

# Pengaruh pewarnaan safranin terhadap kualitas preparat wholemount tumbuhan pada tanaman *Oxalis Corniculata*



Isna Putri Arifa <sup>a\*</sup>, Zulfiana Bariqoh <sup>a</sup>, Sri Wahyuni <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang

\*isnaputriarifa993@gmail.com

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari pembuatan preparat bentuk keseluruhan (*wholemount*) tumbuhan kecil atau organisme kecil lainnya, juga untuk mempelajari struktur vegetatif/generatif tanpa melakukan penyayatan terhadap objek. Selain itu, penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh durasi pewarnaan menggunakan safranin terhadap struktur morfologi *Oxalis corniculata*, khususnya dalam membandingkan hasil pewarnaan pada durasi 15 menit dan 30 menit. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental pada *wholemount* tumbuhan untuk mengamati sampel utuh tanpa proses penyayatan, sehingga memungkinkan pengamatan langsung struktur morfologi dalam bentuk tiga dimensi. Pewarnaan safranin, yang sering digunakan untuk memperjelas struktur seluler pada pengamatan mikroskopis, diterapkan pada preparat jaringan tanaman *Oxalis corniculata* dengan dua durasi pewarnaan yang berbeda. Analisis data menggunakan deskriptif. Hasil pengamatan dengan mikroskop cahaya menunjukkan durasi pewarnaan mempengaruhi intensitas warna dan detail struktur morfologi yang terlihat. Pewarnaan selama 15 menit menghasilkan warna yang cukup jelas namun dengan detail background yang kurang jernih, sementara pewarnaan selama 30 menit memberikan warna lebih intensif yang memperjelas struktur seperti dinding sel dan inti sel, dengan background yang lebih jernih. Kesimpulan pewarnaan selama 30 menit menghasilkan preparat yang lebih jenis dan lebih jelas terhadap struktur *Oxalis coeniculata* Temuan ini menegaskan pentingnya menentukan durasi pewarnaan yang optimal untuk mendapatkan hasil yang maksimal sesuai kebutuhan analisis mikroskopis menggunakan metode *wholemount*.

Kata kunci: Durasi pewarnaan, Morfologi, *Oxalis corniculata*, Pewarnaan safranin, Wholemount

## PENDAHULUAN

Preparat *wholemount* merupakan salah satu metode penting dalam pengamatan struktur anatomi tumbuhan. *Wholemount* merupakan metode pembuatan preparat yang nantinya akan diamati dengan mikroskop tanpa didahului dengan adanya proses pemotongan. Pada metode ini preparat yang diamati adalah preparat yang utuh baik itu berupa sel, jaringan, organ maupun individu. Gambar yang dihasilkan oleh preparat *wholemount* ini terlihat dalam wujud utuh seperti ketika organisme tersebut masih hidup sehingga pengamatan yang dapat dilakukan hanya terbatas terhadap morfologinya saja secara umum (Fitri,2007). Namun, kualitas preparat sering kali dipengaruhi oleh teknik pewarnaan yang digunakan, termasuk durasi aplikasi pewarnaan. Pewarnaan dengan safranin merupakan salah satu metode yang umum digunakan dalam mikroskopi tumbuhan di mana ia memberikan warna merah terang

yang membantu memperjelas struktur sel di bawah mikroskop (Jannah N , et all. 2019) yang sangat berguna untuk membedakan bagian-bagian jaringan tanaman pada saat pengamatan. Safranin adalah pewarna dasar yang digunakan untuk mewarnai lignin, xilem, dan komponen dinding sel lainnya pada jaringan tumbuhan. Akan tetapi, belum ada konsensus terkait durasi optimal pewarnaan safranin untuk menghasilkan preparat *wholemout* dengan kualitas terbaik. Pada tanaman *Oxalis corniculata*, yang memiliki struktur anatomi halus, optimasi durasi pewarnaan menjadi tantangan penting untuk menghasilkan preparat yang jelas dan informatif.

