

Kualitas Preparat Awetan Daun & Batang *Citrus* sp. dengan Variasi Ketebalan Irisan

Quality of The Preserved Preparation in Leaf and Stem Citrus sp. with Various of Cutting Thickness

Gemma Galgani Kharisma*, Wida Hening Sukma Crisdiati

Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta, Indonesia

*corresponding author, Email: gemma@staff.ukdw.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 18/08/2025

Disetujui : 23/12/2025

Abstract

The preserved preparation is an object under microscope observation and could serve as a learning tool in laboratory practice. The sectioning stage using a rotary microtome is the stage for preparing tissue, and its thickness needs to be considered to achieve good preparation. The purpose of this study was to determine the effect of various cutting thickness of 6 μ m, 8 μ m, 10 μ m, 12 μ m in the quality and feasibility of preserved preparation in leaf and stem *Citrus* sp. This study uses experimental research and prepares samples using the plant microtechnique protocol. The data obtained were analyzed using descriptive qualitative methods and the Kruskal-Wallis test, followed by a post hoc test. The results showed that various cutting thickness affected the quality and feasibility of preserved preparation in leaf and stem *Citrus* sp. The percentage of quality and feasibility in preserved preparation of stem *Citrus* sp. : 94.00% (6 μ m); 92.00% (8 μ m); 89.67% (10 & 12 μ m) and preserved preparation of leaf *Citrus* sp. : 93.67% (6 μ m); 94.34% (8 μ m); 86.00% (10 μ m); 79.67% (12 μ m), respectively, with very proper criteria and suitable for observing plant tissues. The thickness sections of 6 and 8 μ m was very suitable to prepare the leaf and stem *Citrus* sp. preserved preparation based on indicator of color contrast and clarity.

Key Words : cutting thickness, quality of the preserved preparation, *Citrus* sp.

Abstrak

Preparat awetan merupakan objek yang diamati di bawah mikroskop dan menjadi media pembelajaran pada kegiatan praktikum. Salah satu tahap pada pembuatan preparat yaitu tahap pemotongan (*sectioning*) dengan mikrotom yang memperhatikan ukuran ketebalan irisan untuk menghasilkan preparat yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi ketebalan irisan kualitas 6 μ m, 8 μ m, 10 μ m, dan 12 μ m terhadap kualitas dan kelayakan hasil preparat awetan daun & batang *Citrus* sp. Penelitian dilakukan secara eksperimen dan pembuatan preparat melalui tahapan sesuai prinsip mikroteknik. Data dianalisis secara deskriptif kualitatif terhadap kualitas dan kelayakan preparat serta hipotesis diuji secara statistik dengan Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji *post hoc*. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi ketebalan irisan berpengaruh terhadap kualitas dan kelayakan hasil preparat awetan daun & batang *Citrus* sp. yang ditunjukkan dengan hasil gambaran mikroskopis dan skor rerata penilaian kualitas preparat yang berbeda pada setiap perlakuan. Hasil rata-rata persentase kualitas dan kelayakan preparat batang *Citrus* sp. yaitu : 94.00% (6 μ m); 92.00% (8 μ m); 89.67% (10 & 12 μ m) sedangkan preparat daun *Citrus* sp. : 93.67% (6 μ m); 94.34% (8 μ m); 86.00% (10 μ m); 79.67% (12 μ m). Hasil tersebut menunjukkan kriteria sangat layak sehingga preparat awetan dapat digunakan untuk pengamatan jaringan tumbuhan pada praktikum struktur perkembangan tumbuhan. Ketebalan irisan 6 & 8 μ m sangat layak digunakan untuk pembuatan preparat awetan batang dan daun *Citrus* sp. berdasarkan indikator penilaian kontras warna dan kejelasan preparat.

Kata kunci : ketebalan irisan, kualitas preparat, *Citrus* sp.

PENDAHULUAN

Materi perkuliahan yang disampaikan oleh dosen dapat dipahami oleh mahasiswa dengan adanya kegiatan praktikum di laboratorium. Salah satu kegiatan praktikum yang dilakukan di Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana (UKDW) yaitu mengamati struktur sel penyusun organ tumbuhan pada mata kuliah struktur perkembangan tumbuhan. Pada pengamatan struktur sel penyusun organ tumbuhan tersebut dibutuhkan media pembelajaran berupa preparat yang dapat diamati di bawah mikroskop.

Preparat awetan merupakan media pembelajaran secara mikroskopis yang biasa digunakan berulang kali. Permasalahan yang umum dihadapi pada penggunaan preparat awetan yaitu keterbatasan jumlah, penggunaan dengan frekuensi berulang, kondisi preparat yang tidak jelas saat dilakukan pengamatan di bawah mikroskop. Masalah teknis pisau mikrotom yang tumpul dan *skill* yang belum terlatih pada SDM baru juga dapat menjadi kendala utama pengadaan ulang preparat awetan. Kondisi tersebut tentunya mengganggu kelancaran pelaksanaan praktikum di laboratorium.

Mikroteknik merupakan teknik pembuatan preparat tumbuhan maupun hewan secara mikroskopis yang bertujuan mempermudah pengamatan bagian tumbuhan dan hewan dengan menggunakan mikroskop (Gunawan, 2019). Preparat berukuran kecil, tipis dan transparan sehingga dapat ditembus oleh cahaya. Untuk memperoleh preparat dapat dibuat dengan beberapa macam metode. Salah satu metode membuat preparat adalah metode parafin (Iriani & Yusfiati, 2015).

