

**PERBANDINGAN KUALITAS MIKROSKOPIS JARINGAN KENTANG
(*Solanum tuberosum* L.) PADA PERENDAMAN NATRIUM HIDROKSIDA
(NaOH) SELAMA 25 MENIT DAN 30 MENIT**

SKRIPSI

Oleh

SARASWATI



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

PERBANDINGAN KUALITAS MIKROSKOPIS JARINGAN KENTANG
(*Solanum tuberosum* L.) PADA PERENDAMAN NATRIUM HIDROKSIDA
(NaOH) SELAMA 25 MENIT DAN 30 MENIT

Oleh

SARASWATI
NIM : 23020121130074

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Saraswati
N I M : 23020121130074
Program Studi : Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Perbandingan Kualitas Mikroskopis Jaringan Kentang (*Solanum tuberosum* L.) pada Perendaman Natrium Hidroksida (NaOH) Selama 25 Menit dan 30 Menit** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu : **Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D.** dan **Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026
Penulis,



Saraswati

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Pembimbing Anggota

Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PERBANDINGAN KUALITAS
MIKROSKOPIS JARINGAN KENTANG
(*Solanum tuberosum* L.) PADA
PERENDAMAN NATRIUM HIDROKSIDA
(NaOH) SELAMA 25 MENIT DAN 30 MENIT

Nama Mahasiswa : SARASWATI

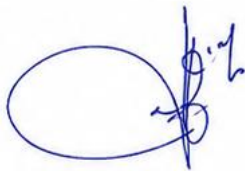
Nomor Induk Mahasiswa : 23020121130074

Program Studi/Departemen : S-1 Teknologi Pangan / Pertanian

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal ...30 JUN 2026.....

Pembimbing Utama



Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., MP., Ph.D.

Dekan



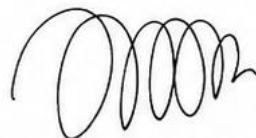
Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Pembimbing Anggota



Prof. Ir. Anang Mohamad Legowo, M. Sc., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., MP., Ph.D.

RINGKASAN

SARASWATI. 23020121130074. 2026. Perbandingan Kualitas Mikroskopis Jaringan Kentang (*Solanum tuberosum* L.) pada Perendaman Natrium Hidroksida (NaOH) Selama 25 menit dan 30 menit (Pembimbing **SETYA BUDI MUHAMMAD ABDUH** dan **ANANG MOHAMAD LEGOWO**).

Penelitian dilaksanakan selama 10 bulan yaitu dari bulan Juli 2024 – Juni 2025 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu perendaman natrium hidroksida (NaOH) terhadap kualitas mikroskopis jaringan kentang (*Solanum tuberosum* L.) yang ditinjau berdasarkan parameter luas sel (*cell area*), diameter ekivalen sel, persentase sel terukur, serta persentase sel tidak terukur akibat artefak. Perendaman NaOH merupakan salah satu tahapan preparasi jaringan yang bertujuan melonggarkan matriks dinding sel sehingga proses preparasi dapat dilakukan. Penelitian dilakukan dengan menggunakan dua durasi waktu perendaman NaOH 5% yaitu 25 menit dan 30 menit.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kentang varietas Granola yang diperoleh dari Perkebunan Agro Lestari Merbabu, Kabupaten Magelang. Bahan kimia yang digunakan dalam proses preparasi mikroskopi meliputi paraformaldehid, glutaraldehid, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaOH, etanol, *xylol*, parafin, akuades, serta pewarna *toluidine blue* O. Metode penelitian dilakukan melalui tahapan preparasi sampel yang meliputi fiksasi, pencucian (*washing*), perendaman NaOH, pencucian (*washing*), dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi, penanaman (*embedding*), pemotongan, serta pewarnaan. Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya dan dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ. Parameter yang dianalisis meliputi luas sel (*cell area*), diameter ekivalen, persentase sel terukur, serta persentase sel tidak terukur akibat artefak. Data hasil analisis diolah menggunakan *Microsoft Excel* 2021 dan SPSS versi 26.0 *for Windows*. Selain analisis kuantitatif, hasil pengamatan mikroskopis juga dianalisis secara deskriptif kualitatif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan waktu perendaman NaOH tidak berpengaruh signifikan terhadap luas sel ($p = 0,14$) dan diameter ekivalen sel ($p = 0,19$). Namun, perbedaan waktu perlakuan NaOH berpengaruh signifikan terhadap persentase sel terukur ($p = 0,001$) dan persentase sel tidak terukur akibat artefak ($p = 0,001$). Selain itu, berdasarkan analisis deskriptif kualitatif, diketahui bahwa perendaman NaOH selama 25 menit memperlihatkan hasil yang lebih baik dalam integritas struktur jaringan dan kualitas visual mikroskopis dibandingkan dengan perlakuan perendaman NaOH 30 menit.