*Oxalis corniculata*, yang dikenal dengan nama lokal seperti calincing, daun asam kecil, dan semanggi, adalah tanaman herba tahunan yang termasuk dalam famili Oxalidaceae. *Oxalis corniculata* merupakan tumbuhan yang memiliki distribusi luas, tumbuh di daerah tropis hingga subtropis di seluruh dunia. Tumbuhan ini sering ditemukan di tempat-tempat dengan kelembapan tinggi, seperti pekarangan, ladang, kebun, dan bahkan celah-celah beton. Sebagai tanaman pionir, *Oxalis corniculata* mampu tumbuh di berbagai kondisi tanah, termasuk tanah yang kurang subur. Tanaman ini memiliki batang lunak, bercabang, dan tumbuh merayap dengan tinggi sekitar 5–10 cm. Dengan ukuran tanaman yang kecil mempermudah dalam pembuatan preparat dengan metode *wholemout* karena dapat terlihat jelas struktur morfologi dari *Oxalis corniculata*. Batangnya dapat berakar pada buku batangnya, memiliki daun majemuk yang terdiri dari 3 anak daun yang berbentuk jantung terbalik, dan memiliki tangkai yang panjang. (Hartono, et all. 2020).

Penelitian ini dirancang untuk menguji pengaruh variasi waktu pewarnaan safranin terhadap kualitas preparat *wholemout* pada tanaman *Oxalis corniculata*. Dua durasi pewarnaan yang akan diuji adalah 15 menit dan 30 menit. Parameter yang digunakan untuk menilai kualitas preparat meliputi kejelasan dan keutuhan struktur jaringan, tingkat kejernihan, dan ketahanan pewarnaan terhadap proses pengamatan mikroskopis. Kajian sebelumnya menunjukkan bahwa durasi pewarnaan memainkan peran penting dalam menentukan intensitas warna dan kualitas visual preparat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa waktu pewarnaan yang terlalu singkat dapat menghasilkan preparat dengan kontras rendah, sementara waktu yang terlalu lama dapat menyebabkan over-staining yang mengaburkan struktur jaringan. Namun, penelitian spesifik mengenai durasi optimal pewarnaan safranin pada tanaman *Oxalis corniculata* masih terbatas, sehingga penelitian ini penting untuk mengisi kesenjangan pengetahuan tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan durasi pewarnaan safranin yang optimal, yaitu 15 menit atau 30 menit, dalam menghasilkan preparat *wholemout* berkualitas tinggi pada tanaman *Oxalis corniculata*. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat memberikan panduan praktis bagi pengamatan mikroskopis tumbuhan, khususnya untuk menghasilkan preparat dengan kontras dan kejelasan yang maksimal.

## **METODE**

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium untuk mengamati pengaruh durasi pewarnaan safranin terhadap kualitas preparat *wholemout* tumbuhan pada tanaman *Oxalis corniculata*. Populasi penelitian adalah tanaman *Oxalis corniculata* yang diambil secara purposif dari area sekitar laboratorium, dengan sampel berupa individu tanaman sehat yang memiliki daun lengkap. Sampel ini dipilih menggunakan teknik non-

probabilitas berdasarkan kelayakan spesimen untuk pembuatan preparat mikroskopis. Penelitian dilakukan di laboratorium biologi Universitas Muhammadiyah Malang selama satu minggu, mencakup persiapan, pewarnaan, hingga analisis hasil.

Pada pembuatan preparat *wholemout* alat utama yang digunakan meliputi mikroskop cahaya untuk pengamatan, botol flakon untuk fiksasi, kaca objek untuk meletakkan spesimen, kaca penutup untuk menutup kaca objek yang berisi spesimen, gelas arloji untuk tempat atau wadah spesimen pada saat perlakuan, pinset untuk mengambil spesimen, scalpel dan jarum pentul untuk memudahkan pada saat pengamatan. Bahan yang digunakan meliputi larutan FAA (Formalin: Asam asetat: Alkohol, perbandingan 9:3:1), aquades, pewarnaan safranin, alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 100%), campuran alkohol-xylol (3:1, 1:1, 1:3), xylol murni dan entellen.