Pada metode parafin, pembuatan preparat terdiri dari beberapa tahap yaitu fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembersihan (*clearing*), pembedaan (*embedding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*), dan pelabelan (*labeling*) (Sumanto, 2014). Pemotongan merupakan salah satu tahapan dalam mikroteknik yang sangat penting untuk menghasilkan sediaan yang baik. Pemotongan jaringan adalah proses pemotongan blok jaringan dengan menggunakan mikrotom (Aulina & Iswara, 2019). Pemotongan jaringan (*sectioning*) bertujuan untuk membuat potongan jaringan yang sangat tipis, biasanya antara 4-6 μm yang dapat dipasang pada slide dan dianalisis di bawah mikroskop. Pemotongan jaringan dapat bervariasi tergantung pada jenis jaringan dan tujuan analisis (Digambrio & Parwanto, 2024).

Berdasarkan penelitian Khasanah *et al.* (2022) pada pembuatan preparat untuk pengamatan struktur anatomi akar, batang, dan daun *Citrus* (*Citrus aurantifolia* (Cristm.) Swingle, *Citrus madurensis* Lour, *Citrus nobilis* L. var. *macrocarpa*), penyayatan (*sectioning*) dilakukan dengan mengatur ketebalan sayatan yaitu 8-12 μm . Menurut Yeung *et al.* (2015), pembuatan preparat tumbuhan dengan metode parafin (*embedding*) diatur ketebalan irisan antara 5-10 μm saat *sectioning*.

Tanaman jeruk (*Citrus* sp.) dapat tumbuh baik di daerah tropis dan subtropis sehingga mudah diperoleh di sekitar kita dan umum digunakan untuk pengamatan struktur anatomi organ tumbuhan pada praktikum serta penelitian. Oleh karena itu, tanaman jeruk (*Citrus* sp.) dapat dijadikan sebagai objek pada pembuatan preparat awetan dengan metode parafin. Bagian tumbuhan yang akan digunakan yaitu daun dan batang.

Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana (UKDW) telah melakukan pengadaan alat *rotary microtome* demi mendukung kelancaran kegiatan praktikum. Optimasi metode diperlukan dengan kehadiran alat baru tersebut, salah satunya dengan melakukan penelitian mengenai variasi ketebalan pada tahap *sectioning*. Tahap pemotongan merupakan tahap yang perlu diperhatikan untuk menghasilkan preparat yang baik. Berdasarkan uraian yang sudah dijelaskan di atas, maka penelitian

ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi ketebalan irisan 6 μm , 8 μm , 10 μm dan 12 μm terhadap kualitas dan kelayakan hasil preparat awetan daun & batang *Citrus* sp.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Dasar 2 Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana (UKDW) pada bulan Maret-Juli 2025. Sampel tanaman diambil dari lingkungan perkotaan daerah kecamatan Gondomanan, Yogyakarta. Bahan yang digunakan yaitu daun dan batang *Citrus* sp., formalin, asam asetat glasial, ethanol absolute, alkohol 30%-96%, toluene, *parafin block for histology*, xylol, albumin Mayer, aquadest, safranin 1%, entellan. Alat yang digunakan antara lain gelas beker, pinset, oven (Memmert), *tissue embedding molds*, *embedding cassette*, *rotary microtome* (RWD S700), pisau mikrotom, *object glass*, *cover glass*, *hot plate* (Labinco), *staining jar*, mikroskop (Olympus CX23).

Jenis penelitian eksperimen dengan total sampel yang digunakan 40 preparat awetan yang terdiri dari empat perlakuan yaitu variasi ketebalan irisan 6, 8, 10 dan 12 μm dengan tiap perlakuan lima ulangan. Metode pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan langsung menggunakan mikroskop (perbesaran 100x) dan dokumentasi dengan kamera langsung dari mikroskop. Kualitas preparat awetan divalidasi oleh validator yang merupakan dosen pengampu mata kuliah struktur perkembangan tumbuhan dan mikroteknik. Penilaian preparat berdasarkan skoring kontras warna dan kejelasan preparat. Kejelasan preparat diamati dengan beberapa indikator yaitu: gelembung udara, posisi preparat, identitas dan kelengkapan jaringan tumbuhan (Dafrita & Sari, 2020). Penilaian dilakukan menggunakan lembar observasi (kuesioner) dengan model skoring (skala *Likert*) skala lima poin. Hasil pengamatan dihitung bobot skor kualitas mikroskopis tiap preparat. Penilaian dicatat dan dihitung rata-rata skor tiap variasi ketebalan irisan.

Kejelasan dan kontras preparat dinilai dari bagian-bagian jaringan daun dan batang yang diamati berdasarkan kriteria menurut Wagiyanti & Noor (2017) dengan modifikasi (Tabel 1) sedangkan penilaian kualitas preparat dinyatakan dengan kriteria kelayakan preparat pada Tabel 2.

Data penilaian hasil skoring akan diuji normalitas dengan *Saphiro-Wilk* (sampel < 50). Hipotesis diuji statistik dengan menggunakan Kruskal-Wallis dan apabila terdapat perbedaan signifikan akan dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan.

