

#### 2. Pemotongan Ujung Akar

Proses perkecambahan benih kangkung dilakukan dilaboratorium Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang dengan menggunakan medium rockwool dan aquades. Setelah tumbuh akar dengan panjang sekitar 0,5 cm,

langkah selanjutnya adalah proses pemotongan ujung akar, dimana akar tersebut dipotong sekitar 5 mm.

### 3. *Pembuatan Preparat*

Akar dicuci dengan air bersih, bagian akar dipotong sepanjang kira-kira 5 mm dari ujung akar. Pada perlakuan P<sub>1</sub> akar hanya dicuci dengan aquadest kemudian diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 40 x 100. Pada perlakuan P<sub>2</sub> potongan akar direndam dalam campuran larutan HCl : asam asetat glasial 45% perbandingan 3 : 1 selama 10 menit yang dipanaskan menggunakan hotplate pada suhu 60°C kemudian potongan akar diambil dan dicuci bersih dengan aquadest sebanyak tiga kali pengulangan. Tahap berikutnya, potongan akar direndam dengan larutan acetocarmin selama 15 menit. Setelah pewarnaan, preparat diamati dibawah mikroskop pada perbesaran 40 x 100.

Pada perlakuan P<sub>3</sub> potongan akar difiksasi dengan menggunakan larutan asam asetat glasial 45% selama 2 jam, setelah selesai potongan akar diambil dan dicuci dengan aquadest sebanyak tiga kali pengulangan. Potongan akar yang

telah difiksasi selanjutnya dihidrolisis dengan larutan HCl selama 3-4 menit dan dipanaskan menggunakan hotplate pada suhu 60°C kemudian HCl dibuang dan dicuci dengan aquades sebanyak tiga kali pengulangan. Pewarnaan kromosom dilakukan dengan cara merendam potongan akar dalam larutan acetocarmin selama 20 jam. Setelah pewarnaan, bagian meristematis (kurang lebih 0,5 mm dari ujung akar) diambil dan diletakkan di atas gelas obyek. Selanjutnya potongan akar tersebut ditutup dengan gelas penutup yang diletakkan di atas potongan akar dan dilakukan penekanan (*squash*) dengan ibu jari secara perlahan. Kemudian preparat diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40 x 100.

### 4. *Pengamatan dan Pemotretan*

Preparat yang telah diperoleh kemudian diamati di bawah mikroskop dan diambil gambar terbaik dari hasil pengamatan menggunakan kamera.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan dari 3 sampel preparat akar tanaman kangkung menggunakan pewarna acetocarmin, yaitu dari sebagai berikut:

**Tabel 1: kualitas preparat akar (*Ipomoea reptans*) dengan perlakuan jenis pelarut dan lama pewarnaan.**

Perlakuan	Kejelasan Preprat	Kekontrasan Warna
P <sub>1</sub>	+ (tidak jelas)	+(tidak kontras)
P <sub>2</sub>	+ (tidak jelas)	+ (tidak kontras)
P <sub>3</sub>	++ (jelas)	++ (kontras)

Keterangan:

P<sub>1</sub>: Pelarut aquadest

P<sub>2</sub>: Pelarut asam acetocarmin dengan perbandingan Asam asetat glasial 45% dan HCl 1% 3 : 1

P<sub>3</sub>: Pelarut asam acetocarmin dengan asam asetat dan HCl

Berdasarkan tabel 1 hasil pengamatan dari preparat akar kangkung (*Ipomoea reptans*) menunjukkan kejelasan preparat dan kekontrasan warna ketika diamati di bawah mikroskop pada perlakuan P<sub>3</sub>. Namun kromosom pada akar tidak terlihat jelas.