Prosedur penelitian dilakukan melalui 4 tahapan yaitu *fiksasi*, *dehidrasi*, *clearing*, dan yang terakhir *mounting*. Dimulai dengan memilah dan mencuci tanaman *Oxalis corniculata* hingga bersih. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam botol flakon yang berisi larutan FAA sebagai tahap *fiksasi* dan direndam selama 1x24 jam untuk menjaga struktur jaringan tumbuhan. Setelah itu, spesimen dicuci dengan aquades selama 10 menit. Langkah selanjutnya yaitu pewarnaan safranin yang dilakukan dengan merendam spesimen selama dua durasi berbeda, yaitu 15 menit dan 30 menit. Setelah pewarnaan, spesimen dicuci kembali dengan aquades selama 10 menit untuk menghilangkan sisa pewarnaan. Tahap kedua yaitu *dehidrasi* yang dilakukan secara bertahap menggunakan larutan alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 100%, 100%), dengan durasi waktu masing-masing selama 15 menit yang bertujuan agar spesimen tidak mengalami kerusakan. Selanjutnya, spesimen direndam dalam campuran alkohol dan xylol dengan perbandingan bertahap (3:1, 1:1, dan 1:3), masing-masing selama 15 menit. Tahap *clearing* dilanjutkan dengan xylol murni I selama 15 menit, dan kemudian xylol murni II hingga spesimen tidak mengering. Pada tahap terakhir yaitu *mounting*, spesimen diletakkan diatas object glass dan ditetaskan cairan entellen, kemudian ditutup menggunakan cover glass dan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 100x untuk menilai kualitas pewarnaan dan struktur jaringan. Data yang diperoleh berupa kualitas visual preparat pada masing-masing durasi pewarnaan melingkupi kualitas warna, kualitas kejernihan dan keutuhan morfologi. Kualitas warna dapat diketahui dengan penyerapan warna pada jaringan yang akan diamati sedangkan kejernihan preparat dapat diamati dengan memperhatikan beberapa indikator yaitu ada tidaknya gelembung udara, ketebalan dan jelas tidaknya struktur jaringan terwarnai (Dafrita, et al. 2020) yang dianalisis secara deskriptif untuk membandingkan pengaruh durasi pewarnaan terhadap hasil preparat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada percobaan pewarnaan *wholemout* menggunakan metode pewarnaan dengan safranin terhadap sampel *Oxalis curniculata*, dilakukan dua variasi durasi pewarnaan, yakni selama 15 menit dan 30 menit. Hasil dari pewarnaan menunjukkan bahwa pewarnaan dengan durasi 30 menit memberikan hasil yang lebih jelas dibandingkan dengan durasi 15 menit (Azizah, et, al. 2022). Ini dikarenakan durasi yang lebih panjang memberikan waktu pada zat

warna yang terikat pada jaringan menyerat sinar dengan panjang gelombang tertentu sehingga jaringan akan tampak berwarna dengan lebih detail dan jelas (Jannah, et,all.,2019).

Safranin yang digunakan dalam pewarnaan ini adalah pewarna basa yang cenderung menargetkan komponen asam di dalam sel, seperti asam nukleat di dalam inti sel dan lignin pada dinding sel (Fabien., et.all., 2020). Safranin akan memberikan warna merah atau merah muda pada struktur yang kaya akan asam, membuat struktur tersebut lebih terlihat jelas (Achar & Bhandari, 2013). Karena sifat dasar pewarna ini, durasi yang lebih lama memungkinkan pewarna meresap lebih dalam, sehingga bagian-bagian yang kaya akan asam nukleat atau lignin akan terwarnai dengan lebih kontras. Sebaliknya, pada durasi 15 menit, waktu mungkin tidak cukup untuk memastikan penetrasi pewarna secara optimal, sehingga kontras yang dihasilkan kurang maksimal. Metode *wholemout* yang digunakan dalam praktikum ini adalah teknik di mana sampel jaringan atau bagian dari tumbuhan tidak dipotong menjadi bagian tipis seperti pada metode irisan melintang, melainkan disiapkan dalam bentuk utuh (Antonius, Et.,all., 2016). Metode ini memungkinkan pengamatan struktur seluler secara keseluruhan, termasuk sel-sel epidermis, stomata, serta jaringan lainnya tanpa deformasi yang terjadi akibat pemotongan (Edward, 2015).

