

Penentuan waktu perendaman sel (fase mitosis) akar bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) menggunakan safranin untuk mendukung praktikum biologi

*Determination of cell immersion time (Mitosis Phase) roots of onion (*Allium ascalonicum* L.) using safranin to support biological practicum*

Fas Nurussalami Abdullah¹, Adi Surya Jaya², dan Widayat³

¹ Laboratorium Biologi Dasar, Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah: e-mail: fas.nurus@gmail.com

² Laboratorium Ekologi, Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah.

³ Laboratorium Fisiologi, Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah.

Abstract: Cell reproduction is one of the topic in basic biology experiment in Laboratory of FMIPA Unsyiah. This experiment usually has been using safranin 2% for dye the *Allium ascalonicum* root, without soaking time in dye solution. This cause the cell have lack absorption of dye, so it was difficult to observe the mitotic phase. The aims of this research is to determine the optimal duration immerse the root in safranin 2% dye for coloring chromosomes. The design of this study was Completely Randomized Design (RAL) with the duration of immersion as a treatment and performed three replications. The immersion time used was 0 minutes as control (without immersion), 15 minutes, 30 minutes, 45 minutes, and 60 minutes. The result showed that the root immersed in 15 and 30 minute was the optimum duration. Whereas 45 and 60 minute was imperfect duration of submerge the root, because it made the cell difficult to classify the mitotic phase. The results of this research are expected to be applied in cell reproduction chapter in module in the Basic Biology Laboratory of FMIPA Unsyiah, so it facilitate the student to understand the whole mitotic phase.

Keywords: *Allium ascalonicum*, mitosis, soaking time, safranin

Praktikum Pengantar Biologi di Laboratorium Biologi Dasar FMIPA Unsyiah selama ini menggunakan zat warna safranin 2%, tanpa waktu perendaman dalam larutan zat warna. Hal ini menyebabkan kurangnya penyerapan zat warna sehingga menyulitkan pengamatan fase mitosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama perendaman akar *Allium ascalonicum* yang optimal sehingga mewarnai kromosom. Rancangan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lama waktu perendaman sebagai perlakuan dan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Lama waktu perendaman yang digunakan adalah kontrol (tanpa perendaman), 15 menit, 30 menit, 45 menit, dan 60 menit. Hasil yang diperoleh didapatkan perendaman terbaik adalah dalam rentang waktu 15 dan 30 menit. Sedangkan pada preparat dengan perendaman 45 dan 60 menit sulit untuk membedakan sel pada setiap tahap mitosis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat diaplikasikan pada praktikum Pengantar Biologi modul Reproduksi Sel di Laboratorium Biologi Dasar FMIPA Unsyiah, sehingga dapat memudahkan praktikan dalam memahami keempat fase mitosis.

Kata kunci: *Allium ascalonicum*, pembelahan sel, perendaman, safranin

Pendahuluan

Tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan sayuran umbi yang serbaguna yang dapat digunakan sebagai penyedap aneka masakan atau sebagai obat tradisional. Tanaman ini sering digunakan pada pengamatan mitosis karena memiliki pertumbuhan yang cepat, mudah didapat, dan harganya terjangkau. Pada pengamatan mitosis yang menggunakan akar bawang merah akan memudahkan pengamatan karena memiliki jumlah kromosom yang sedikit dan berukuran besar.

Setyawan dan Sutikno (2000) menyatakan bahwa tanaman bawang memiliki ukuran kromosom yang cukup besar sehingga sangat cocok digunakan untuk studi eksperimental mitosis. Menurut Mader (2011), mitosis pada sel tumbuhan khusus terjadi pada jaringan meristematis yang terdapat pada ujung akar dan ujung batang.

Praktikum Pengantar Biologi di Laboratorium Biologi Dasar FMIPA Unsyiah selama ini menggunakan zat warna safranin 2%, tanpa waktu perendaman dalam larutan zat warna. Hal ini menyebabkan kurangnya penyerapan zat warna sehingga menyulitkan pengamatan fase mitosis yang dilakukan oleh mahasiswa dengan keterbatasan waktu praktikum. Kendala seperti ini sering terjadi pada saat pelaksanaan praktikum selama peneliti menjadi laboran di laboratorium Biologi Dasar FMIPA Unsyiah. Oleh karena itu dibutuhkan penelitian lama waktu perendaman dalam zat warna dengan waktu tertentu, sehingga memberikan hasil yang lebih baik dan memudahkan mahasiswa melakukan pengamatan selama praktikum berlangsung.