KATA PENGANTAR

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan karena mengandung karbohidrat dalam jumlah tinggi dan memiliki peranan penting dalam industri pangan. Pengamatan mikrostruktur jaringan kentang diperlukan untuk memahami karakteristik sel dan jaringan yang berkaitan dengan sifat fisik maupun kualitas produk pangan. Kualitas hasil pengamatan mikroskopis sangat dipengaruhi oleh keberhasilan proses preparasi jaringan, termasuk tahap infiltrasi media embedding ke dalam jaringan. Oleh karena itu, diperlukan metode preparasi yang mampu menghasilkan preparat mikroskopis dengan kualitas yang baik sehingga struktur jaringan dapat diamati secara lebih jelas dan representatif.

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Perbandingan Kualitas Mikroskopis Jaringan Kentang (*Solanum tuberosum* L.) pada Perendaman Natrium Hidroksida (NaOH) Selama 25 Menit dan 30 Menit” dengan baik. Skripsi ini disusun berdasarkan serangkaian kegiatan penelitian yang dilakukan pada bulan Juli 2024 – Juni 2025 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Skripsi ini dapat berjalan dengan baik karena berkat dan dukungan dari berbagai pihak. Maka dari itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Diri saya pribadi yang telah mampu menyelesaikan kegiatan perkuliahan dari awal hingga selesai sidang skripsi dengan baik.
2. Bapak Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D. dan Prof. Ir. Anang Mohamad Legowo, M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing I dan II yang telah memberikan dukungan, arahan, dan saran selama proses penulisan skripsi hingga selesai.
3. Kedua orang tua penulis yang dengan doa, dukungan, dan ridhonya penulis bisa menyelesaikan pendidikan di program studi S-1 Teknologi Pangan.

4. Kakak penulis, kakak ipar penulis, dan keponakan penulis yang telah memberikan dukungan dan semangat selama proses penyusunan skripsi.
5. Dr. Rafli Zulfa Kamil dan Yasmin Aulia Rachma, S.T.P., M.Sc. selaku dosen penguji sidang skripsi saya.
6. Hega Bintang Pratama Putra, S.T.P., M.Sc. selaku dosen panitia sidang skripsi saya.
7. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang yang telah mengizinkan dan memberikan kesempatan bagi penulis untuk menempuh studi dan mengikuti seluruh kegiatan perkuliahan di Program Studi S-1 Teknologi Pangan hingga dapat memperoleh gelar sarjana.
8. Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Departemen Pertanian, Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, serta Dosen wali penulis yang telah mengizinkan dan memberikan kesempatan kepada penulis selama melaksanakan perkuliahan hingga lulus.
9. Bapak Indarto, A.Md.Pt. dan Mba Nadya Annisa Perwitasari, S.P., selaku teknisi di Laboratorium Teknologi Pangan yang telah mendampingi, memberikan bantuan dan arahan selama penulis beraktivitas di Laboratorium Teknologi Pangan.
10. Teman-teman mahasiswa/i program studi S-1 Teknologi Pangan angkatan 2021 yang telah menemani, membersamai, dan mewarnai kegiatan perkuliahan penulis di Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.
11. Penulis Vex King yang menulis buku "*GOOD VIBES, GOOD LIFE*" yang telah memberikan banyak wawasan kepada penulis untuk tumbuh menjadi pribadi yang lebih positif.
12. Mba Risna yang selalu memberi semangat dan mendukung penulis untuk terus maju.