Metode ini sering digunakan untuk mengamati bentuk, distribusi, dan pola jaringan dalam keadaan utuh (Thu, et.,all., 2021). Berdasarkan hasil pengamatan dari gambar dokumentasi pewarnaan safranin pada *Oxalis corniculata*, bagian-bagian tumbuhan yang terlihat setelah pewarnaan safranin dapat dijelaskan sebagai berikut:

Bagian Daun: Pada pewarnaan selama 15 menit, hasil menunjukkan bahwa jaringan daun masih terlihat cukup jelas, tetapi detail bagian daun seperti permukaan daun berbulu halus dan tepi daun tipis belum terwarnai secara optimal (Gembong, 2020). Pewarnaan kurang merata, sehingga beberapa bagian daun tampak lebih pudar. Pada pewarnaan selama 30 menit, daun menunjukkan warna yang lebih kontras, terutama di bagian ujung daun dan tulang daun. Permukaan daun serta struktur yang lebih tipis tampak lebih jelas dan terwarnai dengan baik, menandakan penetrasi safranin yang lebih optimal.

Bagian Tangkai: Pewarnaan safranin selama 15 menit menghasilkan gambar yang menunjukkan permukaan tangkai daun berambut (Gembong, 2020), namun tidak seluruhnya terwarnai secara jelas. Hanya beberapa bagian yang memperlihatkan hasil pewarnaan yang merata. Pada pewarnaan 30 menit, tangkai daun yang menebal pada ujung serta struktur tangkai lebih terlihat jelas. Warna merah yang lebih intens menunjukkan bahwa pewarna telah menembus seluruh bagian jaringan dengan lebih baik.

Bagian Batang: Pada pewarnaan 15 menit, batang tampak basah (Gembong,2020) dan warnanya terlihat samar. Tidak semua bagian batang terwarnai dengan merata, sehingga beberapa detail tidak terlihat dengan baik. Pewarnaan selama 30 menit memberikan hasil yang lebih jelas, di mana struktur batang terlihat lebih tebal dan warnanya lebih merata. Hal ini menunjukkan bahwa safranin lebih banyak terserap ke dalam jaringan batang, memberikan kontras yang lebih baik antara bagian-bagian yang berbeda dari batang.

Bagian Akar: Pewarnaan 15 menit memperlihatkan akar serabut (Gembong,2020) yang terwarnai, namun dengan hasil yang kurang tegas. Hanya sebagian kecil dari akar yang memperlihatkan warna merah dari safranin. Dengan durasi pewarnaan 30 menit, hasil

menunjukkan akar yang lebih jelas dan detail. Struktur akar serabut tampak lebih tegas dan seluruh jaringan akar menunjukkan penyerapan safranin yang lebih merata.

Dari hasil pengamatan ini, dapat disimpulkan bahwa durasi pewarnaan safranin yang lebih lama (30 menit) memberikan hasil yang lebih optimal dibandingkan durasi yang lebih pendek (15 menit). Pada durasi yang lebih lama, pewarna safranin mampu menembus lebih dalam ke dalam jaringan tumbuhan, menghasilkan warna yang lebih tajam dan detail yang lebih terlihat pada preparat. Hal ini sangat penting terutama dalam pengamatan struktur histologis tumbuhan, di mana detail dari jaringan-jaringan seperti dinding sel, jaringan vaskuler, dan permukaan daun harus dapat diamati dengan jelas (Rosita Dewi, 2019). Durasi pewarnaan yang lebih panjang, seperti 30 menit, memberikan waktu yang cukup untuk safranin menembus jaringan dengan lebih dalam, terutama pada jaringan yang lebih tebal atau mengandung komponen lignin yang lebih banyak. Oleh karena itu, pewarnaan yang lebih lama menghasilkan preparat dengan struktur yang lebih jelas dan kontras, memudahkan pengamatan histologi tumbuhan secara lebih detail. Sebaliknya, pewarnaan dengan durasi 15 menit kemungkinan tidak cukup memberikan waktu untuk penetrasi pewarna secara menyeluruh, sehingga beberapa bagian tidak terwarnai dengan baik atau tampak lebih samar.

