

## A. JUDUL

Pembuatan Preparat Irisan Non Embedding Akar, Batang, dan Daun *Nerium oleander*

## B. TUJUAN

1. Membuat preparat irisan akar, batang, dan daun *Nerium oleander* dengan metode non embedding dan pewarnaan menggunakan zat warna safranin.
2. Menganalisis hasil pembuatan preparat irisan akar, batang, dan daun *Nerium oleander* dengan metode non embedding dan pewarnaan menggunakan zat warna safranin

## C. DASAR TEORI

Tumbuhan vaskular harus mengabsorpsi air dan mineral dari bawah permukaan tanah serta karbondioksida dan cahaya dari atas permukaan tanah. Kemampuan untuk memperoleh sumber daya-sumber daya ini berasal dari evolusi tiga organ dasar-akar, batang, dan daun (Campbell *et al*, 2008). Akar merupakan bagian bawah dari sumbu tumbuhan dan biasanya berkembang di bawah permukaan tanah, meskipun terdapat juga akar yang tumbuh di atas tanah. Pada spermatophyta, berkas xilem dan floem tersusun berselang-seling, sedangkan pada batang berkas pengangkutnya kolateral, bikolateral, atau amfivasal. Pada jarak tertentu dari inisial pucuk akar, dapat dibedakan jaringan tudung akar, epidermis, korteks, dan silinder pusat. Epidermis berdinding tipis, tidak memiliki kutikula meskipun seringkali dinding terluar sel, termasuk rambut akar mengalami kutinisasi. Epidermis akar biasanya selapis dan dapat membentuk tonjolan menjaid rambut akar yang berfungsi untuk menyerap air dan agarm. Sebagian korteks terdiri atas jaringan parenkim. Korteks akar biasanya lebih lebar dari korteks batang. Endodermis membatasi bagian dalam akar dengan korteks. Pada akar primer tampak pita caspary pada dinding menjari endodermis. Pada penampang melintang akar, xilem dan floem berselangseling. Pada dicoyledoneae dan gymnospermae jumlah untaain xilem dalam akar sedikitnya antara 2-4 (Susilowati, 2006).

Batang dikelilingi epidermis. Disebelah dalam epidermis terdapat korteks yag terdiri atas beberapa tipe sel. Daerah diluar korteks yang berbatasan dengan epidermis terdiri atas kolenkim atau serabut. Batas antara korteks dan stele adalah endodermis. Lapisan endodermis batang dicotyledoneaea seringkali berisi butir tepung sehingga ini disebut sarug tepung. Di sebelah dalam endodermis adalah stele yang berisi sistem pembuluh. Empulur merupakan tubuh silindris dari jaringan di bagian tengah batang yang dikelilingi oleh jaringan pembuluh. Pada kebanyakan dikotil berkayu daerah antar pembuluhnya sempit. Di bawah epidermis terdapat selapis sel parenkim yang kemudian menjadi beberapa lapisan kolenkim. Bagian korteks yang lain terdiri atas sel parenkim yang berisi klorofil (Susilowati, 2006).

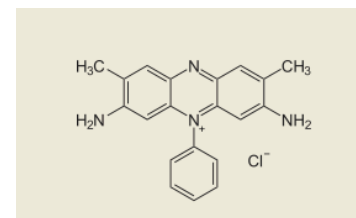
Secara morfologi dan anatomi, daun merupakan organ tumbuhan yang paling beragam. Jaringan epidermis atas berbeda dengan epidermis bawah. Permukaan atas daun disebut adaksial

sedangkan permukaan bawah disebut abaksial. Mesofil terdiri atas jaringan parenkim yang terdapat di sebelah dalam epidermis. Ada kebanyakan tumbuhan terdapat dua tipe parenkim dalam medosil, yaitu parenkim palisade dan parenkim spons (Susilowati, 2006).