13. Seluruh pihak yang atas kehadirannya dalam hidup penulis telah memberikan banyak pelajaran berharga sehingga penulis bisa sampai pada titik ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini masih belum sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun dari pembaca sangat dibutuhkan oleh penulis. Akhir kata penulis mohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penulisan kata yang kurang berkenan.

Semarang, Juni 2026

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR ILUSTRASI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Kentang	6
2.2. Struktur Jaringan Umbi Kentang	7
2.3. Preparasi Mikroskopi	10
2.4. Natrium Hidroksida	24
2.5. Parameter Penelitian	25
BAB III. MATERI DAN METODE	30
3.1. Materi Penelitian	30
3.2. Metode Penelitian	31
3.3. Analisis Data	38
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1. Analisis Luas Sel (<i>Cell Area</i>)	39
4.2. Analisis Diameter Ekuivalen Sel	41
4.3. Analisis Persentase Sel Terukur	43
4.4. Analisis Persentase Sel Tidak Terukur Akibat Artefak .	44
4.5. Analisis Deskriptif Kualitatif	45
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	47

5.1. Simpulan	47
5.2. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	63
RIWAYAT HIDUP	70

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Desain Rancangan Percobaan	31
2.	<i>Cell Area</i> Jaringan Kentang	39
3.	Diameter Ekuivalen Sel Jaringan Kentang	41
4.	Persentase Sel Terukur Jaringan Kentang	43
5.	Persentase Sel Tidak Terukur Akibat Artefak	44

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Struktur Jaringan Kentang	7
2. Diagram Alir Proses Preparasi Mikroskopi	36

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Data Mentah <i>Cell Area</i> Jaringan Kentang	63
2.	Data Mentah Diameter Ekivalen Sel Jaringan Kentang	63
3.	Data Mentah Persentase Sel Terukur Jaringan Kentang	63
4.	Data Mentah Persentase Sel Tidak Terukur Akibat Artefak .	64
5.	<i>Output</i> SPSS Uji <i>Cell Area</i>	64
6.	<i>Output</i> SPSS Uji Diameter Ekivalen Sel	64
7.	<i>Output</i> SPSS Uji Persentase Sel Terukur	65
8.	<i>Output</i> SPSS Uji Persentase Sel Tidak Terukur Akibat Artefak	65
9.	Data Visual Mikroskopis Jaringan Kentang	66
10.	Dokumentasi Penelitian	67

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang menjadi komoditas pangan penting karena memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi. Kentang memiliki kandungan air dan polisakarida yang tinggi karena jaringan kentang didominasi oleh sel parenkim yang berperan penting sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan (Reyniers *et al.*, 2020). Tekstur merupakan atribut mutu utama kentang yang dipengaruhi oleh karakteristik sel dan jaringan. Setiap jenis varietas umbi kentang memiliki tekstur yang berbeda yang dapat diketahui melalui pengetahuan mengenai mikrostruktur seperti bentuk dan ukuran sel serta karakteristik dinding selnya (Bordoloi *et al.*, 2012).

Pengukuran parameter morfometri sel seperti luas sel (*cell area*) dan diameter ekuivalen (*equivalent diameter*) memungkinkan karakterisasi kuantitatif terhadap struktur jaringan parenkim kentang. Pendekatan analisis citra mikroskopis dapat digunakan untuk mengukur berbagai fitur mikroskopis secara objektif, seperti bentuk sel, ukuran sel, jumlah pati yang kemudian dapat digunakan untuk menjelaskan variasi karakteristik tekstur kentang (Martens dan Thybo, 2000). Hal ini juga didukung pernyataan Bordoloi *et al.* (2012) bahwa informasi terkait mikrostruktur yang diperoleh melalui pengamatan mikroskopis tidak hanya bermanfaat untuk memahami karakteristik jaringan kentang, tetapi juga dapat digunakan untuk mendukung evaluasi mutu umbi, karakteristik tekstur, serta

perbedaan sifat antar varietas kentang.

