

Efektivitas Teknik Clearing Daun untuk Pengamatan Karakteristik Mikromorfologi

Trisiswanti¹, Sugimin

¹Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Negeri Surabaya,
Email : trisiswanti@unesa.ac.id

Submisi: 16 Oktober 2019; Penerimaan: 30 Juli 2020

ABSTRAK

Laboratorium merupakan tempat untuk mengaplikasikan teori keilmuan, pengujian teoritis, pembuktian uji coba, penelitian dan sebagainya dengan menggunakan alat bantu yang menjadi kelengkapan dan fasilitas yang memadai. Laboratorium dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan berbagai kompetensi mahasiswa yang menjadi proses pembelajaran IPA di sekolah.

Prosedur clearing pada specimen biologi perlu dilakukan untuk pengamatan karakteristik mikromorfologi. Teknik clearing yang tepat, akan membuat jaringan akan terlihat menjadi transparan yang akan berpengaruh pada pengamatan di bawah mikroskop.

Pada hasil praktikum sistematika tumbuhan, 85% mengalami kegagalan dalam hasil yang diperoleh selama metode clearing. Ada beberapa teknik clearing menggunakan kloral hidrat antara lain kloral hidrat jenuh dalam air dengan perbandingan (5 : 2) ; campuran kloral hidrat jenuh dalam gliserin dan larutan kloral hidrat dalam 4,2% HCl (1 : 8). Oleh karena itu perlu penelitian untuk mengetahui efektivitas teknik clearing daun untuk pengamatan karakteristik mikromorfologi.

Tujuan khusus penelitian untuk mengamati efektivitas perbedaan teknik clearing daun untuk pengamatan karakteristik mikromorfologi. Penelitian ini termasuk penelitian deskriptif dengan lama waktu satu tahun.

Tahapan penelitian ini sebagai berikut : potongan daun nangka, daun mangga dan daun turi dengan ukuran sekitar 10 mm dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 3 jenis perlakuan teknik clearing (Teknik I,II,III). Kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Parameter preparat yang diamati meliputi : ketebalan dinding epidermis, bentuk stoma, pori stoma, sel tetangga dan warna preparat. Kriteria penilaian terdiri dari : amat baik (4), baik (3), kurang baik (2) dan tidak baik (1). Kemudian dilakukan kategori penilaian.

Dari hasil pengamatan (Tabel 1.5) didapatkan bahwa rata-rata hasil scoring teknik clearing I (campuran kloralhidrat dan air perbandingan 5 : 2) memiliki hasil tertinggi sebesar 3 ; 3,6 dan 3,4. Teknik clearing II (larutan kloralhidrat terdiri dari 160 gr kloralhidrat dengan gliserol) memiliki rata-rata penilaian 2 ; 2,6 dan 1,4. Rata-rata teknik clearing III (kloralhidrat 45 gr dalam 4,2% HCl dengan 10 ml gliserol) 1,2 ; 1,2 dan 1

Penggunaan teknik clearing I memiliki hasil yang paling baik daripada teknik II dan III.

Kata kunci : clearing; mikromorfologi; kloral hidrat.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Secara luas telah diakui bahwa mahasiswa belajar dengan melakukan dan dengan memiliki kesempatan untuk

mempraktikkan apa yang telah mereka pelajari [2]. Hasil pembelajaran dengan kegiatan praktikum di laboratorium meliputi: pemahaman konseptual

tentang materi kuliah, keterampilan penalaran ilmiah, keterampilan manipulatif laboratorium, dan pemahaman yang lebih baik tentang penelitian sains. Kegiatan praktikum dirancang untuk menunjukkan konsep spesifik yang relevan dengan kurikulum saat ini dalam pembelajaran, mahasiswa juga akan memiliki kesempatan untuk memperoleh pengetahuan dan pengalaman dalam keterampilan lain yang penting untuk penelitian ilmiah.[1]