Preparat irisan adalah preparat yang objeknya merupakan irisan dari bagian objek yang diamati. Tujuan pembuatan preparat ini adalah untuk dapat menyediakan preparat mikroskopis yang dapat memperlihatkan struktur bagian yang diiris secara lengkap seperti keadaan yang sebenarnya. Jika bahan yang bersangkutan diiris secara langsung menggunakan silet tajam dengan bantuan gabus atau *hand mikrotom* sebagai penahan bahan pada waktu proses pengirisan, maka preparat tersebut juga disebut dengan preparat irisan bebas atau *non embedding* (Rudyatmi, 2015).

Safranin sebagai zat warna termasuk dalam golongan azine, yaitu golongan zat warna yang mengandung cincin orthoquinonoid yang dihubungkan dengan bentuk cincin lainnya melalui 2 atom N. Safranin adalah suatu chloride dan zat warna basa yang kuat. Oleh karena itu, zat warna ini cocok untuk mewarnai kromatin dan terutama untuk kromosoma (Suntoro, 1983). Struktur, formula, dan kelarutan safranin adalah sebagai berikut.

- Michrome No. 405
- Zat warna basa
- Solubilitas pada temperatur 15 ° C air 4,5%; alkohol (absolut) 3,5%





Gambar 1. Struktur kimia safranin

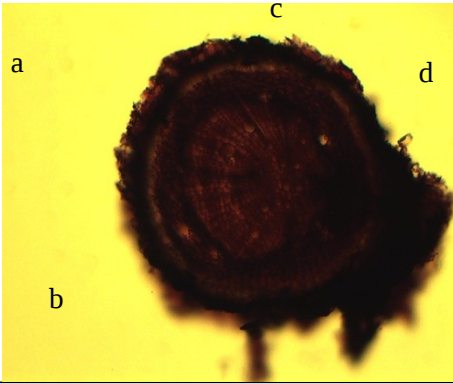
#### D. LANGKAH KERJA

Organ akar, batang, dan daun *Nerium oleander* dewasa dan segar diiris melintang menggunakan silet tajam dengan bantuan gabus. Hasil irisan ditampung pada petri dish yang berisi air. Irisan melintang organ akar, batang, dan daun diletakkan diatas *object glass* secara berderet. Irisan organ akar, batang, dan daun disortir dengan pengamatan mikroskop, dipilih yang benar-benar representatif. Irisan representatif difiksasi dalam botol flakon yang berisi FAA selama 24 jam. Fiksatif dipindahkan ke botol flakon sisa. Irisan dicuci menggunakan alkohol 70% sebanyak dua kali. Larutan pencuci kemudian dipindahkan ke dalam botol sisa. Irisan organ akar, batang, dan daun diwarnai safranin 1% dalam alkohol 70% selama 24 jam. Zat warna dipindahkan ke dalam botol flakon sisa. Irisan dicuci dengan alkohol 70% sebanyak dua kali. Larutan pencuci kemudian dipindahkan dalam botol sisa. Irisan organ akar, batang, dan daun didehidrasi dengan alkohol bertingkat: 70%, 80%, 90% dan absolut. Larutan dehidran dipindahkan ke dalam flakon sisa. Irisan didealkoholisasi dengan alkohol:xilol bertingkat masing-masing 3:1, 1:1, dan 1:3, xilol I dan xilol II. Sisa dari larutan yang telah digunakan masing-masing dipindahkan dalam botol sisa. Obyek preparat diletakkan pada object glass

dengan bantuan kuas. Preparat ditetesi kanada balsam lalu ditutup deck glass. Preparat dikeringangin di atas nampan preparat dan diberi label 1cm dari tepi kanan objek glass.

## E. HASIL PENGAMATAN

No	Perbesaran	Gambar	Keterangan
1.	10x10		<p><b>PL. Daun <i>Nerium oleander</i></b>  Pewarna : Safranin  3 Juni 2015</p> <p>Keterangan :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Kutikula</li> <li>b. Epidermis atas</li> <li>c. Palisade</li> <li>d. Spons</li> <li>e. Epidermis bawah</li> <li>f. Stomata</li> <li>g. Trikoma</li> <li>h. Berkas vaskuler</li> <li>i. Floem</li> <li>j. Xilem</li> </ul> <p>Setiap jaringan dapat diamati dengan baik. Preparat cukup tipis, terwarna oleh safranin dengan baik, kontras dengan bagian-bagian lain.</p>
2.	4x10		<p><b>PL. Batang <i>Nerium oleander</i></b>  Pewarna : Safranin  3 Juni 2015</p> <p>Keterangan :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Epidermis</li> <li>b. Korteks</li> <li>c. Floem sekunder</li> <li>d. Kambium vaskular</li> <li>e. Xilem sekunder</li> <li>f. Jari-jari vaskular</li> <li>g. Empulur</li> </ul> <p>Setiap jaringan dapat diamati dengan baik. Preparat masih agak tebal, sehingga sel-sel penyusun jaringan tampak bertumpuk. Preparat terwarna oleh</p>