Pengamatan fase mitosis lebih mudah diamati saat pemotongan akar pagi hari dibandingkan siang atau sore hari. (Abidin, 2014). Anggarwulan *et al.* (1999) mengungkapkan, studi pendahuluan yang dilakukan pagi hari mulai jam 09.00 – 13.00 WIB. Pemotongan akar dilakukan setiap 30 menit dan dibuat preparat dengan metode squash semi permanen, diperoleh waktu optimum jam 09.00 WIB. Oleh karena itu dalam penelitian ini dipilih pengamatan hanya pada pagi hari.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu yang efektif terhadap perendaman akar bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) menggunakan pewarnaan safranin 2% untuk mengamati keempat fase mitosis, sehingga dapat menjadi solusi terhadap permasalahan dalam praktikum Reproduksi Sel di Laboratorium Biologi Dasar FMIPA Unsyiah.

Metode penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala.

Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, mikroskop cahaya Yazumi, batang pengaduk, *spatula*, gelas kimia Pyrex 500 mL, gelas kimia Pyrex 50 mL, gelas *erlenmeyer* Pyrex 50 mL, gelas ukur Duran 25 mL, pipet tetes 15 mL dan 7 mL, lux meter, botol *reagent*, *thermometer*, pinset, kulkas, timbangan analitik, *object glass*, *cover glass*, kamera, *tally counter*, dan *microscope eye-piece camera Dino Eye*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah akar bawang merah (*A. ascalonicum* L.) yang berumur 2-4 hari, larutan asam asetat glasial 45%, air suling, larutan HCL 1 N, gliserin, larutan safranin 2%, *tissue*, cat kuku bening, *aluminium foil*, dan kertas label.

Cara Kerja

Pembuatan larutan

Larutan asam asetat glasial 45%. Larutan asam asetat glasial 45% berfungsi sebagai larutan fiksasi yang dibuat dengan mencampurkan 45 mL asam asetat glasial pekat dengan 55 mL air suling.

Asam klorida 1 N. Asam klorida 1 N berfungsi sebagai larutan pembersihan yang dibuat dengan mencampurkan 10 mL HCl pekat dengan 110 mL air suling.

Safranin 2%. Safranin 2% berfungsi sebagai pewarna yang dibuat dengan mencampurkan serbuk safranin seberat 2 gram ke dalam 100 mL air suling.

Induksi akar. Induksi akar bawang *A. ascalonicum* L. dilakukan dengan mengupas kulit bawang. Media yang digunakan untuk menginduksi akar bawang adalah dengan menggunakan air PDAM.

Penumbuhan akar bawang dilakukan di dalam gelas plastik yang berisi air dengan cara menusukkan bagian atas bawang secara horizontal sedemikian rupa sehingga hanya bagian akarnya yang menyentuh air dan dibiarkan di tempat terbuka di ruang laboratorium. Induksi akar bawang dilakukan selama 2-4 hari.

Pembuatan preparat dengan Metode *Squash*

Pemotongan akar dilakukan pagi hari pada pukul 08.00 WIB. Akar bawang dipotong sepanjang 1 mm, difiksasi dengan larutan asam asetat glasial 45% ditutup dengan aluminium foil dan disimpan selama 15 menit di dalam kulkas dengan suhu sekitar 5 °C. Kemudian larutan asam asetat dibuang dan akar bawang dibilas dengan air suling tiga kali. Akar dimaserasi menggunakan HCl 1 N, didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar. HCl dibuang, akar dibilas dengan air suling sebanyak tiga kali. Akar diwarnai dengan menggunakan larutan safranin 2% , waktu perendaman berbeda-beda yaitu 15 menit, 30 menit, 45 menit, dan 60 menit, serta tanpa adanya perendaman (kontrol). Akar yang sudah diwarnai dipindahkan ke *object glass*, ditambahkan 1 tetes gliserin. Ditutup dengan *cover glass* dan ditekan (*squash*) hingga sel menyebar merata. Kelebihan gliserin pada *cover glass* dibersihkan dengan *tissue* secara perlahan. Preparat disegel menggunakan cat kuku pada seluruh sisi *cover glass*. Hasil preparat dihitung dan preparat dengan kualitas yang baik didokumentasikan dalam bentuk foto.

Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu jumlah sel yang sedang mengalami fase interfase dan keempat fase mitosis yaitu, profase, metafase, anafase dan telofase.

Pengamatan dilakukan menggunakan Mikroskop Cahaya Yazumi dengan pembesaran 10×40. Sel-sel yang sedang mengalami fase

interfase dan keempat fase mitosis dihitung jumlahnya pada 10 kali lapangan pandang per *slide*.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lama perendaman menggunakan Safranin 2% sebagai perlakuan dan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Anava (Analisis Varian) berdasarkan uji F taraf 5%. Apabila data yang diperoleh berbeda nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf 5%. Analisis data menggunakan program *statistical package for the social science* (SPSS).

Hasil dan diskusi

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, waktu perendaman yang optimum untuk mewarnai akar *Allium ascalonicum* adalah 15 dan 30 menit. Sel-sel akar bawang yang direndam dalam zat warna safranin selama 15 dan 30 menit menunjukkan warna kromosom yang sangat jelas, sehingga memudahkan dalam mengamati fase-fase mitosis (Tabel 1).

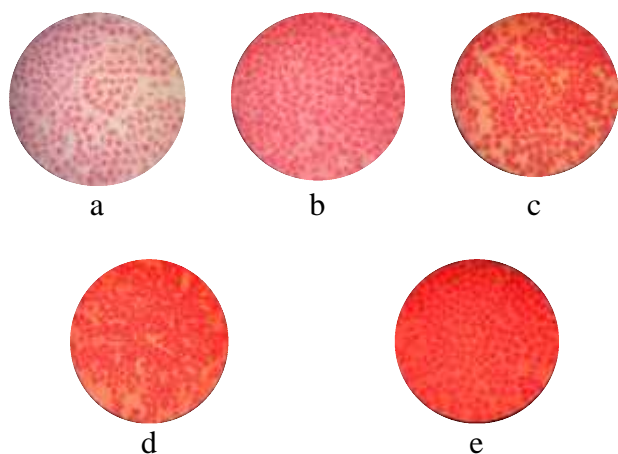
Tabel 1. Hasil pengamatan rata-rata jumlah sel yang sedang mengalami mitosis dengan perlakuan lama waktu perendaman safranin selama 15, 30, 45 dan 60 menit.

No.	Perendaman	Rata-rata Jumlah Sel
1	Kontrol	3.37 ^a
2	15 menit	4.72 ^{cd}
3	30 menit	4.85 ^d
4	45 menit	3.56 ^{ab}
5	60 menit	4.09 ^{bc}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji lanjut Tukey taraf 5%.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan didapatkan bahwa fase-fase mitosis paling banyak diamati pada perendaman selama 30 menit yaitu rata-rata 4.85 sel, diikuti oleh perendaman 15

menit (4.72 sel), 60 menit (4.09 sel) dan 45 menit (3.56 sel). Sedangkan fase mitosis yang paling sedikit dapat diamati adalah pada kontrol yang tidak dilakukan perendaman yaitu dengan rata-rata 3.37 sel (Tabel 1). Preparat kontrol yang tidak dilakukan perendaman menunjukkan warna kromosom yang sangat pucat sehingga sangat sulit untuk diamati dan dibedakan fase-fase mitosis pada preparat tersebut. Hal ini dikarenakan warna latar dan sel akar bawang berwarna senada. Kurang berwarnanya kromosom pada sel akar bawang diduga karena kromosom tidak optimal dalam menyerap zat warna safranin (Gambar 1).



Gambar 1. Preparat sel akar bawang: (a). Kontrol; (b). Perendaman safranin 15 menit; (c). Perendaman safranin 30 menit; (d). Perendaman safranin 45 menit dan (e) Perendaman safranin 60 menit.

Perendaman selama 30 menit merupakan perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan dibandingkan dengan perlakuan lainnya, kromosom pada sel yang direndam selama 30 menit dapat diamati dengan jelas. Hal ini diduga karena kromosom dapat menyerap pewarna safranin secara optimal, sehingga pembelahan sel-sel yang mengalami mitosis dapat diamati dan dibedakan. Hasil yang didapatkan pada preparat dengan perendaman selama 15 menit menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan 30 menit. Ini dikarenakan selama 15 menit

kromosom dapat menyerap safranin sehingga kromosom menjadi lebih berwarna dan mudah diamati, namun penyerapan warna safranin lebih optimal jika dilakukan perendaman selama 30 menit. Sedangkan hasil pembelahan sel yang paling sedikit dapat diamati adalah pada kontrol dan diikuti pada perendaman 45 menit.