Mata kuliah bidang botani dalam Kurikulum Program Studi Biologi Unesa yang pembelajarannya berbasis praktikum antara lain Struktur Perkembangan Tumbuhan (SPT) dan Sistematika Tumbuhan (ST). Meskipun berbeda ruang lingkupnya, kedua mata kuliah ini memiliki penekanan yang sama yaitu pengamatan karakter tumbuhan. Salah satu kegiatan praktikum untuk pencapaian learning outcome SPT dan ST, mahasiswa harus melakukan pengamatan karakter mikromorfologi daun. Karakter yang diamati antara lain bentuk sel epidermis, tipe stomata, indeks stomata, tipe trikوماتa dan kerapatan trikوماتa. Untuk pengamatan karakter tersebut, mahasiswa dapat mempraktikkan metode clearing. Selama ini metode clearing dengan menggunakan kloralhidrat dan colodium [6], namun hasilnya kurang memuaskan. Berdasarkan wawancara dengan dosen pembina mata kuliah SPT dan ST serta mahasiswa menunjukkan bahwa 85 % mengalami kegagalan dalam pembuatan preparat utuh daun yang transparan.

Mohammad Amien (1988) dalam Asri,MT [3] menyatakan dalam Peraturan Pemerintah No 5 tahun 1980 pasal 29 menyebutkan, bahwa laboratorium mempunyai fungsi : 1) mempersiapkan sarana penunjang untuk melaksanakan pendidikan dan pengajaran dalam satu bidang studi dan 2) Mempersiapkan sarana penunjang untuk melaksanakan

penelitian dalam satu bidang studi. Kegiatan laboratorium/praktikum akan memberikan peran yang sangat besar terutama dalam membangun pemahaman konsep dan pembenaran konsep.

Kloral hidrat telah dikenal sejak beberapa puluh tahun yang lalu akan kemampuannya sebagai pelarut clearing. Ada beberapa teknik clearing menggunakan kloral hidrat antara lain kloral hidrat jenuh dalam air dengan perbandingan (5 : 2) [4] ; campuran kloral hidrat jenuh dalam gliserin [6] dan larutan kloral hidrat dalam 4,2% HCl (1 : 8) [8]. Oleh karena itu perlu penelitian untuk mengetahui efektivitas teknik clearing daun untuk pengamatan karakteristik mikromorfologi.

Permasalahan Penelitian

Penelitian yang akan dikaji dalam penelitian ini adalah :

Bagaimanakah efektivitas teknik clearing daun untuk pengamatan karakteristik mikromorfologi ?

TINJAUAN PUSTAKA

Karakteristik Epidermis

Epidermis adalah lapisan paling luar pada alat-alat tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Bentuk, ukuran dan susunan sel epidermis berbeda-beda pada berbagai jenis tumbuhan dan organnya, tetapi semuanya menunjukkan tanda sama yaitu rapat satu sama lain membentuk bangunan padat tanpa ruang antar sel.

Ada beberapa bentuk khusus (derivate) epidermis. Diantaranya adalah stoma yang berarti lubang. Diantara sel-sel epidermis terdapat celah (porus) kecil yang diapit oleh dua sel berbentuk khusus yang berbeda dengan sel epidermis lainnya. Kedua sel berbentuk khusus itu disebut sel penutup (guard cells). Kedua sel penutup bersama-sama celah /lubangnya disebut stoma.

Sel epidermis yang berdekatan dengan sel penutup ini (jumlahnya bisa dua sel atau lebih) disebut sel tetangga.

Rambut-rambut yang tumbuh dari epidermis hamper semua organ tumbuhan. Bentuk dan fungsinya bermacam-macam. Berdasarkan susunan selnya dibedakan atas trikoma uniseluler, yang terdiri satu sel, bisa bercabang dan tidak bercabang dan trikoma multiseluler, yang terdiri dari banyak sel, bisa satu deretan atau beberapa lapisan sel.

