

**PENUNTUN PRAKTIKUM**

**GENETIKA TUMBUHAN**



**Disusun oleh:**

**Made Pharmawati**

**PRODI BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS UDAYANA**

**2015**

# **PENGARUH SODIUM AZIDE ( $\text{NaN}_3$ ) TERHADAP PERTUMBUHAN**

## **PENDAHULUAN**

Mutasi dapat terjadi secara spontan atau diinduksi. Induksi mutasi dapat dilakukan secara fisik atau kimia. Induksi mutasi secara fisik misalnya dilakukan dengan menggunakan sinar-x, sinar gamma, sinar uv. Induksi mutasi dengan menggunakan zat kimia dilakukan dengan menggunakan EMS (ethyl methanesulfonat), NMU (nitrosomethyl urea) atau sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ).

Perlakuan mutasi diinduksi biasanya diberikan pada biji atau pada kecambah. Mutasi bermanfaat untuk menambah variasi dan untuk mempelajari proses-proses atau mekanisme kerja gen.

Sodium azide merupakan agen penginduksi mutasi yang potensial dan efisien pada tanaman dan beraksi sebagai agen substitusi basa (Olsen *et al*, 1993, Mondal *et al.*, 2007). Azide mempunyai pengaruh yang lemah terhadap hewan dan manusia (Olsen *et al*, 1993, Sadiq and Owais, 2000), sehingga cukup aman jika digunakan.

## **TUJUAN**

Tujuan praktikum ini adalah untuk mengetahui pengaruh apakah yang ditimbulkan oleh pemberian  $\text{NaN}_3$  terhadap pertumbuhan kecambah

## **CARA KERJA**

1. Biji mentimun direndam dalam sodium azide dengan konsentrasi yang berbeda (0.5mM, 1mM, 2mM) dalam buffer fosfat pH 3 selama 4 jam. Perlakuan dilakukan pada temperature ruang. Sebagai kontrol adalah biji yang direndam dalam buffer fosfat pH 3. Biji selanjutnya dibilas dengan akuades untuk menghilangkan sisa-sisa mutagen.
2. Biji disemai di atas kertas saring dalam petri dish

3. Perhatikan perubahan morfologi dan fisiologi yang terjadi antara lain :
  - a. Hari/waktu munculnya kecambah
  - b. Panjang tunas, panjang akar
4. Amati perubahan lain yang diamati. Catatlah jika ada penampilan yang berbeda dengan kontrol). Misal warna hipokotil, warna kotiledon, ukuran, bentuk.

## **LAPORAN**

Laporan terdiri dari: Pendahuluan, Metode, Hasil dan Pembahasan.

## **PRAKTIKUM MODIFIKASI GENETIK DENGAN KOLKISIN MELALUI PENGAMATAN MORFOLOGI KECAMBDAH KETIMUN**

### **Pendahuluan**

Kolkisin merupakan senyawa kimia yang dapat menginduksi poliploidi. Kolkisin bekerja dengan cara menghambat terbentuknya mikrotubul pada pembelahan sel. Hal ini mengakibatkan terjadinya penggandaan kromosom tanpa pembelahan sel karena tidak terjadi pemisahan kromosom saat anaphase. Dengan pemberian kolkisin dapat diperoleh tanaman poliploid.

Konsentrasi kolkisin yang digunakan berkisar 0.001% sampai 0.1%. Pengamatan perubahan tingkat ploidi umumnya dilakukan dengan cara pengamatan kromosom. Tetapi perubahan morfologi juga merupakan cara untuk menduga terjadinya tanaman poliploid. Perubahan tersebut antara lain, pembesaran ukuran daun, diameter batang, tinggi tanaman akibat terjadinya pembesaran ukuran sel.