Tabel 1. Kriteria kejelasan dan kontras preparat

Aspek	Indikator	Kualitas	
		Kriteria	Skor
Kejelasan	Jika bagian-bagian jaringan dapat dibedakan dengan sangat jelas	Sangat baik	5
	Jika bagian-bagian jaringan dapat dibedakan dengan jelas	Baik	4
	Jika bagian-bagian jaringan dapat dibedakan dengan cukup jelas	Cukup baik	3
	Jika bagian-bagian jaringan kurang dapat dibedakan dengan jelas	Kurang baik	2
	Jika bagian-bagian jaringan tidak dapat dibedakan dengan jelas	Tidak baik	1
Kontras	Jika pewarna hanya terikat kuat pada bagian tertentu dari jaringan (tidak mewarnai semua jaringan)	Sangat baik	5
	Jika pewarna hanya terikat pada bagian tertentu dari jaringan (tidak mewarnai semua jaringan)	Baik	4
	Jika pewarna cukup terikat pada bagian tertentu dari jaringan (tidak mewarnai semua jaringan)	Cukup baik	3
	Jika pewarna diikat pada sebagian jaringan (hampir mewarnai semua jaringan)	Kurang baik	2
	Jika pewarna diikat ke semua jaringan (mewarnai semua jaringan)	Tidak baik	1

Tabel 2. Kriteria Kelayakan Preparat (Dafrita & Sari, 2020)

Persentase penilaian kualitas preparat (%)	Keterangan
81.25 – 100	Sangat layak
62.50 – 81.24	Layak
43.75 – 62.49	Cukup layak
25.00 – 43.74	Kurang layak
< 25	Tidak layak

Pembuatan preparat awetan daun dan batang menggunakan metode parafin (*embedding*) (Yeung *et al.*, 2015; Khasanah *et al.*, 2022) dengan modifikasi. Tahapan metode parafin yaitu organ tumbuhan yang telah dipotong dimasukkan ke dalam larutan fiksasi 5% formalin, 5% asam asetat glasial, 90% alkohol (FAA) selama 24 jam. Dehidrasi dilakukan dengan merendam potongan organ ke dalam alkohol secara bertingkat yaitu 70%, 80%, 90% dan alkohol absolut masing-masing selama 60 menit. Dealkoholisasi (*clearing*) dilakukan dengan merendam potongan organ ke dalam larutan toluene selama 24 jam. Tahap infiltrasi dilakukan dengan memasukkan potongan organ ke dalam parafin cair dan diinkubasi dalam oven dengan suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.

Menurut (Dafrita & Sari, 2020), kelayakan preparat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Nilai} = \frac{\text{Total skor validasi}}{\text{Jumlah skor maksimal}} \times 100\%$$

Penanaman organ (*embedding*) ke dalam cetakan yang berisi parafin, letak organ diatur sesuai arah potongan yang diinginkan (melintang atau membujur). Parafin yang berisi jaringan dibiarkan hingga mengeras pada suhu ruang lalu dikeluarkan dari cetakan (Sumanto, 2014).

Tahap pengirisan (*sectioning*) dengan cara melakukan pengirisan pada blok parafin yang telah berisi potongan sayatan melintang yang diletakkan pada *holder rotary microtome*. Pengirisan dilakukan dengan mengatur ketebalan pada 6, 8, 10 dan 12 μm . Penempelan (*affixing*) dilakukan dengan menempelkan hasil sayatan berupa pita-pita parafin pada *object glass* menggunakan air hangat pada waterbath. Sebelum penempelan, *object glass* sudah diolesi dengan Albumin Mayer sebagai perekat jaringan lalu *object glass* yang berisi jaringan diletakkan di atas *hot plate* untuk perekatan (Sumanto, 2014). Sebelum tahap pewarnaan, lakukan deparafinisasi dengan merendam *object glass* ke dalam xylol selama 30 menit. Pewarnaan dimulai dengan mencuci *object glass* ke dalam alkohol secara bertingkat 96% - 30% satu per satu sampai dengan aquadest lalu masukkan ke dalam safranin 1% selama 20 menit. Lakukan pembilasan dengan air mengalir lalu aquadest dan cuci dengan alkohol bertingkat dari 30% - 96% kemudian keringkan preparat lalu rendam lagi ke dalam xylol. Penutupan (*mounting*) dilakukan dengan cara entellan ditetaskan pada *object glass* lalu tutup sayatan secara perlahan menggunakan *cover*

glass. Preparat diamati di bawah mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kualitas preparat awetan daun dan batang *Citrus* sp. dengan variasi ketebalan irisan berdasarkan indikator kontras warna, kejelasan & ketebalan serta keutuhan dapat dilihat pada Gambar 1.

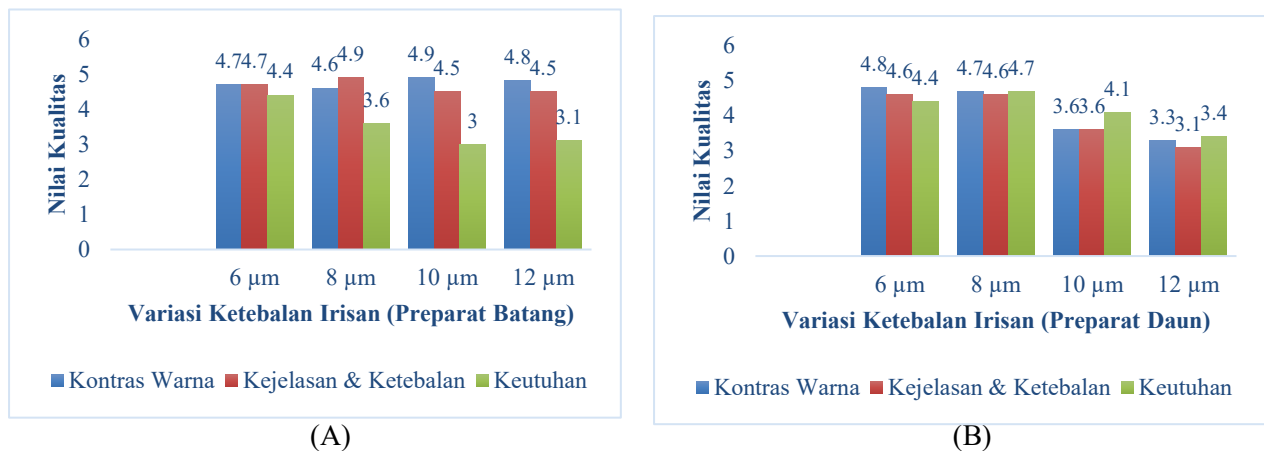
Hasil penilaian pada Gambar 1 bagian (A) menunjukkan rerata sangat baik pada semua variasi ketebalan irisan berdasarkan indikator kontras warna serta kejelasan & ketebalan sedangkan indikator keutuhan pada irisan 8, 10 dan 12 μm menunjukkan rerata baik. Gambar 1 bagian (B) menunjukkan rerata sangat baik pada ketebalan irisan 6 & 8 μm sedangkan ketebalan irisan 10 dan 12 μm menunjukkan rerata baik berdasarkan indikator kontras warna, kejelasan & ketebalan serta keutuhan. Berdasarkan hasil tersebut, maka kualitas preparat batang dan daun *Citrus* sp. dengan ketebalan irisan 6 & 8 μm memberikan gambaran yang lebih baik dibandingkan irisan 10 & 12 μm dari segi kontras warna, kejelasan & ketebalan serta keutuhan.