			safranin dengan baik, kontras dengan bagian-bagian lain.
3.	10x10		<p><b>PL. Akar <i>Nerium oleander</i></b>  Pewarna : Safranin  3 Juni 2015</p> <p>Keterangan :  a. Epidermis  b. Korteks  c. Floem sekunder  d. Xilem sekunder  e. Empulur</p>
		<p>Setiap jaringan dapat diamati dengan baik. Sayatan akar masih tebal, sehingga sel-sel penyusun jaringan tampak bertumpuk-tumpuk. Preparat terwarnai oleh safranin dengan baik, kontras dengan bagian-bagian lain.</p>	

Berdasarkan foto dan hasil pengamatan, preparat irisan melintang batang dan daun *Nerium oleander* dengan metode non embedding teramati cukup baik, sedangkan preparat melintang akar masih terlalu tebal sehingga kurang dapat diamati. Preparat batang dan daun cukup tipis, transparan, dan tampak kontras, sedangkan preparat akar masih tebal dan belum transparan. Irisan melintang akar, batang, dan daun *Nerium oleander* terwarnai safranin dengan baik.

## F. PEMBAHASAN

Tujuan dari pembuatan preparat irisan non embedding akar, batang, dan daun *Nerium oleander* ialah untuk menyediakan preparat mikroskopis akar, batang, dan daun *Nerium oleander* yang dapat memperlihatkan struktur bagian yang diiris secara lengkap seperti keadaan yang sebenarnya di alam. Preparat irisan melintang batang, dan daun *Nerium oleander* teramati cukup baik, preparat cukup tipis, transparan, terwarnai, serta kontras, selain itu struktur bagian yang diiris juga lengkap. Irisan batang, dan daun *Nerium oleander* tampak terwarnai safranin dengan baik, preparat tampak kontras sehingga dapat dibedakan antara jaringan epidermis, palisade, spons, berkas pengangkut, bahkan stomata, trikoma dan kutikula. Preparat akar *Nerium oleander* memiliki struktur lengkap, namun masih tebal dan kurang transparan. Preparat akar ini terwarnai dengan baik, namun karena terlalu tebal preparat menjadi susah diamati perbagiannya.

Pada preparat irisan melintang akar dapat dilihat adanya jaringan epidermis yang terwarnai kuat, korteks, floem sekunder, xylem sekunder, dan empulur. Pada preparat irisan melintang batang dapat dilihat adanya jaringan epidermis, korteks, floem sekunder, kambium vaskuler, xylem sekunder, dan empulur. Pada preparat irisan melintang daun dapat dilihat adanya

jaringan epidermis atas dan bawah yang berlapis terwarna kuat dan kutikula yang transparan, jaringan mesofil yang menunjukkan adanya parenkim palisade dan spons, berkas pengangkut, stomata dengan trikoma.

Praktikum pembuatan preparat irisan dilakukan dengan pewarna safranin 1% dalam alkohol 70%. Zat warna safranin baik digunakan pada tumbuhan karena mewarnai hampir seluruh bagian jaringan pada tumbuhan. Safranin merupakan zat warna basa, sehingga mampu mewarnai inti karena inti mengandung kromatin-kromatin yang bersifat asam. Proses fiksasi menggunakan fiksatif FAA yang terbuat dari campuran bahan formalin, asam asetat glasial, dan alkohol 70%. Kelebihan dari fiksatif ini adalah harganya yang terjangkau, menghemat waktu dan biaya. Formalin dan alkohol dapat menyebabkan pengerasan jaringan, oleh karena itu asam asetat glasial ditambahkan untuk mengurangi dampak negatif alkohol dan formalin (Rudyatmi, 2015).