### **Cara kerja**

1. Dibuat larutan kolkisin 0.1%, 0.2%
2. Biji ketimun dikecambahkan, setelah akar kira2 1 cm, lalu direndam pada kolkisin 6 jam
3. Kontrol dibuat dengan merendam menggunakan akuades
4. Selanjutnya biji dibilas dengan akuades
5. Kecambah lalu ditanam pada medium tanah.
6. Pengamatan yang dilakukan meliputi :
  - a. Hari keberapa bibit muncul
  - b. Perhatikan ukuran bibit, misal ukuran kotiledon
  - c. Setelah 2 minggu setelah tanam, ukurlah tinggi bibit
  - d. Jika telah muncul daun, perhatikan juga ukuran daun (ukur panjang dan lebarnya)
  - e. Buatlah perbandingan antar perlakuan. Buat laporan (boleh tulis tangan yang terdiri dari, pendahuluan, metode, hasil pengamatan dan pembahasan)

## VARIASI GENETIK TUMBUHAN

### Pendahuluan

Variasi genetik tumbuhan merupakan modal dasar (bahan mentah) dalam perakitan tanaman melalui pemuliaan tanaman. Oleh karena itu kegiatan eksplorasi untuk mencari tipe-tipe baru yang ada di alam terus dilakukan. Variasi genetik tanaman dapat diinduksi dengan bermacam-macam metode. Tetapi tipe liar suatu tanaman tetap memegang peranan penting, karena sering mengandung sifat-sifat tertentu terutama ketahanan terhadap penyakit, hama dan lingkungan.

Kegiatan eksplorasi biasanya diikuti oleh koleksi dan konservasi. Tempat koleksi (collection sites) ada 4 macam yaitu:

1. Daerah pertanian
2. Dapur atau kebun perumahan
3. Pasar
4. Wild habitat (habitat liar)

### Tujuan:

1. Mengetahui variasi genetik (dalam hal ini variasi morfologi tanaman)
2. Mendokumentasikan variasi genetik tanaman/plasma nutfah tersebut
3. Memperkirakan apakah terjadi erosi genetik pada plasma nutfah tanaman tersebut

### Cara kerja

1. Pilihlah satu jenis tanaman
2. Kumpulkan semua informasi yang diketahui mengenai keanekaragaman tanaman tersebut. Cari varietas/keanekaragaman yang ada. Lakukan pengamatan terhadap variasi yang ada

Jika pengamatan di **pasar** : misal keanekaragaman buah salak, maka amati ukuran buah, warna kulit buah, warna daging buah

Lakukan wawancara dengan penjual mengenai nama lokal, status keberadaan, apakah masih banyak tersedia/masih banyak dibudidayakan, apakah tipe tertentu sudah jarang ada, terjadi erosi genetik. Kenapa hal itu terjadi.

Jika pengamatan di **lapang**, misal keanekaragaman pisang:

Amati morfologi, perkirakan tinggi pohon, deskripsi, morfologi, warna daun, buah, pelepah

Lakukan wawancara dengan penduduk sekitar atau petani mengenai nama lokal, dan status keberadaan.

3. Lakukan pengamatan/observasi, wawancara dan studi pustaka

## Diskusi

1. Apakah terdapat tanda-tanda erosi genetik pada plasma nutfah tersebut (misalnya ada tipe yang sangat jarang ditemukan)
2. Apa yang harus dilakukan agar plasma nutfah tersebut tidak hilang.

## **BIOLOGI TUMBUHAN BERBUNGA**

### **PENDAHULUAN**

Tumbuhan berbunga adalah tumbuhan vaskular tingkat tinggi yang mengembangkan metode reproduksi seksual yang efisien yaitu melalui bunga. Bunga bagi beberapa orang hanyalah suatu keindahan semata, tapi dalam plant kingdom, bunga memiliki struktur dan mekanisme yang sangat detil. Desain bunga menyebabkan terjadinya pollen transfer. Terdapat bermacam-macam agen pollen transfer misalnya serangga, burung, kelelawar, angin, air, manusia. Melalui agen-agen ini terjadi keberhasilan dalam cross pollination yang menyebabkan meningkatnya hibridisasi antar tanaman dan akibatnya akan meningkatkan genetic diversity dalam populasi.

Pada reproduksi seksual, penyatuan gamet jantan dan betina didahului oleh proses penyerbukan yaitu jatuhnya serbuk sari ke kepala putik. Penyerbukan dibedakan menjadi penyerbukan sendiri dan penyerbukan silang. Perbedaan proses penyerbukan ini akan mempengaruhi susunan genetic turunannya. Pada spesies tanaman menyerbuk sendiri, tanaman keturunannya cenderung mempunyai susunan gen homosigot.

Cara-cara penyerbukan tanaman dipengaruhi oleh sifat biologi bunga dan susunan morfologis bunga. Pengetahuan mengenai siklus hidup tumbuhan dan pengenalan sifat biologi bunga sangat diperlukan bila hibridisasi menjadi pilihan metode dalam pemuliaan tanaman.