Secara fisiologis, komponen-komponen yang terwarnai tersebut, seperti dinding sel dan inti sel, memiliki peran penting dalam kehidupan sel tumbuhan. Dinding sel menyediakan kekuatan mekanis dan melindungi sel, sementara inti sel mengatur proses-proses seluler melalui kendali genetic (Pallinti et., all., 2024). Pewarnaan safranin dalam durasi yang lebih lama memperjelas struktur-struktur ini, yang memudahkan pengamatan dan analisis di bawah mikroskop (John & Brian, 2019).

**Tabel 1.** Kualitas hasil preparat terhadap durasi pewarnaan safranin

Pewarnaan Safranin	Kualitas Preparat		
	<i>Jernih</i>	<i>Terwarnai</i>	<i>Keutuhan Struktur</i>
15 Menit	Kurang Jernih	Terwarnai	Utuh
30 Menit	Jernih	Terwarnai	Utuh

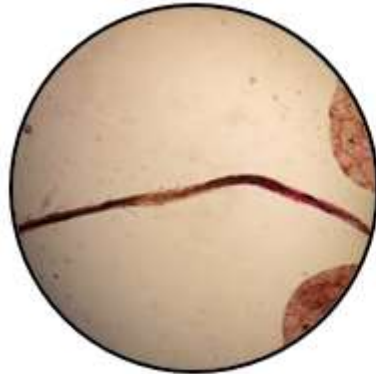


Safranin 15 menit



Safranin 30 menit

**Gambar 1.** Bagian daun *Oxalis corniculata* (Perbesaran 100x)



Safranin 15 menit



Safranin 30 menit

**Gambar 2.** Bagian tangkai *Oxalis corniculata* (Perbesaran 100x)

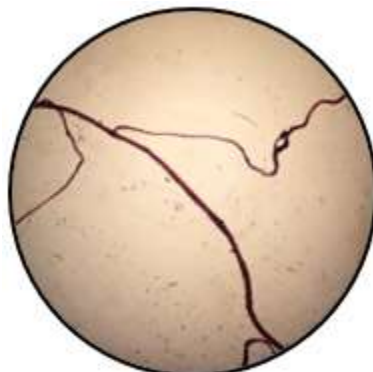


Safranin 15 menit



Safranin 30 menit

**Gambar 3.** Bagian batang *Oxalis corniculata* (Perbesaran 100x)



Safranin 15 menit



Safranin 30 menit

**Gambar 4.** Bagian akar *Oxalis corniculata* (Perbesaran 100x)

## KESIMPULAN

*Wholemout* merupakan metode pembuatan preparat yang nantinya akan diamati dengan mikroskop tanpa didahului dengan adanya proses pemotongan. Pada metode ini preparat yang diamati adalah preparat yang utuh baik itu berupa sel, jaringan, organ maupun individu. Gambar yang dihasilkan oleh preparat whole mounth ini terlihat dalam wujud utuh

seperti ketika organisme tersebut masih hidup sehingga pengamatan yang dapat dilakukan hanya terbatas terhadap morfologinya saja secara umum (Fitri, 2007). Kesimpulannya, pewarnaan dengan durasi yang lebih panjang, seperti 30 menit, memberikan hasil yang lebih optimal dibandingkan pewarnaan dengan durasi 15 menit (John & Brian, 2019). Metode *wholemout* memungkinkan pengamatan jaringan tumbuhan dalam bentuk utuh, memberikan gambaran komprehensif tentang struktur sel dan jaringan yang terlibat (Sperling, et., all.m 2023).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi dalam proses penyusunan artikel ini. Secara khusus, kami menyampaikan apresiasi mendalam kepada dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, saran, serta pendampingan yang sangat berarti selama penelitian dan penulisan artikel ini. Kami juga menghargai bantuan dari asisten dan instruktur di laboratorium, baik dalam pelaksanaan penelitian maupun diskusi yang konstruktif. Kontribusi dan kerja sama yang terjalin telah menjadi fondasi penting dalam menyelesaikan artikel ini. Kami berharap artikel ini dapat memberikan kontribusi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan serta menjadi referensi yang bernilai bagi penelitian di masa depan. Terima kasih atas segala dukungan dan kolaborasi yang telah diberikan.