Proses dehidrasi dilakukan untuk menarik air dalam jaringan karena beradaan air dalam preparat awetan akan membuat preparat tampak keruh. Pada pembuatan preparat ini, zat dehidran yang digunakan adalah alkohol 70%, 80%, 95%, dan absolut. Proses dehidrasi dimulai pada konsentrasi 70% karena zat FAA yang digunakan pada proses fiksasi menggunakan campuran alkohol 70%. Dealkoholisasi dilakukan untuk menjernihkan preparat dengan menghilangkan alkohol dari dalam sel penyusun jaringan dengan menggunakan xilol bertingkat. Dealkoholan yang digunakan adalah larutan alkohol:xilol 3:1, 1:1, 1:3 yang dilanjutkan dengan xilol murni I dan II. Tujuan pemberian larutan alkohol:xilol adalah untuk menghilangkan sisa air 4% dari proses dehidrasi dengan larutan terakhir yaitu alkohol 96%. Dealkoholan xilol hanya dapat dipakai apabila preparat didehidrasi dengan alkohol absolut. Diharapkan pada akhir proses dealkoholisasi ini dalam jaringan hanya berisi xilol murni. Proses dealkoholisasi berlangsung masing-masing dua menit karena jaringan akan menjadi rapuh apabila terlalu lama berada dalam xilol. Mounting atau penutupan dilakukan dengan media kanada balsam. Kanada balsam merupakan media pengamatan permanen. Preparat yang ditutup dengan media kanada balsam bahkan dapat bertahan hingga 25 tahun (Rudyatmi, 2015).

Tampak beberapa bagian preparat yang sedikit terlihat gelap dan tidak transparan, hal itu karena pengirisan preparat yang kurang tipis, namun tidak mengubah preparat secara signifikan sehingga dapat dikatakan preparat cukup representatif.

## **G. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **1. Kesimpulan**

- a) Preparat isiran akar, batang, dan daun *Nerium oleander* dapat dibuat menggunakan metode non embedding dengan zat warna safranin. Pewarnaan dengan zat warna safranin

dapat memberikan warna kontras, sehingga jaringan-jaringan pada preparat irisan akar, batang, dan daun *Nerium oleander* terlihat jelas bedanya satu sama lain.

- b) Jaringan yang teramati pada preparat daun ialah jaringan epidermis dengan kutikula, parenkim palisade, parenkim spons, berkas pengangkut, stomata dengan trikoma; pada batang dapat teramati jaringan epidermis, korteks, floem sekunder, kambium vaskuler, xylem sekunder, dan empulur; dan pada akar teramati adanya epidermis, korteks, floem sekunder, xylem sekunder, dan empulur.

## **2. Saran**

- a) Pengirisan preparat diusahakan setipis mungkin agar sel-sel tidak menumpuk dan jaringan dapat terlihat dengan jelas.
- b) Dalam pemberian medium, hendaknya menggunakan Canada balsam yang kondisinya baik, agar tidak merusak preparat dengan adanya gelembung udara.
- c) Dalam proses mounting penetesan canada balsam dan penutupan dengan *deck glass* dilakukan dengan hati-hati agar tidak terbentuk gelembung udara.
- d) Pemilihan preparat harus yang benar-benar teliti, sehingga diperoleh irisan yang representatif.

## **H. DAFTAR PUSTAKA**

- Campbell, N.A., J.b. Reece, L.G. Mitchell. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Susilowati, S.M.E. 2006. *Anatomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suntoro, H. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi & Histokimia)*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Rudyatmi, Ely. 2015. *Bahan Ajar Mikroteknik*. Semarang: Jurusan Biologi Fmipa Unnes.



## **LAPORAN**

### **Praktikum Mikroteknik**

### **Preparat Irisan Non Embedding Akar, Batang, dan Daun *Nerium oleander***

Rabu, 3 Juni 2015

disusun oleh

Fina Lutfiya/4401412051

Kelompok 1

Rombel 1 Pendidikan Biologi 2012

**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

**2015**