Hasil rerata skor penilaian terhadap kualitas preparat batang dan daun *Citrus* sp. (Tabel 3) secara keseluruhan menunjukkan bahwa perlakuan variasi

ketebalan irisan memberikan rerata sangat baik dengan tingkat kualitas preparat yang berbeda-beda. Hasil kualitas preparat awetan batang & daun *Citrus* sp. dengan ketebalan irisan 6 & 8 μm menunjukkan nilai rerata tinggi dibandingkan ketebalan irisan 10 & 12 μm .

Berdasarkan pengamatan mikroskopis, preparat batang *Citrus* sp. (Gambar 2) memiliki kontras warna sangat baik karena pewarna hanya terikat kuat pada bagian tertentu dari jaringan sehingga bagian jaringan mudah dibedakan. Struktur jaringan tampak jelas, tidak menumpuk dan mudah diamati. Akan tetapi, pada gambar 2B, 2C dan 2D terdapat struktur jaringan tidak utuh (robek) pada ketebalan irisan 8, 10 dan 12 μm . Retaknya hasil potongan jaringan dapat diakibatkan oleh panas karena gesekan blok parafin dengan pisau mikrotom berkali-kali (Sumanto, 2014). Kecepatan pemotongan yang tidak konsisten dapat menyebabkan lipatan / kerutan pada pita parafin (Yeung *et al.*, 2015).

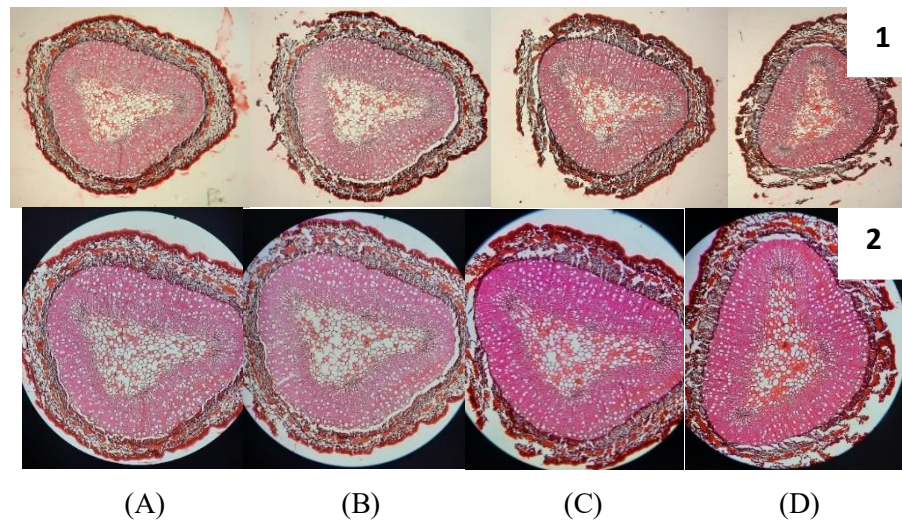
Pewarna safranin dapat mewarnai jaringan pada batang *Citrus* sp. dengan warna merah kontras sehingga bagian jaringan dapat dibedakan. Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat diamati menggunakan mikroskop. Warna yang tampak pada jaringan



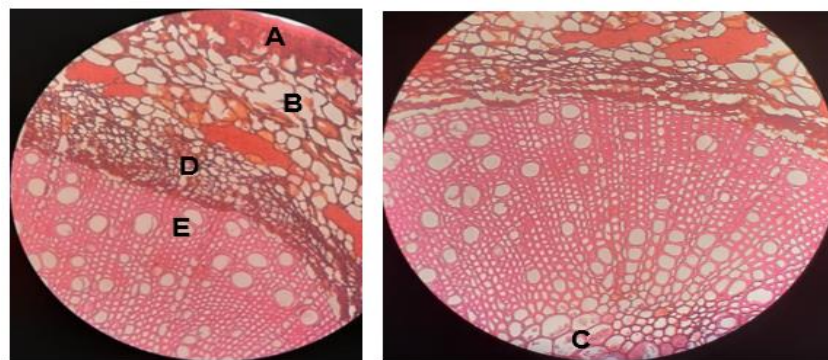
Gambar 1. Histogram rerata kualitas preparat (A) batang dan (B) daun *Citrus* sp. dengan variasi ketebalan irisan
Keterangan : Skor kualitas ≤ 1.00 = tidak baik; 1.01-2.00 = kurang baik; 2.01-3.00 = cukup baik; 3.01-4.00 = baik; 4.01-5.00 = sangat baik.

Tabel 3. Analisis deskriptif hasil skoring kualitas preparat batang dan daun *Citrus* sp.

