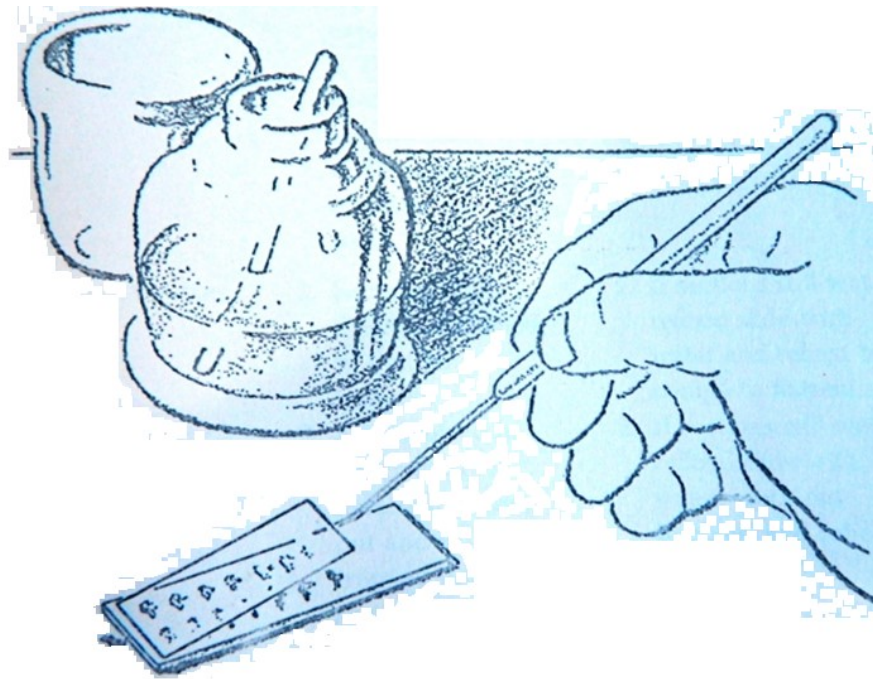


BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM MIKROTEKNIK TUMBUHAN Edisi Revisi II



Oleh:
Dr. Tri Mulyaningsih, M.Si
Sri Puji Astuti, S.Si., MSi



**LABORATORIUM BIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS MATARAM
2017**

KATA PENGANTAR

Berkat rahmat Allah *Subhanahuwata'ala*, buku Petunjuk Praktikum Mikroteknik Tumbuhan Edisi Revisi II dapat terselesaikan dengan baik. Revisi terjadi pada bahan specimen, bahan fixasi, senyawa kimia, metode pembuatan sediaan permanen dll. Revisi ini dimaksudkan untuk mengikuti perkembangan teknik pembuatan preparat yang terbaru. Buku petunjuk Praktikum ini disusun dengan tujuan membantu mahasiswa S1 Program Studi Biologi FMIPA Universitas Mataram, dalam memahami, melatih *skill*, dan melaksanakan matakuliah Mikroteknik. Selain itu, buku ini disusun dengan bahasa yang sangat komunikatif untuk memudahkan mahasiswa dalam mensinkronkan antara materi-materi perkuliahan dengan praktikum matakuliah Mikroteknik Tumbuhan.

Buku ini dilengkapi dengan teknik-teknik pengerjaan pembuatan preparat spesimen tumbuhan, baik Sediaan segar, Sediaan semi permanen, Sediaan permanen, Sediaan utuh, Sediaan kromosom, Maserasi tumbuhan, dan Fitokimia. Dalam setiap acara kegiatan telah dilengkapi dengan tugas mandiri maupun kelompok yang bertujuan agar mahasiswa dapat lebih memahami dan mengevaluasi hasil kerja setiap kegiatan.

Penulis berharap buku Petunjuk Praktikum Mikroteknik Tumbuhan ini dapat dimanfaatkan dengan semaksimal mungkin demi kemajuan, perkembangan ilmu dan *skill* di bidang mikroteknik tumbuhan. Evaluasi dan perbaikan akan terus dilakukan demi kesempurnaan buku praktikum ini.