Karakterisasi mikroskopis dapat dilakukan dengan menggunakan metode irisan segar maupun metode histologi mikroskopis. Metode irisan segar relatif lebih sederhana dan cepat dilakukan, tetapi memiliki beberapa keterbatasan seperti deformasi jaringan selama pemotongan, ketidakseragaman ketebalan irisan, serta struktur sel yang tumpang tindih. Jaringan kentang memiliki sifat yang relatif lunak sehingga mudah mengalami deformasi ketika dikenai tekanan (Hepworth dan Bruce, 2000). Pemotongan manual bahan segar untuk pengamatan mikroskopis dapat menyebabkan penurunan kualitas gambar (struktur sel yang tumpang tindih) karena adanya perbedaan ketebalan pemotongan. Selain itu, pemotongan secara manual juga memerlukan tingkat keterampilan yang tinggi terutama pada jaringan tanaman yang rapuh (Atkinson dan Wells, 2017). Sebaliknya, metode histologi melalui tahapan fiksasi, dehidrasi, *embedding*, *sectioning*, dan pewarnaan mampu mempertahankan organisasi jaringan, menghasilkan irisan tipis dengan kualitas morfologi yang baik dan batas sel yang lebih jelas (Weigel dan Glazebrook, 2008). Selain itu, preparat histologi yang telah melalui proses fiksasi dan *embedding* dalam parafin dapat disimpan sebagai preparat permanen dengan kualitas morfologi yang tetap terjaga (Likhithaswamy *et al.*, 2022).

Dinding sel parenkim kentang merupakan dinding sel primer yang tersusun dari selulosa, hemiselulosa, dan pektin. Selulosa berfungsi membentuk mikrofibril yang memberikan kekuatan tarik utama, sementara hemiselulosa berfungsi menghubungkan mikrofibril selulosa melalui ikatan non-kovalen sehingga terbentuk kerangka struktural dinding sel yang stabil (Pieczywek *et al.*, 2023). Di

sisi lain, pektin memiliki peranan penting dalam menjaga kohesi jaringan dengan merekatkan dinding sel dari sel-sel yang berdekatan (Do *et al.*, 2020). Selain itu, pektin juga memiliki kemampuan spesifik untuk serta membentuk matriks menyerupai gel yang dapat memengaruhi sifat porositas dinding sel kentang (Holldan *et al.*, 2020). Kondisi tersebut dapat menyebabkan proses preparasi mikroskopi menjadi kurang efektif karena struktur yang kompleks dari umbi kentang tersebut cenderung bersifat mempertahankan air di dalam dinding sel dan ruang antar sel sehingga mengganggu proses penggantian air oleh pelarut organik pada tahap dehidrasi dan *clearing*. Akibatnya, parafin yang berfungsi sebagai media infiltrasi dan *embedding* mengalami hambatan dalam menembus jaringan umbi kentang karena parafin bersifat hidrofobik. Hal ini sesuai dengan pendapat Mozzi *et al.* (2021), yang berpendapat bahwa kemampuan infiltrasi media *embedding* (parafin) dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kandungan air jaringan, porositas jaringan, serta karakteristik struktural dinding sel. Merujuk pada adanya permasalahan tersebut, diperlukan modifikasi metode untuk mengatasi permasalahan yang ada sehingga efektivitas penetrasi parafin pada jaringan dengan polisakarida yang tinggi dapat ditingkatkan.