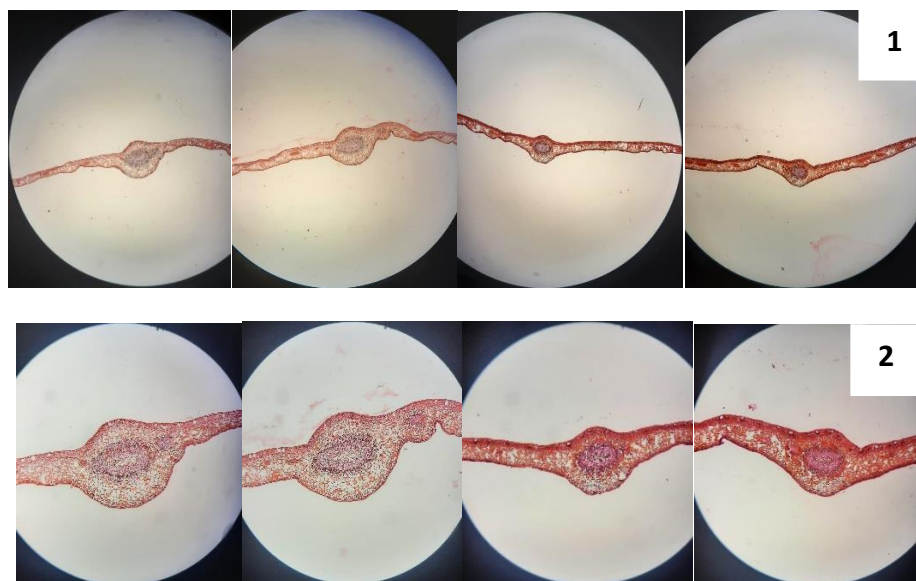
Preparat	Perlakuan	Minimum	Maximum	Mean
Batang	Irisan 6 μm	4.50	4.92	4.70 $\pm$ 0.17
	Irisan 8 μm	4.50	4.75	4.60 $\pm$ 0.09
	Irisan 10 μm	4.42	4.59	4.48 $\pm$ 0.07
	Irisan 12 μm	4.42	4.50	4.48 $\pm$ 0.04
Daun	Irisan 6 μm	3.92	4.92	4.68 $\pm$ 0.43
	Irisan 8 μm	4.50	4.92	4.72 $\pm$ 0.20
	Irisan 10 μm	4.00	4.50	4.30 $\pm$ 0.18
	Irisan 12 μm	3.67	4.50	3.99 $\pm$ 0.31



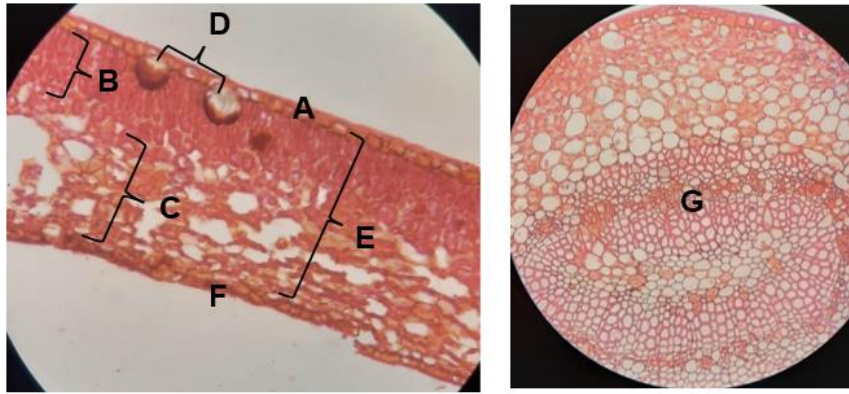
Gambar 2. Penampang melintang pada preparat batang *Citrus* sp. (1) perbesaran 4x10 dan (2) perbesaran 10x10 dengan variasi ketebalan irisan: (A) 6 μm ; (B) 8 μm ; (C) 10 μm ; dan (D) 12 μm



Gambar 3. Susunan penampang melintang jaringan batang *Citrus* sp. (perbesaran 40x10)
Keterangan : (A) epidermis; (B) kortex; (C) empulur; (D) floem dan (E) xilem



Gambar 4. Penampang melintang pada preparat daun *Citrus* sp. (1) perbesaran 4x10 dan (2) perbesaran 10x10 dengan variasi ketebalan irisan : (A) 6 μm ; (B) 8 μm ; (C) 10 μm dan (D) 12 μm



Gambar 5. Susunan penampang melintang jaringan daun *Citrus* sp. (perbesaran 40x10)

Keterangan : (A) epidermis atas; (B) palisade; (C) spons; (D) sel minyak; (E) mesofil (F) epidermis bawah dan (G) berkas pengangkut

merupakan hasil ikatan molekul antara zat warna dengan jaringan tertentu (Indasari *et al.*, 2013). Struktur jaringan yang dapat diamati yaitu: epidermis, korteks, empulur dan berkas pengangkut (Gambar 3). Hasil tersebut sesuai dengan sayatan melintang batang tiga jenis jeruk pada penelitian (Khasanah *et al.*, 2022) yang menunjukkan tiga sistem jaringan yaitu jaringan dermal (epidermis), jaringan dasar (korteks dan empulur), dan jaringan pembuluh (xilem dan floem).