Pengamatan fase-fase mitosis pada pembelahan sel yang direndam selama 45 menit sangat sulit dilakukan. Hal ini dikarenakan warna kromosom menjadi sangat gelap dan sitoplasma ikut terwarnai, sehingga sangat susah membedakan kromosom dan sitoplasma. Perendaman yang terlalu lama diduga dapat mewarnai sitoplasma dan kromosom secara berlebihan. Hal ini juga terjadi pada preparat dengan perendaman 60 menit. Namun dari hasil pengamatan menunjukkan fase mitosis lebih banyak dapat diamati pada preparat yang direndam selama 60 menit dibandingkan 45 menit. Kromosom pada preparat dengan perendaman 60 menit terlihat lebih jelas dikarenakan kromosom lebih berwarna dibandingkan sitoplasma.

Tabel 2. Rata-rata jumlah sel tiap fase selama pembelahan mitosis

No.	Fase Mitosis	Rata-rata Jumlah sel
1	Interfase	10.04 ^c
2	Profase	5.40 ^b
3	Metafase	2.00 ^a
4	Anafase	1.56 ^a
5	Telofase	1.61 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji lanjut Tukey taraf 5%.

Hasil pengamatan pada tiap fase mitosis pada setiap preparat menunjukkan bahwa interfase merupakan fase paling banyak yang dapat diamati (Tabel 2). Diikuti dengan profase, metafase, telofase dan terakhir adalah tahap anafase. Tahap interfase merupakan tahap yang paling banyak dijumpai dikarenakan tahap interfase merupakan tahap terlama yang terjadi dalam siklus reproduksi sel. Interfase merupakan

periode antara pembelahan sel, ketika sel tumbuh dan sedang melakukan berbagai aktivitas metabolisme (Karp, 2010). Menurut Campbell *et al.* (2010), interfase merupakan fase terpanjang yakni sekitar 90% dari tahapan siklus sel.

Interfase terbagi ke dalam tiga fase, yakni fase G₁ (*gap* pertama) yang terjadi sebelum sintesis *deoxyribonucleic acid* (DNA), fase S (sintesis) termasuk sintesis DNA, dan fase G₂ (*gap* kedua) yang terjadi sesudah sintesis DNA. Selama fase G₁ sel menggandakan organelnya seperti mitokondria dan ribosom, dan mengakumulasi sejumlah material yang dibutuhkan saat sintesis DNA (Mader, 2011). Beberapa sel ada yang tetap berada pada fase G₁ untuk waktu yang lama, disebut sebagai fase G₀. Sel-sel tidak melanjutkan tahapan siklus sel pada fase ini, sel hanya akan berdiferensiasi atau hanya memfokuskan diri pada fungsinya masing-masing seperti sel saraf dan sel otot (Enger *et al.*, 2012).

Tahap yang paling sedikit dijumpai adalah metafase, anafase dan telofase dengan jumlah rata-rata sel adalah 2.00, 1.56, dan 1.61 sel. Lebih sedikitnya jumlah sel pada metafase, anafase dan telofase yang dapat diamati diduga karena tahap ini terjadi dalam waktu yang singkat dibandingkan dengan tahap interfase dan profase. Tahap metafase ditandai dengan tersusunnya kromosom pada bidang ekuator sel. Sedangkan pada tahap anafase kromosom mulai terpisah dan kromatid akan menuju ke kutub sel. Migrasi dari dua set anakan kromosom yang berpindah ke kutub yang berlawanan menandakan bahwa proses anafase telah selesai, dan kedua anakan memiliki jumlah kromosom yang sama (Enger *et al.*, 2012). Tahap akhir reproduksi sel adalah telofase. Telofase selalu diiringi dengan tahap sitokinesis atau tahap pembelahan sitoplasma. Sitokinesis berbeda antara sel hewan dan sel tumbuhan. Sel hewan terlihat adanya lekukan penyibakan (*cleavage*), sedangkan pada sel tumbuhan terbentuk lempeng sel (*cell plate*). Lempeng sel merupakan kumpulan dari vesikel-vesikel yang saling bergabung (Campbell *et al.*, 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa lama waktu perendaman safranin yang terbaik untuk pengamatan fase pembelahan mitosis pada sel akar bawang adalah 15 dan 30 menit. Untuk efisiensi waktu, maka sangat disarankan perendaman akar bawang dalam safranin selama 15 menit.