Selain stomata dan trikomata, ada pula bentuk epidermis khusus yang lain. Pada epidermis batang Graminae, misalnya tebu dan bambu, epidermis diatas tulang daun, ada yang berbentuk panjang dan ada yang berbentuk pendek. Sel pendek mengandung Kristal silica dan suberin, karena itu disebut sebagai sel silica dan sel gabus yang berpasangan. Pada tumbuhan dari familia Moraceae, Urticaceae dan Cucurbitaceae ditemukan bentuk khusus pada epidermis daunnya yaitu litokis. Bentuk selnya lebih besar daripada sel epidermis normal, mengalami penebalan ke sebelah atas kearah lumen sel.

Tumbuhan rumput-rumputan dan banyak monokotil lain mempunyai epidermis daun yang mempunyai sel-sel dengan bentuk khusus yang disebut sel-sel kipas atau bulliform cells atau motor cells. Sel-sel ini lebih besar daripada sel epidermis normal dengan dinding tipis dan vakuola besar. Sel-sel kipas ini tersusun berderet di seluruh permukaan atas daun atau hanya pada diantara alu-alur berkas pengangkut. Pada irisan melintang bentuknya seperti kipas dengan sel yang paling besar berada di tengah [5].

Tissue Clearing

Semua teknik clearing memiliki tujuan yang sama yaitu : menjadikan sampel biologi menjadi semakin transparan. Biasanya, sampel tidaklah

transparan sehingga menyulitkan pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Salah satu solusi dari permasalahan ini adalah dengan memotong beberapa bagian jaringan biologi hingga tipis (sekitar 10 μm). Namun untuk sampel yang relative besar, pengamatan dengan menggunakan mikroskop masih merupakan kendala karena untuk sel yang tebal tidak bisa dijangkau [6].

Pemahaman mengenai bagaimana tissue clearing dapat bekerja, perlu dipahami kenapa kebanyakan jaringan tidak transparan. Beberapa sampel biologis terdiri dari mayoritas air yang didalamnya juga terdapat bentukan lemak dan protein; semua komponen tersebut akan berinteraksi dengan cahaya yang mengenai jaringan. Beberapa hal yang berpengaruh terhadap komponen tersebut adalah indeks refraksi (RI). Ketika material yang terdiri dari beberapa komponen ukuran kecil dengan indeks refraksi yang berbeda, cahaya akan berinteraksi dengan komponen yang terlihat transparan. Semua metode tissue clearing memiliki strategi yang sama yaitu dengan cara menghomogenkan indeks refraksi sampel dengan cara mengganti dan memodifikasi komponen[8].

Tujuan khusus penelitian

Mengamati efektifitas perbedaan teknik clearing daun

Manfaat penelitian

Teknik clearing daun yang tepat dapat diaplikasikan untuk pengamatan karakteristik mikromorfologi pada mata praktikum Struktur Tumbuhan dan Sistematika Tumbuhan.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan ialah eksperimental.

Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel daun di lakukan sekitar kampus Unesa Ketintang. Pembuatan preparat dengan teknik clearing daun dilakukan di laboratorium Jurusan Biologi FMIPA Unesa. Hasil pengamatan menggunakan mikroskop cahaya merek Motic dengan perbesaran 400x. Dokumentasi hasil preparat menggunakan kamera Moticam 2000. Penelitian ini dilakukan selama 8 bulan mulai bulan Mei sampai dengan bulan November 2019.