Hasil pengamatan secara mikroskopis pada preparat daun *Citrus* sp. menunjukkan kontras warna sangat baik, struktur jaringan tampak jelas dan utuh, tidak menumpuk, mudah dibedakan dan mudah diamati pada preparat irisan 6 & 8 μm (Gambar 4A, 4B). Pada Gambar 4C dan 4D menunjukkan kontras warna baik, struktur jaringan tampak menumpuk sehingga batas antar sel tidak jelas. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan struktur jaringan daun tampak tidak lurus ada bagian yang melengkung dikarenakan saat tahap *affixing* dilakukan dengan cara tidak tepat yaitu suhu air yang digunakan saat meregangkan potongan pita-parafin terlalu rendah sehingga lipatan / kerutan tidak dapat hilang dan jaringan tampak tidak rata. Menurut Megias *et al.* (2025), setelah tahap *sectioning* potongan pita jaringan diletakkan di atas air hangat (35-40°C) sebelum ditempelkan ke *object glass*. Fungsinya untuk meregangkan parafin yang terlipat saat pemotongan agar hasil struktur jaringan yang terbentuk dapat lurus, tidak ada lekukan atau lipatan. Suhu menjadi kunci utama untuk meregangkan pita parafin.

Struktur jaringan yang dapat diamati pada Gambar 5 yaitu : epidermis atas, jaringan mesofil (jaringan palisade dan jaringan bunga karang / spons), sel minyak, berkas pengangkut, epidermis bawah. Hasil tersebut sesuai dengan sayatan melintang daun tiga jenis jeruk pada penelitian (Khasanah *et al.*, 2022) yang menunjukkan susunan

jaringan berupa epidermis atas, mesofil (jaringan palisade dan bunga karang), epidermis bawah dan pada bagian mesofil (jaringan palisade) terdapat adanya sel minyak berbentuk bulat.

Safranin digunakan secara umum sebagai pewarna dalam histologi tumbuhan untuk mewarnai inti sel dengan warna merah dan beberapa dinding sel yang mengalami lignifikasi. Safranin bertindak sebagai pewarna kationik basa yang memiliki afinitas terhadap komponen asam seperti DNA dan beberapa senyawa matriks ekstraseluler yang kaya akan molekul asam (Megias *et al.*, 2025). Penyerapan warna pada setiap jaringan berbeda pada preparat awetan batang dan daun *Citrus* sp. (Gambar 2 & 4) disebabkan oleh struktur masing-masing jaringan. Jaringan parenkim penyusun korteks, empulur, mesofil memiliki kemampuan penyerapan zat warna yang lebih rendah dibandingkan jaringan lainnya. Hal ini dikarenakan parenkim memiliki dinding sel yang tipis dan tidak mengalami lignifikasi sehingga penyerapan tidak optimal baik pada pewarna safranin. Tebal dan tipis dinding sel penyusun jaringan apalagi yang mengalami lignifikasi sangat mempengaruhi dalam penyerapan zat warna (Sa'diyah *et al.*, 2015).

Hasil pengamatan mikroskopis pada preparat daun & batang *Citrus* sp. (Gambar 2 & 4) menunjukkan hasil intensitas pewarnaan meningkat seiring dengan ketebalan irisan. Gambaran irisan 10 & 12 μm terlihat sel saling menumpuk yang disebabkan oleh penyerapan yang kurang baik karena pemotongan yang terlalu tebal. Menurut (Ariyadi & Suryono, 2017; Chlipala *et al.*, 2020), irisan jaringan yang tipis menyebabkan penyerapan warna tidak sempurna sedangkan irisan jaringan yang terlalu tebal menyebabkan intensitas warna akan meningkat pada bagian yang lebih tebal. Berdasarkan pengamatan mikroskopis yang telah diuraikan di atas maka hasil preparat daun & batang *Citrus* sp. dengan irisan 6 & 8 μm memberikan gambaran kualitas terbaik dibandingkan dengan irisan 10 & 12 μm .

Tabel 4. Hasil Penilaian Kualitas dan Kelayakan Preparat Awetan Daun & Batang *Citrus* sp.

No.	Preparat	Irisan	Persentase Kualitas & Kelayakan Preparat (%)		Rata-rata (%)	Rata-rata per irisan (%)	Kriteria
			V1	V2			
1	Batang U1	6 μ m	96.67	96.67	96.67	94.00	SANGAT LAYAK
2	Batang U2	6 μ m	96.67	90.00	93.34		
3	Batang U3	6 μ m	90.00	90.00	90.00		
4	Batang U4	6 μ m	96.67	100.00	98.34		
5	Batang U5	6 μ m	93.33	90.00	91.67		
6	Batang U1	8 μ m	90.00	93.33	91.67	92.00	SANGAT LAYAK
7	Batang U2	8 μ m	90.00	93.33	91.67		
8	Batang U3	8 μ m	93.33	90.00	91.67		
9	Batang U4	8 μ m	90.00	90.00	90.00		
10	Batang U5	8 μ m	93.33	96.67	95.00		
11	Batang U1	10 μ m	90.00	93.33	91.67	89.67	SANGAT LAYAK
12	Batang U2	10 μ m	90.00	90.00	90.00		
13	Batang U3	10 μ m	90.00	86.67	88.34		
14	Batang U4	10 μ m	86.67	93.33	90.00		
15	Batang U5	10 μ m	86.67	90.00	88.34		
16	Batang U1	12 μ m	90.00	90.00	90.00	89.67	SANGAT LAYAK
17	Batang U2	12 μ m	86.67	93.33	90.00		
18	Batang U3	12 μ m	86.67	93.33	90.00		
19	Batang U4	12 μ m	86.67	93.33	90.00		
20	Batang U5	12 μ m	86.67	90.00	88.34		
21	Daun U1	6 μ m	96.67	100.00	98.34	93.67	SANGAT LAYAK
22	Daun U2	6 μ m	93.33	96.67	95.00		
23	Daun U3	6 μ m	96.67	100.00	98.34		
24	Daun U4	6 μ m	96.67	100.00	98.34		
25	Daun U5	6 μ m	66.67	90.00	78.34		
26	Daun U1	8 μ m	96.67	96.67	96.67	94.34	SANGAT LAYAK
27	Daun U2	8 μ m	96.67	100.00	98.34		
28	Daun U3	8 μ m	96.67	96.67	96.67		
29	Daun U4	8 μ m	83.33	96.67	90.00		
30	Daun U5	8 μ m	83.33	96.67	90.00		
31	Daun U1	10 μ m	80.00	93.33	86.67	86.00	SANGAT LAYAK
32	Daun U2	10 μ m	80.00	93.33	86.67		
33	Daun U3	10 μ m	83.33	90.00	86.67		
34	Daun U4	10 μ m	70.00	90.00	80.00		
35	Daun U5	10 μ m	80.00	100.00	90.00		
36	Daun U1	12 μ m	63.33	83.33	73.33	79.67	LAYAK
37	Daun U2	12 μ m	63.33	90.00	76.67		
38	Daun U3	12 μ m	70.00	90.00	80.00		
39	Daun U4	12 μ m	63.33	93.33	78.33		
40	Daun U5	12 μ m	86.67	93.33	90.00		