Mataram, September, 2017
Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Kata Pengantar	ii
Daftar Isi	iii
Tata Tertib Praktikum Mikroteknik Tumbuhan	iv
ACARA I : Sediaan segar	1
ACARA II : Sediaan semi premanen	2
ACARA III : Sediaan permanen	3
ACARA IV : Sediaan utuh	8
ACARA V : Sediaan kromosom	10
ACARA VI : Maserasi tumbuhan	12
ACARA VII : Mikrokimia	14
Daftar pustaka	16

TATA TERTIB PRAKTIKUM MIKROTEKNIK TUMBUHAN

Tata tertib yang harus ditaati oleh setiap praktikan yang mengikuti kegiatan Praktikum Mikroteknik Tumbuhan, adalah sebagai berikut:

1. Setiap praktikan wajib mengenakan jas praktikum
2. Setiap praktikan wajib membawa alat tulis lengkap, buku petunjuk Praktikum Mikroteknik Tumbuhan, dan *logbook* .
3. Praktikan tidak diperbolehkan makan selama kegiatan praktikum berlangsung
4. Praktikan tidak diperbolehkan membuat kegaduhan atau mengganggu rekan praktikan yang lain.
5. Praktikan tidak diperbolehkan masuk ruang (tempat kegiatan berlangsungnya praktikum) lebih dari 15 menit dari jam Praktikum regular

ACARA I SEDIAAN SEGAR

Tujuan:

Membuat sediaan (preparat) segar dari organ tumbuhan.

Alat:

1. Silet yang tajam
2. Jarum preparat
3. Kuas kecil
4. Gelas penutup
5. Gelas benda
6. Cawan petri
7. Pipet
8. Mikroskop

Pewarnaan: Safranin O 1% (Akl 50%).

Bahan:

1. Cabang muda dan daun *Diospyros malabarica*.
2. Daun *Cycas rumphii*
3. Cabang muda dan daun sirsat (*Annona muricata*)
4. Tangkai & helaian daun genjer (*Limnocharis flava* Buchenau)
5. Batang dan helaian daun tebu (*Sacharum officinarum*).
6. Batang muda pace (*Morinda citrifolia*)

Mounting: Aquades

Cara Kerja:

1. Potong ranting muda yang berdaun dipotong menggunakan cutter/ gunting stek.
2. Bekas potongan dibungkus dengan tissue basah, selanjutnya dimasukkan ke dalam plastik.
3. Siapkan batang pace muda, belah ke arah longitudinal.
4. Jepit spesimen dengan batang pace pada no.2, selanjutnya spesimen diiris melintang menggunakan silet, dengan arah mengiris ke-arah tubuh kita (irisian melintang). Irisian sedapat mungkin setipis mungkin.
5. Siapkan petridish yang iisi air, kumpulkan irisan specimen ke dalam air dalam cawan petri.
6. Siapkan gelas benda, beri setetes air dengan menggunakan pipet, pilih irisan specimen yang paling tipis dan letakkan irisan tsb di atas tetesan air pada gelas benda .
7. Tutup irisan tsb dengan gelas penutup, dengan cara letakan gelas penutup pada gelas benda dengan sudut 45°, sentuhkan gelas penutup dengan air selanjutnya dengan bantuan jarum preparat ditutup perlahan, sehingga tidak terbentuk gelembung udara. Cek sediaan segar di bawah mikroskop, jika irisan telah tipis sekali, preparat difoto.
8. Untuk mewarnai sediaan, tetesan Safranin O 1% (alcohol 50%), melalui pinggiran gelas penutup. Diamkan 5 menit hingga sediaan terwarnai secara merata.
9. Cuci sediaan hingga cairan di dalam gelas penutup bening, hanya sediaan yang berwarna merah.

ACARA II SEDIAAN SEMI PERMANEN

Tujuan:

Membuat sediaan (preparat) semi permanen dari organ tumbuhan dan macam-macam mikroorganisme.