Alat dan Bahan

Alat – alat yang digunakan ialah pisau scalpel, beaker glass 250 ml, pengaduk kaca, waterbath, obyek glass, cover glass, tabung reaksi, mikroskop cahaya, kamera mikroskop. Bahan yang digunakan ialah sampel daun nangka, daun mangga, daun turi, kloralhidrat, HCl, gliserol dan entellan

Prosedur perlakuan teknik clearing daun

1. Dibuat potongan segi empat dari sampel daun dengan sisi sekitar 10 mm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi masing-masing formula larutan clearing (3 macam).
2. Teknik clearing I : Tabung reaksi yang berisi potongan daun diisi dengan larutan kloralhidrat (campuran kloralhidrat dan air perbandingan 5 : 2) dan dipanaskan selama 15 menit;
3. Teknik clearing II : Tabung reaksi yang berisi potongan daun diisi dengan larutan kloralhidrat terdiri dari 160 gr kloralhidrat dengan gliserol;
4. Teknik clearing III : Tabung reaksi yang berisi potongan daun diisi dengan campuran kloralhidrat 45 gr dalam 4,2% HCl dengan 10 ml gliserol.
5. Masing-masing teknik tersebut diatas setelah perlakuan, potongan daun diletakkan di atas obyek glass dan di

tetesi dengan entellan kemudian ditutup cover glass. Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

Desain Penelitian

Preparat yang sudah jadi diamati dengan melakukan scoring pada masing-masing aspek karakteristik mikromorfologi.yaitu ketebalan dinding epidermis, bentuk stoma, pori stoma, sel tetangga dan warna preparat. berikut ini. Kriteria penilaian terdiri dari : amat baik (4), baik (3), kurang baik (2) dan tidak baik (1). Kemudian dilakukan kategori penilaian.

Variabel Penelitian

Variabel Kontrol: Suhu ruangan (suhu kamar)

Variabel Terikat: 3 teknik clearing (I,II,III)

Variabel bebas : Karakteristik morfologi (ketebalan dinding epidermis, bentuk stoma, pori stoma, sel tetangga, warna praparat)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik mikromorfologi

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diketahui adanya perbedaan rata-rata teknik clearing pada daun.

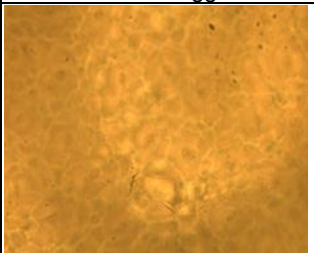
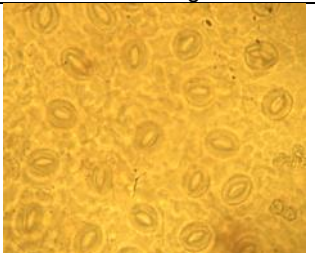
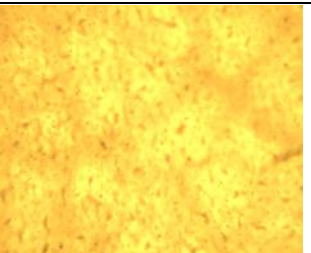
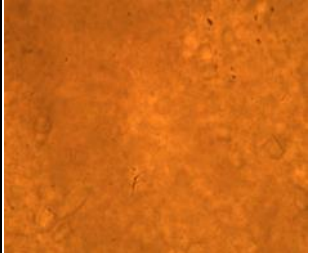
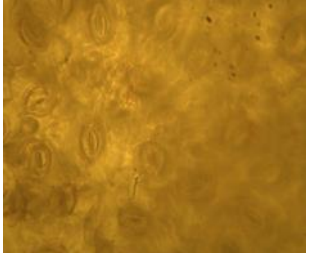
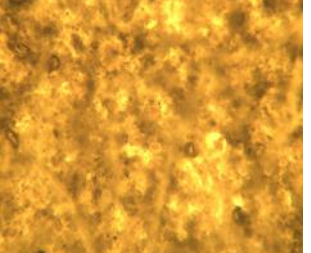
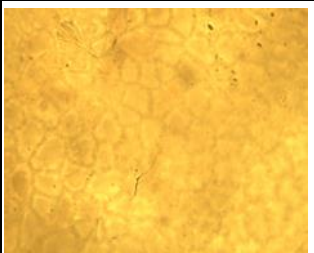