Terdapat perbedaan kekontrasan warna dan kejelasan preparat. Pada pelarut aquadest preparat yang diamati dibawah mikroskop menunjukkan hasil pewarnaan preparat dan kekontrasan warna yang tidak baik. Sebab pada perlakuan P<sub>1</sub> akar kangkung dicuci bersih dengan aquadest tanpa menggunakan larutan lain, sehingga hasil hanya menunjukkan bagian warna hijau dan tidak terdapat bagian sel yang terlihat jelas pada gambar 1a.

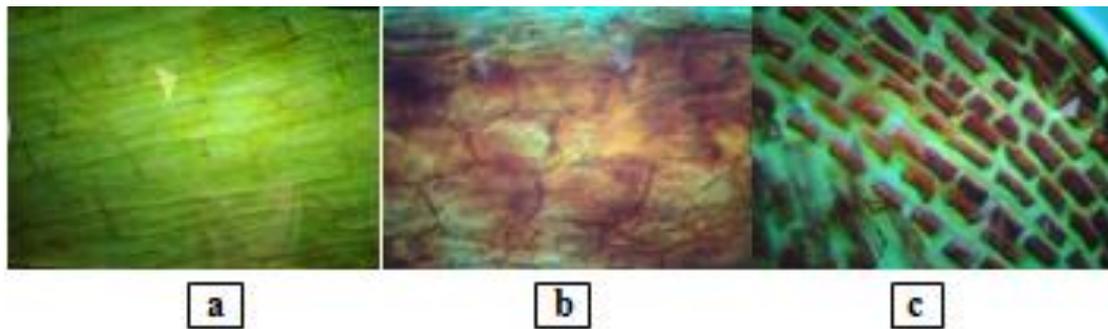
Pada pengamatan P<sub>2</sub> dengan menggunakan pelarut asam acetocarmin dengan perbandingan HCl dan asam asetat glasial 45%, yaitu 3 : 1, hasil pengamatan yang didapatkan kejelasan preparat yang diamati tidak jelas dan warna yang tidak kontras. Larutan HCl 1% berfungsi untuk memperjelas batas antara daerah tudung akar dengan bagian yang lain karena dengan pemberian larutan ini daerah tudung akar akan terlihat lebih putih daripada bagian lainnya pada gambar 1b.

Akar kangkung yang direndam dengan larutan asam acetocarmin, menunjukkan preparat akar kangkung terlihat terwarnai seluruh bagian jaringan, namun tidak terlihat bagian dalam bagian jaringan sel termasuk kromosomnya. Pemberian acetocarmin dalam pembuatan preparat akan mempermudah pengamatan, sedangkan untuk pencacahan bagian akar dengan curter dapat membantu dan mempermudah pengikatan warna. Menurut Suntoro (1983), acetocarmin adalah larutan pewarna yang digunakan untuk mewarnai jaringan, untuk pemeriksaan dibawah mikroskop.

Acetocarmin merupakan campuran dari carmin dan asam asetat. Carmin merupakan zat warna alam, zat warna ini diperoleh dari jenis insekta golongan Hemiptera yang disebut *Coccus cacti*. Pewarnaan carmin paling banyak digunakan untuk mewarnai nukleus. Sedangkan asam asetat merupakan cairan yang tidak berwarna dengan bau yang tajam. Asam asetat ini memiliki fungsi untuk mencegah pengerasan dan mengeraskan kromosom.

Pada pengamatan P<sub>3</sub> dengan menggunakan pelarut asam acetocarmin dengan asam asetat dan HCl, hasil pengamatan yang dihasilkan menunjukkan hasil yang jelas dan warna yang kontras. Setelah diamati dengan mikroskop akar kangkung yang telah diberi pewarna acetocarmin ini menunjukkan hasil yang nyata serta bentuk bagian sel yang beraturan sangat jelas. Pewarnaan yang dihasilkan merata masuk kedalam bagian sel dan tidak seta mewarnai dinding sel. Namun, belum dapat terlihat adanya kromosom yang ada pada bagian dalam sel. Berdasarkan hasil penelitian Izzati (2017), Preparat terlihat jelas pada lama pewarnaan 2 jam dan 3 jam, sedangkan preparat tidak jelas pada pewarnaan 1 jam. Pada pewarnaan 1 jam, dinding sel tampak lebih jelas karena dinding sel mempunyai pH netral dan pewarna alami kulit buah naga merah mempunyai pH asam sehingga warna lebih terikat pada dinding sel. Preparat terlihat jelas pada lama pewarnaan 2 jam dan 3 jam, sedangkan preparat tidak jelas pada pewarnaan 1 jam.