Berbagai penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *pretreatment* menggunakan NaOH dapat memodifikasi struktur dinding sel pada jaringan tanaman melalui pelarutan dan degradasi komponen matriks dinding sel. Berdasarkan kajian terhadap dinding sel primer tanaman, Broxterman dan Schols (2018) menjelaskan bahwa matriks pektin dan kerangka hemiselulosa-selulosa dapat mengalami pelonggaran struktur akibat terganggunya ikatan kovalen maupun

non-kovalen antarpolisakarida sehingga memicu perubahan sifat fisik dinding sel. Pada penelitian yang dilakukan terhadap jaringan akar ubi kayu (*cassava root*), perlakuan NaOH dilaporkan mampu melarutkan sebagian pektin yang menyebabkan terbukanya mikropori pada dinding sel serta menurunkan integritas struktural jaringan sehingga dinding sel menjadi lebih mudah terdisintegrasi (Odoch *et al.*, 2017). Selain itu, penelitian pada serta selulosa yang diisolasi dari jaringan tanaman menunjukkan bahwa perlakuan NaOH dapat menyebabkan pembengkakan selulosa melalui penurunan kristalinitas rantai selulosa sehingga dinding sel menjadi lebih terbuka dan *permeable* (Dindan *et al.*, 2002). Meskipun berbagai penelitian tersebut menunjukkan potensi NaOH dalam meningkatkan keterbukaan struktur dinding sel tanaman, sebagian besar kajian masih difokuskan pada biomassa lignoselulosa, serat tanaman, atau jaringan penyimpanan selain kentang. Hingga saat ini, informasi mengenai penerapan pretreatment NaOH pada preparasi histologi umbi kentang, khususnya untuk meningkatkan kualitas infiltrasi parafin dan menghasilkan preparat yang sesuai untuk analisis morfometri sel, masih sangat terbatas. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengevaluasi pengaruh durasi perlakuan NaOH terhadap kualitas preparat mikroskopis jaringan kentang.

1.2. Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu perendaman natrium hidroksida (NaOH) 5% selama 25 menit dan 30 menit terhadap kualitas mikroskopis jaringan kentang (*Solanum tuberosum* L.) yang

ditinjau berdasarkan beberapa parameter yaitu luas sel (*cell area*), diameter ekuivalen sel, persentase sel terukur, serta persentase sel tidak terukur akibat artefak.

Manfaat dari penelitian ini adalah diharapkan dapat memberikan informasi dan referensi ilmiah mengenai pengaruh durasi perendaman NaOH terhadap kualitas preparat mikroskopis jaringan kentang serta menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya yang berfokus pada preparasi mikroskopi jaringan umbi kentang sehingga didapatkan hasil pengamatan yang representatif. Secara aplikatif, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam pengembangan metode preparasi histologi jaringan umbi kentang dan jaringan tanaman berpati tinggi lainnya, sehingga menghasilkan preparat dengan kualitas morfologi yang lebih baik untuk analisis struktur jaringan dan morfometri sel di bidang ilmu pangan maupun biologi tumbuhan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kentang

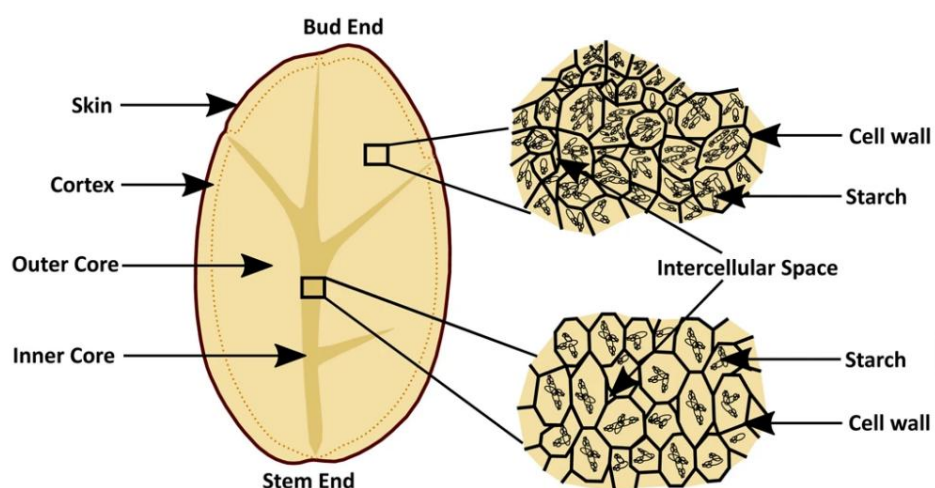
Kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura berbentuk umbi yang termasuk dalam famili Solanaceae (terong-terongan) yang menjadi salah satu komoditas pangan penting di dunia. Menurut pendapat Qu *et al.* (2024), kentang menempati peringkat ketiga sebagai tanaman pangan global paling penting selain beras dan gandum. Hal ini dikarenakan kentang mengandung karbohidrat yang tinggi mencakup 70 – 85% dari total bahan kering yang sebagian besar berupa pati. Selain karbohidrat, kentang juga diketahui mengandung berbagai komponen mikro dan makro lainnya, seperti protein, serat pangan, vitamin C, vitamin B kompleks (B1, B2, B3, B6, B9), serta mineral, seperti kalium, kalsium, magnesium, zat besi, dan zinc (Beals, 2019).