Alat:

1. Silet yang tajam
2. Jarum preparat
3. Kuas kecil
4. Gelas penutup berukuran 6,4 x2,5 cm
5. Gelas benda No. 1 tebal 0,13 mm atau No.1,5 tebal 0,17 mm, berukuran 7,5x2,5 cm
6. Pipet
7. Cawan petri
8. Mikroskop
9. Pinset ujung runcing

Fiksatif dan pewarnaan:

Anilin blue ws – Lacto-phenol

Mounting:

1. Anilin blue ws – Lacto-phenol
2. Kutek atau parafin

Bahan:

Spesimen:

1. Kamedangan *Gyrinops versteegii*
2. Jamur tempe *Rhizophus cerreviceae*

Anilin blue ws – Lacto-phenol:

- | | | | |
|-------------------|-------|------------|-------|
| 1. Anilin blue ws | 1g. | 4. Phenol | 25g |
| 2. Glycerol | 25 ml | 5. Aquades | 25 ml |
| 3. Lactic acid | 25 ml | | |

Perekat: kutek

Cara Kerja:

1. Spesimen kamedangan *Gyrinops versteegii* diiris melintang menggunakan silet, dengan arah mengiris ke-arah tubuh kita. Irisan sedapat mungkin setipis mungkin. Untuk Jamur tempe, jamur diambil beberapa hifa saja menggunakan pinset ujung runcing.
2. Siapkan gelas benda, beri setetes Anilin blue ws – Lacto-phenol dengan menggunakan pipet di atas gelas benda tersebut.
3. Letakkan irisan melintang yang sangat tipis dari spesimen di atas tetesan Anilin blue ws – Lacto-phenol tersebut.
4. Tutup bahan preparat setengah permanen dengan gelas penutup.

5. Caranya letakkan gelas penutup pada gelas benda dengan sudut 45° , sentuhkan gelas penutup dengan Anilin blue ws – Lacto-phenol selanjutnya dengan bantuan jarum preparat ditutup perlahan, sehingga tidak terbentuk gelembung udara.
6. Pinggiran gelas penutup dilapisi menggunakan kutek atau paraffin.

ACARA III SEDIAAN PERMANEN.

Tujuan:

Membuat sediaan (preparat) permanen dari organ tumbuhan.

Alat:

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------|
| 1. Silet yang tajam | 8. Pipet |
| 2. Jarum preparat | 9. Gelas Baker |
| 3. Kuas kecil | 10. Pinset ujung runcing |
| 4. Mikrotom | 11. Mikroskop |
| 5. Botol specimen (botol pinisilin) | 12. Oven |
| 6. Gelas penutup untuk sediaan seri | 13. <i>Water bath</i> |
| 7. Gelas benda | 14. Mesin vakum dan eksikator |

Bahan:

Spesimen :

1. Akar, batang muda dan daun Belinjo (*Gnetum gnemon*)
2. Akar, batang muda dan daun beringin (*Ficus benjamina*)
3. Akar, batang muda dan daun ketimunan (*Gyrinops versteegii*)
4. Akar, batang muda dan bambu (*Bambusa vulgaris*).

Larutan fiksatif Formadehyde (Formalin) 4% 100 ml

Pewarna Safranin O 1%:

1. Safranin O 1g.
2. Alkohol (50%) 99 ml

Pewarna Fast green FCF:

1. Fast green FCF 0,5g.
2. Alkohol (90%) 99 ml

Dehidrasi, Penjernihan, Infiltrasi, *Embedding*, Dealkoholisasi:

1. Alkohol absolut 0,5 L.
2. xylol 0,25 L
3. Parafin 250 g
4. N- Butanol 1 L

Larutan pembersih cleaning):

1. Alkohol 95% 100 ml
2. Acetic acid 3 tetes

Perekat (Adhesive) A:

1. Gelatin 1 g dilarutkan dalam air mineral pada suhu 40°C hingga homogen.
2. Tambahkan 2g phenol ke dalam larutan tersebut, aduk hingga homogeny, lalu disaring.