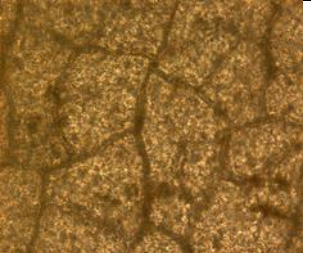
Teknik clearing I (larutan kloralhidrat jenuh) menunjukkan karakteristik mikromorfologi terlihat jelas untuk semua parameter. Penggunaan kloralhidrat berfungsi untuk melarutkan klorofil daun (11). Kloral hidrat telah dikenal sejak lama sebagai agen clearing tumbuhan. Kloral hidrat akan menghomogenisasi indeks bias, mengganti dan memodifikasi komponen sel, sehingga sel terlihat transparan.(6)

Perlakuan teknik clearing II ((larutan kloralhidrat terdiri dari 160 gr

kloralhidrat dengan gliserol), stomata tidak terlalu jelas. Semua parameter karakteristik mikromorfologi menunjukkan penurunan ketidajelasan pada gambar. Namun masih nampak adanya stomata. Penggunaan gliserin pada teknik clearing efektif pada epidermis akar tumbuhan (10)

Pada perlakuan teknik III (Khloral hidrat dan HCl), karakteristik mikromorfologi tidak terlihat sama sekali pada ketiga jenis tumbuhan. Keberadaan asam kuat (HCl) akan menyebabkan terhidrolisis protoplasma sehingga sel akan lisis (9).

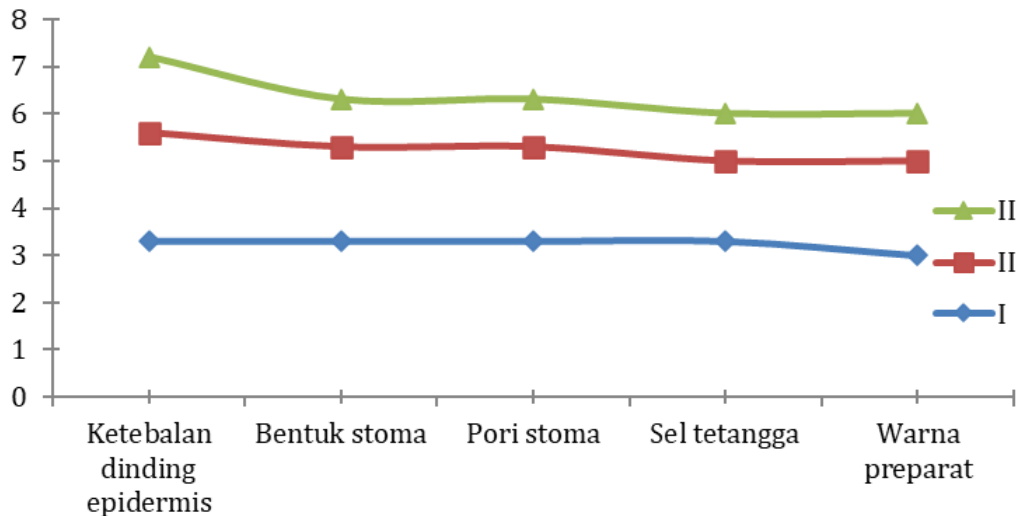
Tabel 1. Hasil Pengamatan teknik *Clearing* daun

Teknik <i>clearing</i>	Tanaman		
	Daun mangga	Daun nangka	Daun turi
I			
II			
III			

Analisis data pengamatan

Tabel 2. Tabel scoring karakteristik mikromorfologi

Teknik <i>clearing</i>	Duan Tanaman	Karakteristik mikromorfologi					Rata - rata
		Ketebalan dinding epidermis	Bentuk stoma	Pori stoma	Sel tetangga	Warna preparat	
I	Mangga	3	3	3	3	3	3
	Nangka	4	4	4	3	3	3,6
	Turi	3	3	3	4	3	3,4
II	Mangga	2	2	2	2	2	2
	Nangka	3	3	3	2	2	2,6
	Turi	2	1	1	1	2	1,4
III	Mangga	2	1	1	1	1	1,2
	Nangka	2	1	1	1	1	1,2
	Turi	1	1	1	1	1	1