### **TUJUAN**

Tujuan praktikum ini adalah melatih mahasiswa agar lebih memahami pentingnya biologi bunga dan siklus hidup tanaman dalam upaya meningkatkan produktivitas tanaman.

### **Kegiatan 1**

Berilah label pada gambar 1 berikut berdasarkan keterangan yang diberikan. Gunakan kata-kata dengan huruf kapital untuk melabel gambar.

Pada angiospermae, anther terdiri dari 4 bagian yang disebut POLLEN SAC atau MICROSPORANGIUM. Pada anther yang tua, polen sac terbuka. POLLEN GRAIN pada tahap ini terdiri dari 2 sel yaitu GENERATIVE CELL dan TUBE CELL. Setelah polinasi, generative cell membentuk dua SPERM NUCLEI dan tube cell memperpanjang diri menjadi pollen tube dengan TUBE NUCLEUS. Pada tahapan 3 nukleus ini, pollen grain dinyatakan MATURE MALE GAMETOPHYTE.

## **Kegiatan 2**

Pelajarilah no 1 sampai 7 pada gambar 1 pada halaman berikut. Kemudian berilah label perkembangan embrio sac tersebut dengan menggunakan kata-kata dengan huruf kapital dibawah ini. Serta isilah titik-titik pada keterangan di bawah ini.

Perkembangan gametofit betina umumnya terjadi seperti no 1 sampai no 7 pada gambar 1. Sebuah MEGASPORE MOTHER CELL membelah melalui pembelahan.....membentuk 4 haploid MEGASPORE. Tiga diantaranya mengalami degenerasi, dan 1 menjadi FUNCTIONAL MEGASPORE yang nantinya membentuk gametofit betina. Melalui .....kali (berapa kali) pembelahan .....terbentuk delapan nucleus haploid. Ke delapan sel tersebut terdistribusi menjadi satu sel.....dua sel..... ..tiga sel .....dan dua..... kesemuanya ini membentuk FEMALE GAMETOPHYTE atau EMBRYO SAC.

Pada no 7 menunjukkan polen tube yang melewati MICROPYLE, lubang kecil di antara INTEGUMENT pada dasar OVULE. Gambar 7 dan 8 menunjukkan FERTILIZATION. SPERMA digambarkan dengan bulatan gelap, sedang inti dalam embryo sac digambarkan sebagai bulatan terbuka. Satu inti sperma bergabung dengan sel telur membentuk diploid ZYGOTE. Sperma ke-2 bersatu dengan 2 inti polar membentuk triploid ENDOSPERM.