Ucapan terimakasih

Kami mengucapkan terimakasih kepada pihak Universitas Syiah Kuala melalui LPPM Unsyiah yang telah mendanai penelitian ini. Bapak Dr. Syauckani, M.Sc., Ibu Dr. Ir. Aida Fithri, M.Sc., dan Ibu Yekki Yasmin, M.Si. yang telah memberikan bimbingan dalam penyelesaian penelitian. Rosnita Dwi Alafani, S.Si., Nita Tauhida, S.Si., dan Nina Anggraini, S.Si., yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

Daftar pustaka

- Abidin, A. Z., Budiono, J. D., dan Isnawati. 2014. Studi Indeks Mitosis Bawang untuk pembuatan Media Pembelajaran Preparat Mitosis. *Jurnal Bioedu*. 3(3):571-579.
- Anggarwulan, E., Etikawati, N., dan Setyawan, A. D. 1999. Karyotipe Kromosom pada Tanaman Bawang Budidaya (Genus: *Allium*; Familia Amaryllidaceae). *Jurnal Biosmart*. 1(2):13-19.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., Urry L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., dan Jackson, R. B. 2010. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 1*. Terjemahan dari Biology Eight Edition, oleh Damaring Tyas Wulandari, Erlangga, Jakarta.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., Urry L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., dan Jackson, R. B. 2012. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 2*. Terjemahan dari Biology Eight Edition, oleh Damaring Tyas Wulandari, Erlangga, Jakarta.

- Enger, E. D., Ross, F. C., and Bailey, D. B. 2012. *Concepts In Biology Fourteenth Edition*. McGraw-Hill, Americas New York.
- Fukui. K. and Nakayama, S. 1996. *Plant Chromosomes: Library Methods*. CRC Press, Boca Raton Florida.
- Kalkman, C., Greerinck, D. J, L., Buijssen, J. R. M., and Duyfjes, B. E. E. 1993. *Flora Malesiana, Series I Spermatophyta, Flowering Plants Volume 11 part 2: Rosaceae, Amaryllidaceae, Alliaceae, Coriariaceae, Pentastemonaceae, and Stemonaceae*. CIP-Gegevens KoninklukeBibliotheek, Den Haag.
- Karp, G. C. 2010. *Cell Biology: International Students Version Sixth Edition*. Wiley, Singapore.
- Mader, S. S. 2011. *Inquiry Into Life Thitheentn Edition*. McGraw-Hill, Americas New York.
- Pollard, T. D. and Earnshaw, W. C. 2002. *Cell Biology*. Saunders An Imprint of Elsevier Science, United States of America.
- Rosanti, D. 2013. *Morfologi Tumbuhan*. Erlangga, Jakarta.
- Sharma, A. K. and Sharma, A. 1980. *Chromosome Techniques: Theory and Practice, Third Edition*. Butterworths, London.
- Setyawan, A. D. dan Sutikno. 2000. Karyotipe Kromosom pada *Allium sativum* L. (BawangPutih) dan *Pivum sativum* L. (Kacang Kapri). *Jurnal Biosmart*. 2(1):20-27.
- Siemonsma, J. S. and Piluek, K. 1994. *Plant Resource of South-East Asia, Number 8, Vegetables*. Prosea, Bogor Indonesia.
- Solomon, E. P., Berg, L. R., Martib, D. W., and Villed, C. 1996. *Biology Fourth Edition*. Saunders College Publishing, United States of America.
- The Royal Botanical Garden, Kew. *World Cheklist of Selected Plant Families*. http://apps.kew.org/wcsp/namedetail.do?jsessionId=EF801A2CA3E5293800BBED851C682191?name_id=295261. Tanggal 20 Februari 2017.
- Wayne, R. 2009. *Plant Cell Biology: From Astronomy to Zoology*. Academic Press is an Imprint of Elseiver, United States of America.