Berdasarkan deskripsi hasil penelitian diatas dapat diketahui teknik pewarnaan yang dihasilkan pada ketiga perlakuan diatas belum memberikan pewarnaan yang sempurna terhadap kromosom. Berikut adalah hasil dari pengamatan ketiga perlakuan setelah diamati dengan mikroskop.



**Gambar 1:** a) Hasil pewarnaan ujung akar dengan pelarut aquadest, b) Pewarnaan ujung akar pada pelarut asam acetocarmin dengan Asam asetat dan HCl 3 : 1, c) Pewarnaan ujung akar pada pelarut asam acetocarmin dengan Asam asetat dan HCl

Hasil analisa yang didapatkan, kejelasan preparat dan kekontrasan warna terdapat pada perlakuan P<sub>3</sub>. Sedangkan pada P<sub>1</sub> dan P<sub>2</sub> pewarnaan belum terlihat baik. Semua perlakuan dalam penelitian hanya menampilkan kejelasan dan kekontrasan warna, namun belum sampai pada kejelasan warna pada kromosom. Menurut Winarto (2011), Akar kangkung merupakan jenis akar yang umumnya sangat sedikit atau bahkan tidak memiliki area tumbuh aktif pada bagian ujungnya dan menjadi lebih keras ketika mengalami proses pewarnaan. Akibatnya proses fiksasi, maserasi sel hingga pewarnaan akar tidak berjalan dengan baik.

#### **KESIMPULAN**

Modifikasi metode pewarnaan kromosom Darnaedi (1991) pada perlakuan P<sub>3</sub> dengan menggunakan larutan asam asetat glasial 45% selama 2 jam, pemanasan dengan larutan HCl selama 3-4 menit dan perlakuan acetocarmin selama 20 jam merupakan metode yang lebih baik untuk mendapatkan hasil pewarnaan pada ujung akar dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Namun belum menampilkan kejelasan warna kromosom.

#### **SARAN**

Untuk pewarnaan kromosom hasil penelitian ini masih dapat diperbaiki untuk meningkatkan hasil pewarnaannya. Perbaikan dapat dilakukan dengan memperhatikan umur akar, waktu maserasi, jenis cat, dan waktu pengecatan.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Daenardi, D. 1991. *Kromosom dalam Taksonomi*. Bogor: Herbarium Bogoriense-Publikang Biologi-LIPI.
- Fukui K. 1996. Chromosome at Mitosis P 1-7. In K Fukui dan S Nakayama (Eds). The United State of America: CRC Press, Inc
- Izzati, Miftahul. 2017. Kualitas Preparat *Allium cepa* Menggunakan Pewarna Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Dengan Pelarut Aquades Dan Asam Sitrat 10 %. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Surakarta: Fakultas Keguruan dan ilmu pendidikan Universitas Muhammadiyah.
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Jakarta: Bhatara Karya Aksara.

Winarto, B. 2011. Pewarnaan Kromosom dan Pemanfaatannya dalam Penentuan Tingkat Ploidi Eksplan Hasil Kultur Anter Anthurium. Jakarta: *Jurnal Hort.* Vol. 12 (2): 117 – 119

Wulandari, Sekar. A dan Wijaya, Randy. T. 2015. Analisis Kromosom Tanaman Jati (*Tectona grandis* Lf) Dengan Metode Pewarnaan. Bogor: *Jurnal Silvikultur Tropika.* Vol 6 (1): 49-54.