Perekat (Adhesive) B: Formalin 3%**Penutupan (mounting):**

1. Entelan.

Cara Kerja:

1. Akar dan batang spesimen dipotong (tidak boleh serong) sepanjang 0,8 cm sedangkan daun specimen dipotong membujur 2mm salah satu sisi midrib, dan sisi lainnya selebar 8mm, selanjutnya dipotong 8mm.
2. Spesimen dimasukkan ke dalam larutan fiksatif formalin 4%.
3. Botol specimen masukkan ke dalam eksikator dan divakum, untuk mengeluarkan udara dari dalam jaringan.
4. Cuci specimen dengan air mineral 4 kali, step pertama didiamkan selama 1 jam dan step 3 dan 4 diamkan selama 30 menit.
5. Selanjutnya step dehidrasi dan infiltrasi, seperti pada table 1, berikut ini:

No.	butanol	ethanol	water	Re-used
1	0	50	50	N
2	10	40	50	N
3	20	50	30	Y
4	35	50	15	Y
5	55	45	0	Y
6	75	25	0	Y
7	100	0	0	Y
8	100	0	0	Y
9	100	0	0	Y
10	100	0	0	Y

6. **Infiltrasi**, tandai volume n-Butanol sebagai strip I dan tandai strip II dengan volume yang sama, masukkan Kristal paraffin hingga strip ke II.
7. Masukkan botol specimen tsb ke dalam oven, atur suhu 40°C diamkan selama 1 jam, 50 °C diamkan selama 1 jam dan terakhir atur suhu 60 °C diamkan selama semalam. Cek volume paraffin dan tambahi jika volume paraffin berkurang.
8. Setelah n-Butanol telah menguap semuanya dan tinggal cairan paraffin, pindahkan ke cairan paraffin baru dan diamkan selama 1 jam simpan pada suhu 60 °C. Selanjutnya diganti lagi dengan cairan paraffin baru dan diamkan selama 24 jam simpan pada suhu 60 °C.
9. **Buat cetakan** paraffin menggunakan aluminium foil dengan ukuran panjang: lebar: tinggi = 1,5:1:1.5 cm.
10. Cairkan Kristal/ irisan paraffin dalam gelas piala di dalam oven pada suhu 60 °C.
11. **Embeding**. Tuang cairan paraffin ke dalam cetakan paraffin, ambil specimen dan masukkan ke dalam cetakan paraffin yang telah terisi cairan paraffin, atur sesuai dengan jenis irisan (transversal atau longitudinal).
12. Siap gelas benda dan gelas penutup dan rendam ke dalam larutan pembersih selama 24 jam, tiriskan dan lap dengan tissue, keringkan gelas benda dan penutup ke dalam oven pada suhu 60 °C, selanjutnya simpan dalam kotak.
13. Gelas benda yang telah bersih diberi 0,5 tetes perekat A, tetesan tersebut ditutup dengan gelas benda dan geser-geser hingga perekat rata di seluruh kedua permukaan gelas benda, lalu usap dengan jari telunjuk hingga rata benar, selanjutnya letakan di atas tutup water-bath pada suhu 55 °C hingga kering.
14. Rekatkan paraffin blok specimen pada plastic holder atau wood holder, menggunakan cairan paraffin.
15. **Penyayatan**. Bentuk permukaan paraffin blok specimen, bentuk empat persegi panjang yang mengikuti posisi specimen, atur agar sisi atas dan bawah empat persegi panjang tersebut sejajar, agar irisan dapat membentuk pita paraffin yang panjang saat disayat.
16. Pasang plastic atau wood holder pada holder mikrotom, atur ketebalan irisan 8 µm, Iris blok paraffin, sesuai dengan SOP mikrotom tersebut.
17. Siapkan gelas benda yang telah diolesi perekat A, beri 3 tetes perekat B, pilih pita paraffin yang berisi specimen yang bagus, potong sepanjang gelas benda dan letakkan di atas tetesan perekat B, hingga pita paraffin meregang dan rata tanpa terjadi pengkerutan.
18. Letakan gelas benda tersebut di atas tutup water bath yang suhunya 55 °C hingga kering dan pita paraffin berubah menjadi bening.
19. **Penghilangan paraffin (dewax)**. Masukkan Jar n-Butanol ke dalam oven yang bersuhu 60 °C, hingga n-Butanol suhunya mencapai 60 °C.
20. Masukkan gelas benda yang telah ditemeli pita paraffin ke dalam Jar n-Butanol (no. 19), diamkan selama 1 jam. Pindahkan gelas benda tersebut pada Jar n-Butanol yang baru, diamkan 1 jam.
21. **Pewarnaan ganda (double staining)**. Proses ini mengikuti urutan yang terdapat pada table 2., berikut ini:

Tabel 2. Tahapan proses pewarnaan ganda.

No.	chemical	Time (min)
1	xylene	10
2	xylene	10
3	Xylene : 100% ethanol	5
4	100% ethanol	5
5	95% ethanol	5
6	75% ethanol	5
7	50% ethanol	5
8	safranine	4 hours

No.	chemical	Time (s)
9	50% ethanol	Very quickly
10	75% ethanol	Very quickly
11	95% ethanol	Very quickly
12	Fast green	45~60
13	95% ethanol	Very quickly
14	100% ethanol	Very quickly
15	100% ethanol: butanol	Very quickly
16	butanol	Very quickly
17	Butanol:xylene	Very quickly
18	xylene	Very quickly
19	seal	

ACARA IV SEDIAAN UTUH

Tujuan:

Membuat sediaan (preparat) utuh dari sediaan jaringan epidermis dan stomata daun.

Alat:

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 1. Silet | 8. Pipet |
| 2. Jarum preparat | 9. Cawan petri |
| 3. Kuas kecil | 10. Pinset ujung runcing |
| 4. Mikroskop | 11. <i>Water bath</i> |
| 5. Botol specimen (botol pinisilin) | |
| 6. Gelas penutup | |
| 7. Gelas benda | |

Bahan:

Spesimen:

Kelompok A.

1. Daun *Canna*
2. Daun soka (*Ixora* sp.)
3. Daun sawi hijau/ caisim (*Raphanus* sp.)
4. Daun padi (*Oryza sativa*),

Kelompok B

5. Daun Bambu (*Bambusa* sp.)
6. Daun beringin (*Ficus benjamina*)
7. Daun mangga (*Mangifera indica*)
8. Daun Banten (*Lannea* sp.)

Bahan fiksatif I: Hydrochloric Acid 25% (alcohol 95%):

9. Alkohol (95%) 75 ml.
10. Hydrochloric acid 25 ml

Bahan fiksatif II: Hydrochloric Acid 10% (Aq):

1. Air mineral 90 ml.
2. Hydrochloric acid 10 ml

Larutan Pemisah: Larutan Sodium hidroksida (NaOH) 8% (Aq)

Pewarna : Safranin O 1 % (Alkohol 50%)

Bahan mounting: Enthelan

Cara Kerja:

1. Daun dipotong-potong 0,5-10 mm, rendam ke dalam larutan fiksatif Alkohol-Hydrochloric Acid 25% selama 24 jam.
2. Cuci alkohol 95%, untuk menghilangkan klorofil.
3. Pindahkan ke alkohol 70% diamkan selama 5 menit,
4. Pindahkan ke alcohol 50% diamkan selama 5 menit,
5. Pindahkan ke larutan NaOH (8%), selama 45 menit atau sampai jaringan membengkak dan epidermis dapat dipisahkan dari tulang daun masukan ke dalam water-bath dengan suhu 60 °C.
6. Cuci perlahan pada air mengalir selama (20- 120 menit), dengan cara epidermis ditampung dalam gelas beker, tutup dengan Petridis.
7. Pindahkan ke larutan Hydrochloric acid (10%aq).
8. Cuci menggunakan air mengalir.
9. Letakan specimen dalam cawan petri yang berisi air, cubit epidermis atas dan bawah, letakkan berdampingan pada gelas benda dengan posisi tertelungkup, tetesi specimen dengan air.
10. Warnai dengan safranin O % selama 5 menit.
11. **Dehidrasi:** Pindahkan ke alkohol 50% simpan selama 10 detik
12. Pindahkan ke alkohol 70% simpan selama 10 detik
13. Pindahkan ke alkohol 90% simpan selama 10 detik
14. Pindahkan ke alkohol 100% simpan selama 10 detik
15. **Pernjernihan:** Pindahkan ke alkohol 100%: N-butanol 100%=1:1 simpan selama 10 detik
16. Pindahkan ke n-Butanol 100% simpan selama 10 detik
17. Pindahkan ke Xylol 100%: N-butanol 100%=1:1 simpan selama 10 detik
18. Pindahkan ke xylol simpan selama 10 detik
19. Pindahkan setiap lapisan daun ke dalam gelas benda dan tetesi dengan enthelan.