## REFERENSI

- A., L., Sperling., Sebastian, Eves-van, den, Akker. (2023). 1. Whole mount multiplexed visualization of DNA, mRNA, and protein in plant-parasitic nematodes. bioRxiv, doi: 10.1186/s13007-023-01112-z
- Antonius, C.J., Timmers., Antonius, C.J., Timmers. (2016). 7. Light microscopy of whole plant organs. *Journal of Microscopy*, doi:10.1111/JMI.12394
- Awasthi, P. (2017). *Plant Anatomy and Embryology*. New Delhi: S. Chand Publishing, 1(8).
- Azizah, et.al. (2022). Fixation Proses With 10% KOH Immersion And Variation of Heating Temperatures on the Quality of *Pediculus humanus capitis*. *Research Article*, 10(07).
- B., N., Achar., J., M., Bhandari., H., G., V., G., Urs. (2015). 7. A rapid safranin-metal phthalocyanine double staining technique for plants.. *Biotechnic & Histochemistry*, doi:10.3109/10520299309104681
- Badwaik, et.al. (2011). *The Botany, Chemistry, Pharmacological and Therapeutic Application of Oxalis Corniculata Linn- A Review*,8(11).
- Cutler, D. F., Botha, T., & Stevenson, D. W. (2008). *Plant Anatomy: An Applied Approach*. Wiley-Blackwell, 1(1).
- Dafrita & Sari. 2020. Senduduk dan ubi jalar ungu sebagai pewarna preparat squash akar bawang merah. *Jurnal Pendidikan Biologi*. Vol 5 (1), 46-55
- Edward, C., Yeung. (2015). 8. A Guide to the Study of Plant Structure with Emphasis on Living Specimens. *Journal article* doi: 10.1007/978-3-319-19944-3\_1

- Fabien, Baldacci-Cresp., Fabien, Baldacci-Cresp., Coentini, Spriet., Laure, Twyffels., Anne-Sophie, Blervacq., Godfrey, Neutelings., Marie, Baucher., Simon, Hawkins. (2020). A rapid and quantitative safranin-based fluorescent microscopy method to evaluate cell wall lignification.. *Plant Journal*, doi: 10.1111/TPJ.14675
- Gembong. (2020). *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta : UGM Press
- Hartono, et al. 2020. Identifikasi Tumbuhan Tingkat Tinggi (Phanerogamae) Di Kampus II UINSU. *Jurnal Biolokus*. Vol 3 (2)
- Jannah, et.al. (2019). Pemanfaatan filtrat bunga flamboyant ( *Delonix regia*), sebagai pewarna alternative dalam pengamatan preparat jaringan tumbuhan. *Jurnal Biosains dan Edukasi*, 1(1), 5-9.
- John, H., D., Bryan. (2019). 1. Differential staining with a mixture of safranin and fast green FCF.. *Biotechnic & Histochemistry*, doi:10.3109/10520295509114456.
- Novikov., Mariia, Sup-Novikova. (2021). 1. Modified staining protocol with Safranin O and Astra Blue for the plant histology. *Plant Introduction*, doi: 10.46341/PI2021005.
- Rosita Dewi. (2019). Studi Struktur Morfologi Tanaman Sawi (*Brassicarapa*) Menggunakan Metode Wholemout Tumbuhan Dengan Pewarnaan Safranin Sebagai Sumber Belajar Biologi Kelas X Materi Plantae. *Jurnal Ilmiah Biologi*. 10(2), 129-137
- Thu, M., Tran., Edgar, Demesa-Arevalo., Munenori, Kitagawa., Marcelina, Garcia-Aguilar., Daniel, Grimanelli., David, A., Jackson. (2021). 4. An Optimized Whole-Mount Immunofluorescence Method for Shoot Apices. *Jornal Article*, doi: 10.1002/CPZ1.101
- Pallinti, Purushotham., Ruoya, Ho., Jochen, Zimmer. (2024). 2. In vitro function, assembly, and interaction of primary cell wall cellulose synthase homotrimers. *bioRxiv*, doi: 10.1101/2024.02.13.580128