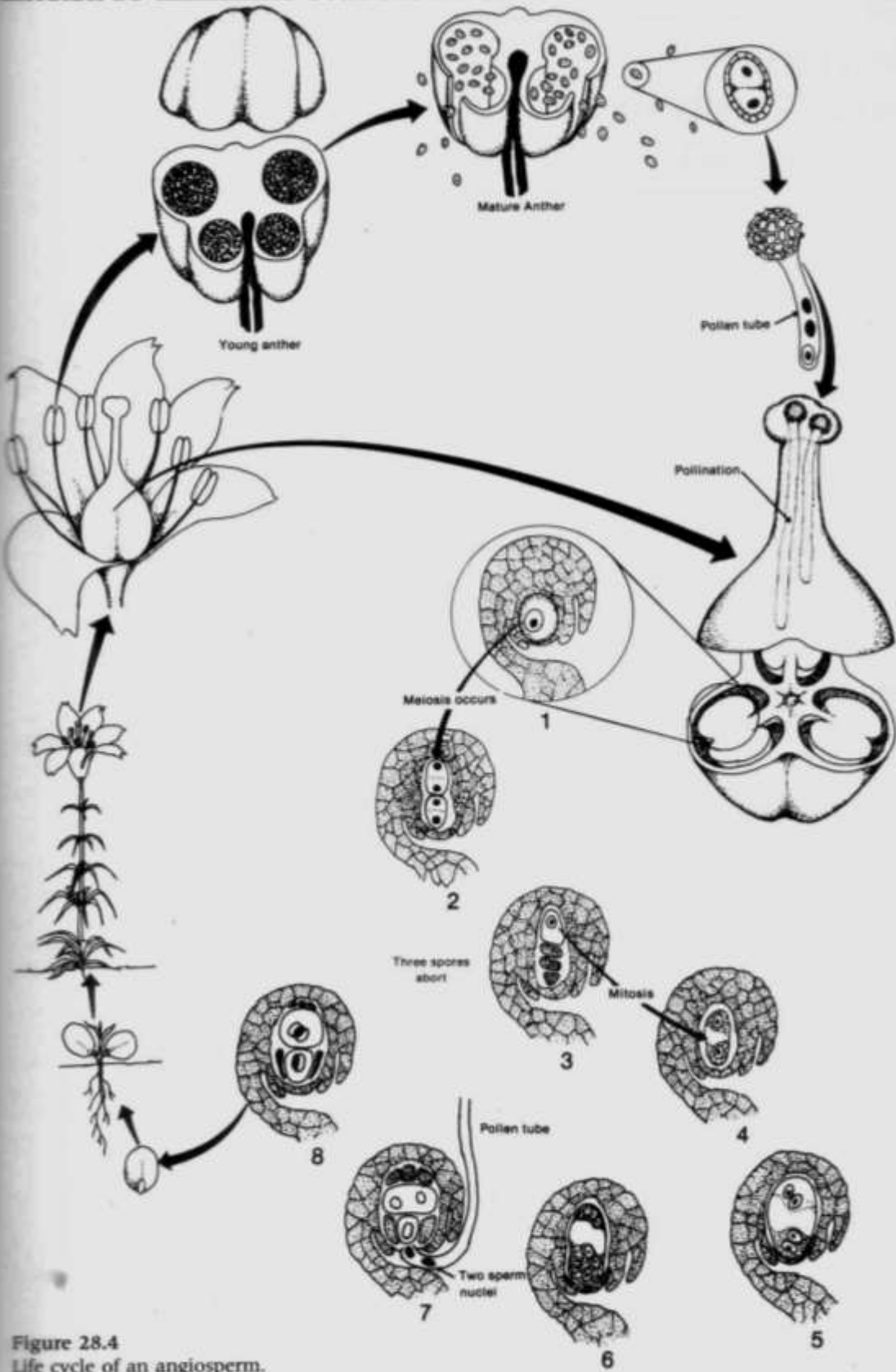


Figure 28.4  
Life cycle of an angiosperm.

### Kegiatan 3

Isilah tabel berikut

Nama lokal	Nama ilmiah	Reproduksi vegetative (ya/tidak)	Reproduksi seksual (ya/tidak)	Bunga sempurna (ya/tidak)	Penyerbukan sendiri (ya/tidak)	Penyerbukan silang (ya/tidak)
1. Paria						
2. Jagung						
3. Padi						
4. Mangga						
5. Ketimun						
6. Tomat						
7. Pepaya						
8. Sawi						
9. Kedelai						
10. Terung						
11. Pala						
12. Kembang sepatu						
13. Adenium						

### PERTANYAAN

1. Berapa gametofit jantan yang berkembang dari satu microspore mother cell?
2. Berapa gametofit betina yang berkembang dari satu megaspore mother cell?
3. Jelaskan arti istilah berikut dan beri satu contoh:
  - a. Bunga sempurna.....contoh.....
  - b. Bunga tidak sempurna.....contoh.....
  - c. Bunga lengkap.....contoh.....
  - d. Dioecious.....contoh.....
  - e. Monoecious.....contoh.....

# EKSTRAKSI DNA

## Pendahuluan

DNA adalah molekul yang terdapat pada semua makhluk hidup. Molekul ini sangat kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan mata. Tetapi DNA dapat diekstrak dari ribuan sel sehingga DNA dapat terlihat karena jumlahnya yang sangat banyak. Tahapan dalam ekstraksi DNA adalah pemecahan sel, keluarnya DNA dari nucleus dan pengendapan/presipitasi DNA.

Ekstraksi DNA memiliki banyak aplikasi praktis, diantaranya adalah untuk tujuan pemuliaan, evolusi, sistematik, konservasi, dll.