Gambar 3. Grafik scoring hasil pengamatan mikromorfologi teknik clearing

Dari hasil pengamatan (Tabel 2) didapatkan bahwa rata-rata hasil scoring teknik clearing I (campuran kloralhidrat dan air perbandingan 5 : 2) memiliki hasil tertinggi sebesar 3 ; 3,6 dan 3,4. Teknik clearing II (larutan kloralhidrat terdiri dari 160 gr kloralhidrat dengan gliserol) memiliki rata-rata penilaian 2 ; 2,6 dan 1,4. Rata- rata teknik clearing III (kloralhidrat 45 gr dalam 4,2% HCl dengan 10 ml gliserol) 1,2 ; 1,2 dan 1. Penggunaan teknik clearing I memiliki hasil yang paling baik daripada teknik II dan III.

PENUTUP

Kesimpulan

1. Dari hasil pengamatan (Tabel 1) didapatkan bahwa rata-rata hasil scoring teknik clearing I (campuran kloralhidrat dan air perbandingan 5 : 2) memiliki hasil tertinggi sebesar 3 ; 3,6 dan 3,4. Teknik clearing II (larutan kloralhidrat terdiri dari 160 gr kloralhidrat dengan gliserol) memiliki rata-rata penilaian 2 ; 2,6 dan 1,4. Rata- rata teknik clearing III (kloralhidrat 45 gr dalam 4,2% HCl dengan 10 ml gliserol) 1,2 ; 1,2 dan 1

2. Penggunaan teknik clearing I memiliki hasil yang paling baik daripada teknik II dan III.

Saran

Penggunaan teknik clearing I lebih efektif untuk digunakan pengamatan karakteristik mikromorfologi. Perlu dilakukan penelitian teknik clearing untuk pengamatan trikoma.

DAFTAR PUSTAKA

1. Almroth, B. C. 2015. The importance of laboratory exercises in biology teaching; case study in an ecotoxicology course. Högskolepedagogiska texter, Enheten för pedagogik och interaktivt lärande (PIL) Göteborgs universitet: 1-11.
2. Kolb, DA. 1984. Experiential learning: Experience as the source of learning and development. Prentice-Hall Englewood Cliffs NJ. 1984. Reference Source [Google Scholar]
3. Asri, M.T dkk. 2018. Dasar-dasar Pengelolaan Laboratorium. Unesa University Press

4. Sutikno. 2016. Buku Panduan Mikroteknik Tumbuhan (BIO 30603). Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal. 8, 13-17.
5. Puspitawati,R.P dan Bashri,A.2018. Struktur Perkembangan Tumbuhan.Unesa University Press.22-25
6. Ariel,Pablo.2018.A Beginner's guide to tissue clearing. 1-5
7. Manokari,M and Mahipal S Shekhawat.2016.Foliar Mocomorphological and Leaf Architectural Studies in *Merremia tridentate* (L.) Hallier.f.Journal of Botanical Papers.Scientific Research Gate
8. Villani,ST.,Koroch,AR.,Simon,JE.2013.An Improved clearing and mounting solution to replace chloral hydrate in microscopic applications.Protocol note.Applications in Plant Science 1(5)
9. R.O. Gardner, 2016, An Overview of Botanical Clearing Technique, journal online : <http://www.tandfonline.com/loi/ibih19>. Taylor & Francis.
10. D.W.Bybd, Kirkpatrick and Barker, 1983, An improved for clearing and staining plant tissue for detection of nematode, journal of nematology
11. Ridesty Rindiastuti dan Lia Hapsari (2017),Adaptasi Ekofisiologi Terhadap Iklim Tropis Kering : Studi Anatomi Daun Sepuluh Jenis tumbuhan Berkayu,Jurnal Biologi Indonesia vol 13(1), 1-14