ACARA V SEDIAAN KROMOSOM

Tujuan:

Membuat sediaan (preparat) kromosom pada fase mitosis pada akar dan meiosis pada anthera.

Alat:

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 1. Mikroskop | 9. Pipet |
| 2. Jarum preparat | 10. Gelas Baker |
| 3. Tissue | 11. Pinset ujung runcing |
| 4. Pensil berpenghapus | 12. Lampu bunsen |
| 5. Botol specimen (botol pinisilin) | 13. Oven |
| 6. Silet | |
| 7. Gelas penutup berukuran | |
| 8. Gelas benda | |

Bahan:

Spesimen:

1. Akar putih (*Allium sativum*)
2. Akar bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum*)
3. Akar bawang Bombay (*Allium cepa*)
4. Akar bawang prey / loncang (*Allium porrum*)

Bahan fiksatif I [(Acetic acid 45% (alk 100%)]: disimpan(15menit), pada suhu 5°C (di dalam Freezer):

- | | |
|--------------------------|-------|
| 1. Acetic acid (glacial) | 45 ml |
| 2. Alcohol (100%) | 55 ml |

Bahan fiksatif II [(Acetic acid 25% (alk 100%)]: larutan Clarke A (1-24 jam) disimpan di dalam refrigerator (kulkas):

- | | |
|--------------------------|-------|
| 3. Acetic acid (glacial) | 25 ml |
| 4. Alcohol (100%) | 75 ml |

Bahan Larutan hidrolisis.

- | | | |
|----------------------|--------|---|
| 5. Alkohol 100% | 100 ml | } Larutan hidrolisis
Diamkan 5-6 menit |
| 6. Hydrochloric acid | 10 ml | |

Pewarnaan:

Carmine-acetic:

- | | | |
|--------------------------|-------|--|
| 7. Acetic acid (glacial) | 45 ml | } Larutkan Carmine-acetic,
didihkan dalam ruang asam, |
| 8. Carmine (powder) | 1g | |

9. Aquades	55 ml	
<i>atau</i> larutan stok <i>Orcein-acetic</i> (Aceto-Orcein):		
10. Acetic acid (glacial)	100ml	} Larutan stok
11. Orcein	2,2g	
12. Aquades	12 ml	} Pewarna Aceto-Orcein
Larutan stok	10 ml	

Bahan mounting:

13. Glycerol (gliserin)

Cara Kerja:

1. Potonglah ujung akar yang masih tumbuh sepanjang 0,5 cm -0,8 cm.
2. Masukkan potongan akar ke dalam larutan fiksatif I, simpan selama 15 menit di dalam freesher.
3. Pindahkan ke larutan fixative II, simpan selama 24 jam di dalam refrigerator (kulkas).
4. Pindahkan ke dalam larutan hidrolisis simpan selama 6 menit, pada suhu 60°C di dalam *water bath*.
5. Pindahkan ke dalam larutan pewarna Aceto-Orcein simpan selama 15-20 menit, pada suhu 50°C di dalam *water bath*.
6. Siapkan gelas benda yang telah dibersihkan dengan alcohol 95%, ambil specimen pada no 6, letakan di atas gelas benda, beri 0,5 tetesi gliserin.
7. Tutup specimen menggunakan gelas penutup, di atas gelas penutup tersebut diberi kertas tissue sebagai pelapis.
8. Selanjutnya specimen di geprek dengan pensil berpenghapus, sampai sel-selnya terpisah-pisah selanjutnya disquash menggunakan jempol, cek di bawah mikroskop dengan perbesaran 16 x 10 dan 16X45.
9. Hangatkan sediaan ($\pm 50^{\circ}\text{C}$) di atas api Bunsen, lalu didinginkan hingga pewarnaan terlihat kontras.
10. Fotolah sediaan kromosom tersebut.