## Tujuan:

1. Mengekstrak DNA dari tumbuhan
2. Mempelajari dimana DNA ditemukan
3. Mempelajari sifat dasar kimia DNA

## Cara kerja

Ekstraksi dapat dilakukan dalam buffer ekstraksi sederhana yang dibuat dari bahan-bahan yang terdapat di rumah yaitu :

1. Buffer ekstraksi  
100ml of shampoo (without conditioner)  
15g NaCl  
900ml water
2. Buffer ekstraksi  
50ml dishwashing detergent  
15g NaCl  
950ml water

Ekstraksi DNA untuk kepentingan riset harus dilakukan dengan menggunakan zat kimia yang murni yaitu 2% w/v CTAB, 1.4 M NaCl, 50 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8), 2% (v/v) 2-mercaptoethanol.

1. Dinginkan isopropanol
2. Siapkan water bath sampai suhu 60°C, inkubasi 5ml buffer ekstraksi
3. Timbang 0.1 g daun lalu gerus dengan mortar dan pestle
4. Tambahkan 1 ml buffer yang sudah diinkubasi tadi, lalu masukkan kembali ke dalam tabung dan inkubasi selama 20 menit
5. *Ekstrak dengan kloroform: isoamilalkohol (24:1),*
6. *Kemudian sentrifuse 5 menit dan supernatant (bagian atas) dipindah ke tabung baru*
7. Tambahkan isopropanol dingin
8. Pada daerah perbatasan akan terlihat DNA terpresipitasi
9. DNA dapat digulung dengan pipet

Pertanyaan:

1. Dimanakah DNA dapat ditemukan dalam sebuah sel?
2. Apakah manfaat deterjen dalam ekstraksi DNA
3. Bagaimanakah hasil ekstraksi DNA yang anda lakukan? Pada percobaan ini apakah anda dapat mengamati benang2 DNA yang dapat digulung?
4. Jika tidak mengapa? Jika ya, langsung pertanyaan no 5
5. Mengapa kita perlu menggerus sampel?
6. Jelaskan fungsi etanol.
7. Beri contoh dan penjelasan kegunaan-kegunaan DNA setelah berhasil diekstraksi?

## **ELEKTROFORESIS DNA**

## Pendahuluan

Elektroforesis merupakan salah satu metode pemisahan molekul. Prinsip elektroforesis adalah memisahkan molekul yang bermigrasi dalam suatu matriks yang dialiri listrik. Elektroforesis DNA dilakukan pada gel agarosa atau poliakrilamid. Untuk visualisasi DNA digunakan pewarnaan menggunakan etidium bromide pada gel agarosa, atau pewarnaan perak (silver staining) pada gel poliakrilamid). Pengamatan dilakukan dengan penyinaran dengan sinar uv jika menggunakan pewarnaan etidium bromide.

Pada elektroforesis DNA, ukuran molekul DNA yang lebih panjang (missal 1000 bp) akan bermigrasi lebih lambat dibandingkan molekul DNA yang berukuran pendek (100 bp).

## Cara kerja

1. Dibuat gel agarosa 1% (1 g dalam 100 ml buffer TAE)
2. Dipanaskan sampai mendidih (bening)
3. Siapkan cetakan gel agarosa, pasang sisir pembuat sumur gel
4. Tambahkan 3 ul etidium bromide
5. Tuang dalam cetakan gel
6. Tunggu sampai padat
7. Setelah padat, cabut sisir pembuat sumur
8. Masukkan gel ke dalam tangki elektroforesis
9. Siapkan parafilm dan loading dye
10. Pipet 3 ul DNA + 1 ul loading dye, masukkan ke sumur gel
11. Nyalakan alat elektroforesis
12. Tunggu kurang lebih 30 menit
13. Matikan alat elektroforesis
14. Amati dengan uv transiluminator

## PRAKTIKUM KARIOTIPE

### Pendahuluan

Informasi mengenai kromosom dapat diperoleh dengan membuat analisa kariotipe. Kariotipe merupakan susunan kromosom berdasarkan ukuran, morfologi dan tipenya (Ahmad *et al.*, 1983). Pengetahuan mengenai kariotipe dari suatu spesies adalah penting dalam usaha mendapatkan pengertian penuh mengenai genetika tumbuhan dan perbaikan tumbuhan serta untuk deskripsi perbandingan dengan kerabat-kerabatnya (Ahmad *et al.*, 1983). Lebih lanjut, dengan metode banding kromosom, dalam kariotipe dapat diidentifikasi gen-gen yang berperan membawa sifat-sifat agronomis tertentu (Lim, 2005).