Menurut pendapat dari Leonel *et al.* (2017), umbi kentang secara umum tersusun dari air sekitar 78–88% dan bahan kering sekitar 12–22%, yang utamanya adalah pati, di mana jumlah air dan pati pada umbi kentang ini dapat sedikit berbeda, tergantung dari varietas dan kondisi pertumbuhan tanaman kentang. Pati kentang tersusun atas dua polisakarida utama, yaitu amilosa dan amilopektin, dengan proporsi amilosa sekitar 15–30% dan amilopektin sekitar 70–85% dari total pati (Brażkiewicz *et al.*, 2025). Perbandingan kedua komponen polisakarida tersebut memiliki peranan penting dalam menentukan sifat fisik dan fungsional pati kentang yang kemudian juga memengaruhi kesesuaian penggunaan umbi dalam

berbagai pengolahan di bidang pangan maupun non-pangan (Qu *et al.*, 2024). Berbagai contoh dari penggunaan pati dalam kehidupan sehari-hari antara lain dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengental, pelapis, pembentuk gel, perekat, dan enkapsulasi. Fungsi-fungsi tersebut berkaitan dengan kemampuan pati untuk mengalami pembengkakan granula, gelatinisasi, retrogradasi, atau perubahan sifat reologi selama pengolahan (Dupuis dan Liu, 2019).

2.2. Struktur Jaringan Umbi Kentang

Umbi kentang memiliki struktur anatomi yang tersusun atas beberapa lapisan jaringan yang dapat diamati secara melintang maupun membujur. Secara umum, struktur jaringan umbi kentang dari luar ke dalam tersusun atas kulit (periderm) dengan ujung tunas dan batang, korteks, inner luar, dan inner dalam (Biswas dan Barma, 2020). Struktur jaringan kentang secara membujur dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Struktur Jaringan Kentang

Biswas dan Barma (2020)

Lapisan pertama adalah kulit atau periderm yang berperan sebagai lapisan pelindung yang melindungi umbi kentang dari hilangnya air, kerusakan mekanis, atau infeksi mikroba patogen selama masa pertumbuhan hingga penyimpanan (Singh *et al.*, 2021). Periderm terbentuk dari adanya aktivitas kambium kabus yang akan terus menerus berganti selama masa pertumbuhan. Menurut pendapat dari Kumar dan Ginzberg (2022), perkembangan lapisan periderm pada umbi kentang dapat dibagi menjadi tiga fase atau tahapan yakni fase inisiasi periderm, fase perkembangan periderm, dan fase maturasi periderm. Pada tahap inisiasi, sel parenkim subepidermal berdediferensiasi menjadi phellogen yang membentuk phelloderm ke arah dalam dan phellem ke arah luar. Pada tahap perkembangan, phellogen aktif menghasilkan lapisan phellem baru yang mulai mengalami deposisi suberin, meskipun lapisannya masih tipis dan mudah terkelupas. Pada tahap maturasi, aktivitas phellogen berhenti dan dinding sel phellem tersuberinisasi secara sempurna sehingga terbentuk periderm yang kompak, rapat, dan melekat kuat, menyebabkan kulit umbi matang lebih sulit dikupas dibandingkan umbi muda.