ACARA VI MASERASI TUMBUHAN

Tujuan:

Membuat sediaan (preparat) maserasi pada daun tumbuhan.

Alat:

1. Silet
2. Jarum preparat
3. Kuas kecil
4. Mikroskop
5. Botol specimen (botol pinisilin)
6. Gelas penutup
7. Gelas benda
8. Pipet
9. Cawan petri
10. Pinset ujung runcing
11. Water bath
12. Tissue

Bahan:

Spesimen :

1. Batang muda belinjo (*Gnetum gnemon*)
2. Batang muda beringin (*Ficus benjamina*)
3. Batang muda ketimunan (*Gyrinops versteegii*)
4. Batang muda bambu (*Bambusa vulgaris*).

Bahan fiksatif Eau de Javelle:

- | | |
|---------------------|--------|
| 10. Bubuk pemutih | 20 g |
| 11. Air mineral | 100 ml |
| 12. Sodium carbonat | 15 g |
| 13. Air mineral | 100 ml |

Biarkan beberapa jam, lalu tambahkan lart. no 12

Bahan Fixatif Asam kromat-peroksida

- | | |
|-----------------|-------|
| 14. Asam kromat | 50 ml |
| 15. Peroksida | 50 ml |

Pewarna: 16. Safranin O 1% (Akl 50%)

Bahan mounting:

17. Enthelan

Cara Kerja:

Maserasi berkas pengangkut pada jaringan xylem batang Ketimunan (*Gyrinops versteegii*) dan Klicung (*Diospyros malabarica*).

Batang specimen dikupas kulitnya, dipotong-potong 8 mm, belah dan ambil bagian xylemnya saja, rendam ke dalam eau de Javelle, simpan selama (24-28 jam)

1. Masukkan ke dalam beaker glass dan tutup dengan petridis, Cuci perlahan pada air mengalir (24 jam)
2. Warnai dengan safranin O % selama 5 menit.
3. Pindahkan ke alkohol 50% simpan selama 10 detik
4. Pindahkan ke alkohol 70% simpan selama 10 detik
5. Pindahkan ke alkohol 90% simpan selama 10 detik
6. Pindahkan ke alkohol 100% simpan selama 10 detik
7. Pindahkan ke alkohol 100%: N-butanol 100%=1:1 simpan selama 10 detik
8. Pindahkan ke n-Butanol 100% simpan selama 10 detik
9. Pindahkan ke Xylol 100%: N-butanol 100%=1:1 simpan selama 10 detik
10. Pindahkan ke xylol simpan selama 10 detik
11. Pindahkan sediaan sel-sel vasal pada gelas benda dan tetesi dengan enthelan.

Untuk persiapan sementara bercukur kayu dapat diwarnai dalam acid phloroglucinol (5minute) + HCl (4 menit) -> warna lignin red.

Untuk pemasangan premanen, ikuti salah satu metode berikut:

1. Cuci di alk 30%.

Stain di SF hijau muda berwarna kekuningan pada minyak cengkeh (SF hijau cepat dengan minyak cengkeh adalah alternatif yang sesuai.

Bilas noda sumbu di minyak cengkeh

Bersihkan minyak kayu cedar

Gunung di enthelan.

II. Kelelahan

1. Rebus cukur kayu di Potasium hidroksida (10%).

Cuci bersih di air.

2. Tempatkan asam kromat (20-30%) (5-10 menit sampai lembut.

Cuci bersih di air.