### Cara Kerja

1. Telah disediakan gambar kromosom. **Hitunglah** jumlah kromosom. Selanjutnya kromosom diukur panjang lengan panjang dan panjang lengan pendek dengan menggunakan benang atau kertas milimeter.

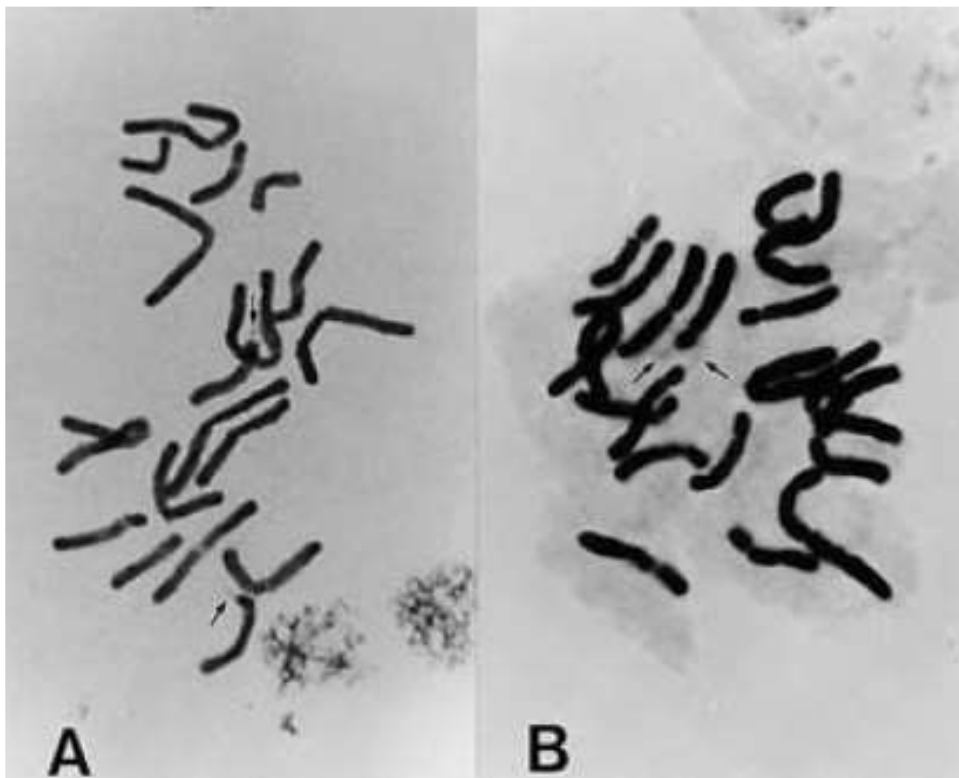
2. Kromosom diklasifikasikan berdasarkan posisi sentromer yang ditentukan berdasarkan rasio lengan kromosom (panjang lengan yang panjang dibagi panjang lengan yang pendek) (Ahmad *et al.*, 1983).

- a. **Rasio  $1,0 < 1,7$  termasuk kelompok metasentris**
- b. **Rasio  $1,7 - <3,0$  termasuk kelompok submetasentris**
- c. **Rasio  $3,0 - <7,0$  termasuk kelompok subtelosentris**
- d. **Rasio  $> 7,0$  termasuk kelompok telosentris**

3. Panjang total kromosom juga dihitung dengan cara menjumlahkan panjang lengan panjang dan panjang lengan yang pendek. Kromosom dipasang-pasangkan berdasarkan ukuran dan tipenya. Bentuk kromosom yang sama menunjukkan pasangan kromosom yang sama.

2. Buatlah **kariogram** dengan cara mengatur pasangan-pasangan kromosom berdasarkan urutan dari rasio terkecil sampai yang terbesar

3. Buatlah **idiogram** dengan mengatur berdasarkan urutan panjang total kromosom dari yang terbesar sampai yang terkecil.