Keterangan : Nilai persentase 81.25-100% = sangat layak; 62.50- 81.24% = layak (Dafrita & Sari, 2020)

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil preparat yaitu: kondisi pisau mikrotom baik dan tajam, konsistensi kecepatan saat pemotongan, sebelum tahap pemotong dipastikan suhu blok preparat yang berisi jaringan harus dijaga dalam kondisi dingin agar hasil potongan pita jaringan tidak mudah menempel dan tidak menggulung, kondisi suhu air hangat saat proses meregangkan pita parafin, air yang harus digunakan pada tahap *affixing* adalah air suling bersih untuk mencegah adanya kontaminasi yang tidak diharapkan pada hasil preparat.

Penilaian kualitas dan kelayakan preparat daun & batang *Citrus* sp. divalidasi oleh validator 1 dan 2 dengan metode skoring lima poin dan dinilai berdasarkan indikator kontras warna dan kejelasan preparat (gelembung udara, posisi preparat, identitas

dan kelengkapan jaringan tumbuhan). Hasil penilaian rata-rata kualitas dan kelayakan pada preparat batang *Citrus* sp. (Tabel 4) sebagai berikut : 94.00% (6 μ m), 92.00% (8 μ m), 89.67% (10 & 12 μ m) yang menunjukkan kriteria sangat layak. Hasil penilaian rata-rata kualitas dan kelayakan pada preparat daun *Citrus* sp. (Tabel 4) sebagai berikut : 93.67% (6 μ m), 94.34% (8 μ m), 86.00% (10 μ m) dan 79.67% (12 μ m). Hasil tersebut menunjukkan kriteria sangat layak untuk irisan 6, 8 dan 10 μ m sedangkan pada irisan 12 μ m memperoleh kriteria layak.

Hasil diatas menunjukkan bahwa preparat daun & batang *Citrus* sp. dengan irisan 6 dan 8 μ m memiliki persentase penilaian kualitas & kelayakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan irisan 10 & 12 μ m. Berdasarkan penilaian tersebut maka preparat

awetan daun & batang *Citrus* sp. dapat digunakan untuk pengamatan jaringan tumbuhan pada praktikum struktur perkembangan tumbuhan.

Hasil uji normalitas data menggunakan Saphiro-Wilk untuk kualitas preparat daun & batang *Citrus* sp. dengan variasi ketebalan irisan menghasilkan distribusi data tidak normal sehingga dilanjutkan dengan uji hipotesis non parametrik Kruskal-Wallis untuk membandingkan penilaian antara dua kelompok atau lebih kelompok independen dan jika ada perbedaan dilanjutkan uji *post hoc* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan.. Hasil uji Kruskal-Wallis dapat dilihat pada Tabel 5 dan uji *post hoc* pada Tabel 6.

Tabel 5. Hasil Uji Kruskal-Wallis Terhadap Kualitas Preparat Daun & Batang *Citrus* sp.

Preparat	Kualitas Preparat	<i>p value</i>
Batang	Irisan 6 μ m	0.016*
	Irisan 8 μ m	
	Irisan 10 μ m	
	Irisan 12 μ m	
Daun	Irisan 6 μ m	0.015*
	Irisan 8 μ m	
	Irisan 10 μ m	
	Irisan 12 μ m	

Keterangan : * Perbedaan signifikan ($p < 0.05$)

Tabel 5 diperoleh hasil uji Kruskal-Wallis dengan signifikansi $p = 0.016$ ($p < 0.05$) pada preparat batang dan $p = 0.015$ ($p < 0.05$) pada preparat daun yang menunjukkan adanya perbedaan kualitas hasil preparat berdasarkan variasi ketebalan irisan sedangkan pada Tabel 6 (uji *post hoc*) menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan untuk kualitas preparat batang *Citrus* sp. pada pasangan kelompok ketebalan irisan. Hasil uji *post hoc* (Tabel 6) untuk preparat daun *Citrus* sp. menunjukkan beda nyata terhadap kualitas preparat antara pasangan kelompok irisan 12 μ m dengan 6 μ m ($p = 0.045$) dan irisan 12 μ m dengan 8 μ m ($p = 0.049$).

Berdasarkan hasil penelitian maka secara umum variasi ketebalan irisan (6, 8, 10 dan 12 μ m) berpengaruh terhadap kualitas hasil preparat pada daun dan batang *Citrus* sp. tetapi perbedaan signifikan tidak merata pada semua pasangan kelompok irisan ketebalan. Ketebalan irisan 12 μ m berpengaruh terhadap kualitas hasil preparat daun *Citrus* sp. sedangkan variasi ketebalan irisan tidak berpengaruh terhadap kualitas hasil preparat batang *Citrus* sp.