- 3 noda dan mount diperlukan.

AKU AKU AKU. Macerasi 3. (cairan Schulze): chlor-zinc-iodine untuk uji mikrokimia:

1. Asam nitrat 50 ml
2. Potasium nitrat 1 g
3. Kromiumtrioksida (10%) 50 ml
4. Asam nitrat (10%) 50 ml

Rendam tissue selama 24 jam dan cuci bersih dengan air sampai bersih.

Uji mikro kimia untuk selulosa

selulosa - noda tertentu (temp.) -> biru-violet.

cuten -> kuning-coklat

dinding hyphaecell; lignin -> kuning kecoklatan

Protein -> coklat

pati -> biru

Suberin -> kuning kecoklatan.

Rumus:

Seng klorida 30g

Kalium iodida 5 g

Yodium 1g

Air 14 ml

HCl + Seng Cloride -> buih buih, dan sisa seng berlebih. + H₂SO₄ -> cairan menguap. + Kalium -> sampai saturasi, cairan cair ke pasir, supernatan saring + IODIN sampai saturasi -> cairan supernatan penanda.

ACARA VII MIKROKIMIA

Tujuan:

Membuat sediaan (preparat) mikrokimia (butir amilum, lignin, callose, tannin dan fruktosa)

Alat:

- | | |
|-------------------|-------------------------|
| 1. Silet | 8. Mikroskop |
| 2. Jarum preparat | 9. Pinset ujung runcing |
| 3. Kuas kecil | 10. Pipet |
| 4. Cawan petri | 11. Tissue |
| 5. Gelas penutup | |
| 6. Gelas benda | |

Fiksatif

Formadehyde (Formalin) 4%

Pewarnaan:

Pewarnaan Iodine, Lugol's

Penghilang pewarnaan Sulfuric acid (50%):

Pewarnaan Laevulosa:

Mounting:

Aquades

Bahan:

Spesimen:

1. Batang *Gyrinops versteegii*
2. Umbi kentang (*Solanum tuberosum*)

Pewarnaan Iodine, Lugol's

- | | |
|--------------------|--------|
| 4. Iodine | 1 g |
| 3. Potasium iodine | 2g |
| 4. Aquadest | 100 ml |

Penghilang pewarnaan Sulfuric acid (50%):

- | | |
|------------------|-------|
| 5. Sulfuric acid | 50 ml |
| 6. Aquades | 50 ml |

Bahan mounting:

7. Aquades

Cara Kerja:

Melihat kandungan amilum dalam sel.

1. Iris melintang batang ketimunan, umbi kentang, letakkan pada gelas benda dan tetesi dengan larutan Potasium Iodine diamkan selama 5 menit, cuci menggunakan aquades, tutup dengan gelas penutup.
2. Periksa menggunakan mikroskop, butir yang berwarna ungu atau biru kehitaman menunjukkan kandungan amilum. Gambarkan Jaringan tersebut dan bentuk amilum tersebut yang berada di dalamnya.

Melihat kandungan lignin dalam sel.

1. Iris melintang batang ketimunan, letakkan pada gelas benda dan tetesi dengan larutan Iodine lugol diamkan selama 5 menit, cuci menggunakan Sulfuric acid (50%), tutup dengan gelas penutup.
2. Periksa menggunakan mikroskop, dinding sel yang berwarna kuning kecoklatan menunjukkan kandungan lignin. Gambarkan sel yang mengandung lignin tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

1. O'Brien, T.P. dan M.E. McCully. 1981. The study of plant structure principles and selected methods. Termarcarphi PTY. LTD. Melbourne.

2. O'Brien, T.P., Sutasurya, L. A. and Goenarso, D. 1994. Hand out Microtechnique course. Mataram University, Mataram.
3. Johansen, D. A., 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
4. Peacock, P. and S. Bradbury, 1973. Peacock's elementary microtechnique. 4th edts. The Pitman Press, Bath. Great Britain.
5. Mulyaningsih, T. 2017. Hand Out Workshop Microskopik Preparation Of Interxylary Phloem. Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Mataram University