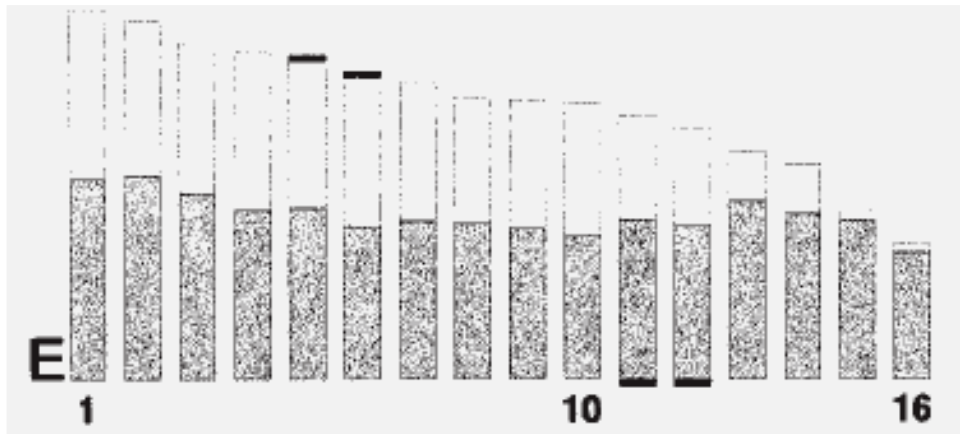


A. *Bowenia serrulata*;

B. *B. spectabilis*;

Contoh Idiogram





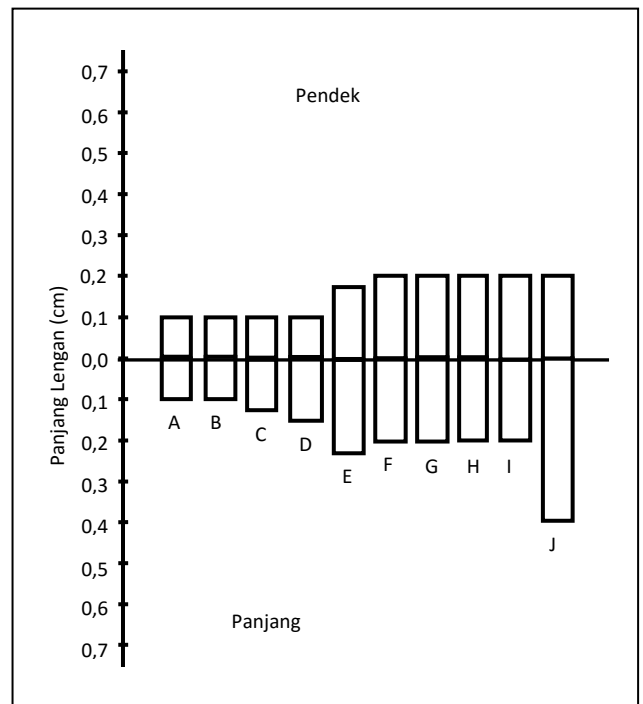
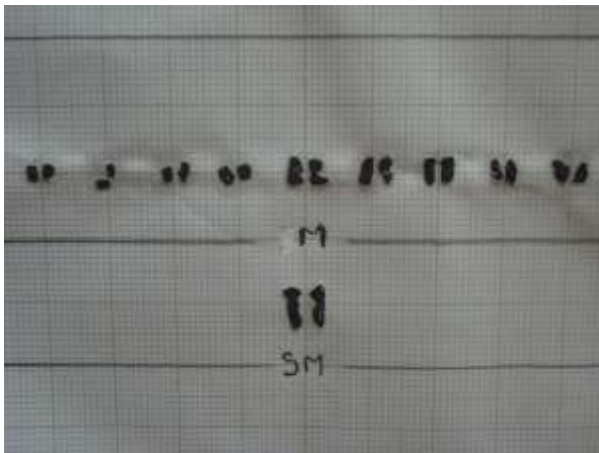
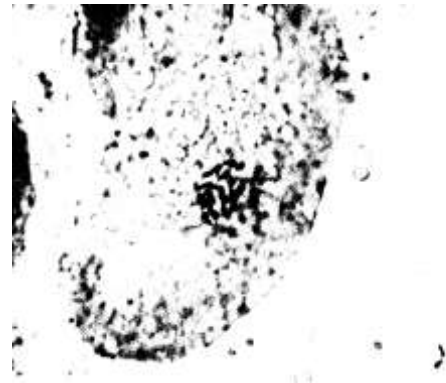
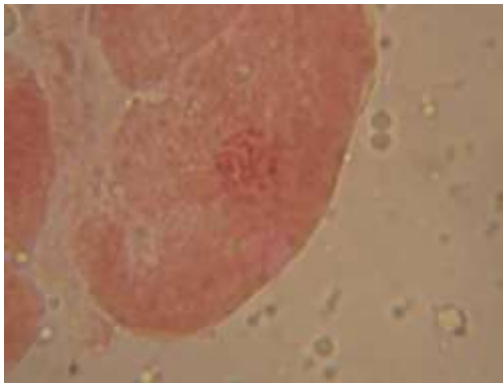
Isilah table berikut