Secara keseluruhan hasil penelitian menunjukkan bahwa ketebalan irisan 6 & 8 μ m memberikan gambaran kualitas hasil yang terbaik dan sangat layak digunakan dalam pembuatan preparat awetan daun & batang *Citrus* sp. berdasarkan indikator penilaian kontras warna dan kejelasan preparat. Hasil preparat yang dibuat dapat digunakan sebagai media pembelajaran pada praktikum struktur perkembangan tumbuhan. Metode pembuatan preparat pada penelitian ini dapat dijadikan referensi untuk kegiatan praktikum maupun penelitian di laboratorium pendidikan. Pembuatan preparat sudah dapat dilakukan secara mandiri walaupun masih perlu *training* dan latihan untuk peningkatan *skill* sehingga keterbatasan preparat sebagai media pembelajaran dapat terselesaikan dan secara tidak langsung mendukung kemajuan program studi.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa variasi ketebalan irisan (6, 8, 10 dan 12 μ m) berpengaruh terhadap kualitas dan kelayakan hasil preparat awetan daun & batang *Citrus* sp. yang ditunjukkan dengan hasil gambaran mikroskopis dan skor rerata penilaian kualitas preparat yang berbeda pada setiap perlakuan. Ketebalan irisan 6 & 8 μ m sangat layak digunakan untuk pembuatan preparat awetan daun & batang *Citrus* sp. Penelitian selanjutnya dapat membuat preparat awetan menggunakan organ tumbuhan yang lain seperti akar dan bunga dengan perlakuan variasi ketebalan irisan.

Tabel 6. Hasil Uji *Post Hoc* Terhadap Kualitas Preparat Daun & Batang *Citrus* sp.

Preparat	Kelompok Irisan	6	8	10	12
Batang	6		1.000	0.078	0.067
	8			0.326	0.286
	10				1.000
Daun	6		1.000	0.504	0.045*
	8			0.534	0.049*
	10				1.000

Keterangan : * Perbedaan signifikan ($p < 0.05$)

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada LPPM Universitas Kristen Duta Wacana atas kesempatan dan pendanaan hibah penelitian tahun 2025 sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR REFERENSI

- Ariyadi, T., & Suryono, H. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *Jurnal Labora Medika*, 1(1), pp.7-11.
- Aulina, N., & Iswara, A. 2019. *Perbandingan Kualitas Sediaan Organ Ginjal Tikus Sprague Dawley Dengan Fiksasi 24 jam + 2 minggu Menggunakan BNF 10% dan Alkohol 70% Pada Pewarnaan HE*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Chlipala, E., Bendzinski, C. M., Chu, K., Johnson, J. I., Brous, M., Copeland, K., & Bolon, B. 2020. Optical Density Based Image Analysis Method For The Evaluation of Hematoxylin and Eosin Staining Precision. *Journal of Histotechnology*, 43(1), pp.29-37.
- Dafrita, I. E., & Sari, M. 2020. Senduduk dan Ubi Jalar Ungu Sebagai Pewarna Preparat Squash Akar Bawang Merah. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 5(1), pp.46-55.
- Digambrio, R. A., & Parwanto, E. 2024. *Panduan Prosesing Dan Pewarnaan Jaringan dalam Histopatologi*. Klaten: Penerbit Lakeisha.
- Gunawan, D. L. 2019. Kualitas Preparat Organ Tanaman Apel (*Malus dosmetica*) dengan Pewarna Alami Ekstrak Pinang (*Arecha cateche L.*) Sebagai Sumber Belajar Biologi SMA. In *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Indasari, I. N., Budiono, J. D., & Wisanti. 2013. Wenter Sebagai Pewarna Alternatif Dalam Pewarnaan Media Preparat Jaringan Batang dan Akar Tumbuhan Pletekan (*Ruellia sp.*) dan Beluntas (*Pluchea indica*). *Bioedu*, 2(1), pp.35-39.
- Iriani, D., & Yusfiati. 2015. *Buku Ajar Mikroteknik*. UR Press.
- Khasanah, N., Mukarlina, & Zakiah, Z. 2022. Struktur Anatomi Akar, Batang Dan Daun Citrus (*Citrus aurantifolia* (Cristm.) Swingle, *Citrus madurensis* Lour, *Citrus nobilis L. var. microcarpa*) di Kalimantan Barat. *Protobiont*, 11, pp.38-43.
- Megias, M., Molist, P., & Pombal, M. 2025. *Atlas of Plant and Animal Histology*. Retrieved August 18, 2025, from <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/6-tecnicas/4-mparafina.php>
- Sa'diyah, R. A., Budiono, J. D., & Suparno, G. 2015. Penggunaan Filtrat Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Sebagai Pewarna Alternatif Jaringan Tumbuhan Pada Tanaman Melinjo (*Gnetum gnemon*). *Bioedu*, 4(1), pp.765-769.
- Sumanto, D. 2014. *Belajar Sitohistoteknologi Untuk Pemula*. Semarang: Ikatan Analis Kesehatan Indonesia Semarang (IAKIS).
- Sumarno, & Manshuri, A. G. 2016. *Persyaratan Tumbuh dan Wilayah Produksi Kedelai di Indonesia*. (P. P. Pangan, Ed.) Malang: Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian.
- Wagiyanti, H., & Noor, R. 2017. Red Dragon Fruit (*Hylocereus costaricensis* Britt. Et R.) Peel Extract As A Natural Dye Alternative In Microscopic Observation Of Plant Tissues: The Practical Guide In Senior High School. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 3(3), pp.232-237.
- Yeung, E. C., Stasolla, C., Sumner, M. J., & Huang, B. Q. 2015. *Plant Microtechniques and Protocols*. Springer International Publishing AG Switzerland.