*Bowenia serrulata*

No kromosom	Panjang lengan panjang	Panjang lengan pendek	Total lengan	Arm Ratio	Tipe kromosom

*B. spectabilis;*

No kromosom	Panjang lengan panjang	Panjang lengan pendek	Total lengan	Arm Ratio	Tipe kromosom



# KERAGAMAN WARNA BIJI PADA KACANG DAN INTERAKSINYA TERHADAP SERANGAN HAMA

## Pendahuluan

Dengan menggunakan koleksi kacang yang telah disediakan, kerjakanlah latihan berikut.

Variasi yang ditemukan untuk karakter tertentu dari suatu spesies tanaman merupakan bahan baku bagi seorang pemulia tanaman terutama jika variasi tersebut disebabkan oleh faktor genetik.

Pada kacang kare (nama lokal) karakter yang mudah diamati untuk memperoleh keragaman genetic adalah warna biji. Variasi warna biji cukup beragam yang meliputi hitam, putih, coklat, mosaik (bercak), dll. Seringkali terlihat biji-biji menunjukkan kerusakan akibat serangan hama (kutu), yaitu berupa ditemukannya lubang-lubang pada biji.

## Tujuan

Menentukan apakah terdapat interaksi antara sifat warna biji dengan ketahanan terhadap serangan hama

## Cara kerja

1. Telah disediakan 50 biji kacang (yang diambil secara acak)
2. Pisahkan biji tersebut menjadi kelas terpisah berdasarkan warna biji
3. Berapa kelas warna biji yang anda temukan
4. Hitung jumlah biji yang rusak (berlubang) karena serangan hama dan yang tidak rusak
5. Isilah table berikut

Kelas	Deskripsi	Jumlah
1	Coklat	15
2	dst	dst
dst		

Kelas	Deskripsi	Jumlah biji yang rusak	Jumlah biji yang tidak rusak (baik)
1			
2			
dst			

Pertanyaan

Apakah sifat warna biji berkaitan dengan ketahanan terhadap serangan hama?  
Bagaimana anda mengujinya secara statistik?

Contoh penghitungan analisis  $X^2$

	Observed				
	Putih	Bercak	Coklat	Hitam	Jumlah
Rusak	84	34	53	172	343
Baik	229				667
Jumlah	313				1010

$$\text{Expected} = \frac{n_i \times n_j}{N}$$

	Expected				
	Putih	Bercak	Coklat	Hitam	Jumlah
Rusak	$\frac{313 \times 343}{1010} = x$				
Baik	$\frac{313 \times 667}{1010} = y$				
Jumlah					

$$X^2 = \frac{(\text{observed} - \text{expected})^2}{\text{expected}}$$

	$X^2$				
	Putih	Bercak	Coklat	Hitam	Jumlah
Rusak	4.57	3.60	4.23	3.23	
Baik	2.34	1.88	2.14	1.67	
Jumlah					

$X^2 = 23.67$

$H_0 = P_{ij} = P_i \cdot P_j$

i = warna  
J = kerusakan

Probability terpilih secara acak warna dan kerusakan

df = 3

$X^2$  tabel untuk 0.01 = 11.3

$X^2$  tabel <  $X^2$  hitung,  $H_0$  ditolak

Laporan dikumpulkan minggu depan

Data dari 200 biji kacang:

Nama	Putih		Bercak		Coklat		Hitam	
A	9	24	0	0	0	0	0	0
B	6	19	2	22	1	1	7	10
C	19	37	6	22	15	16	50	88
D	2	2	1	1	7	0	18	20
E	2	8	6	10	3	7	6	10
F	0	0	7	8	0	0	14	21
G	6	18	1	4	2	7	9	12