Jaringan korteks memiliki ketebalan sekitar 146–189 μm dan diisi oleh sel-sel parenkim yang berukuran besar (Biswas dan Barma, 2020). Di dalam sel-sel parenkim berukuran besar tersebut, terkandung banyak granula pati yang tersimpan dalam plastida khusus bernama amiloplas (Stensballe *et al.*, 2008). Tidak hanya itu, karena ukuran sel-sel parenkimnya relatif besar, akumulasi pati yang tersimpan juga cukup tinggi sehingga dapat memengaruhi perkembangan volume umbi kentang (Sadowska *et al.*, 2008).

Lapisan ketiga pada struktur umbi kentang adalah lapisan yang disebut *outer core* atau zona perimedular. Lapisan ini merupakan lapisan transisi antara korteks dan pusat umbi yang juga merupakan lapisan dengan ukuran paling tebal. Zona perimedular tersusun dari sel-sel parenkim dengan jumlah yang besar mencapai 75% dari total volume umbi sehingga termasuk sebagai salah satu jaringan utama penyimpan pati selain korteks (Biswas dan Barma, 2020). Sel-sel parenkim pada zona perimedular memiliki vakuola yang besar dengan ukuran sel sekitar 1,5–2,5 kali lebih besar dibandingkan sel-sel parenkim pada jaringan korteks, sehingga dapat menampung pati dengan jumlah lebih banyak (Sadowska *et al.*, 2008). Selain itu, sel-sel parenkim pada zona perimedular juga cenderung tersusun lebih teratur dibandingkan sel-sel parenkim pada jaringan korteks sehingga struktur jaringannya tampak lebih homogen (Adu-Poku dan Agbenorhevi, 2017). Sebagai jaringan penyimpanan, sel-sel parenkim yang saling terikat oleh lamela tengah yang kaya pektin, mengandung granula-granula pati dengan ukuran diameter ekivalen rata-rata sekitar 40–60 μm (Choi *et al.*, 2025). Selain berfungsi sebagai jaringan penyimpanan, pada zona perimedular juga dapat ditemukan berkas pembuluh yang membentuk cincin vaskular mengelilingi umbi. Sistem vaskular atau berkas pengangkut pada umbi kentang ini berbentuk bikolateral dengan xilem berada di bagian tengah dan diapit oleh floem di kedua sisi yang memiliki peran utama sebagai jalur transportasi air dan hasil fotosintesis menuju jaringan penyimpanan umbi (Zierer *et al.*, 2021).

Lapisan yang paling dalam dari struktur umbi kentang adalah empulur atau *pith* atau *inner core* yang memanjang dari ujung batang (*stem end*) hingga ujung

tunas (*bud end*) seperti yang terlihat pada Ilustrasi 1. Sel-sel parenkim pada jaringan empulur tersusun lebih longgar dibandingkan zona perimedular dengan kandungan air yang lebih tinggi sehingga jaringan ini memiliki sifat yang lebih lunak (Gancarz dan Konstankiewicz, 2007). Meskipun pada jaringan empulur masih terdapat kandungan pati, namun konsentrasi pati pada jaringan ini paling rendah jika dibandingkan dengan jaringan korteks dan zona perimedular karena plastida yang terdapat pada empulur berukuran relatif kecil sehingga hanya dapat menampung sedikit granula pati (Van Denburgh *et al.*, 1986). Jumlah granula pati yang lebih rendah dengan kandungan air yang lebih tinggi menyebabkan jaringan ini tampak memiliki warna yang lebih gelap karena hanya memantulkan lebih sedikit cahaya dibandingkan jaringan lainnya. Hal ini dikarenakan variasi mikrostruktur jaringan kentang dapat memengaruhi sifat optik jaringan melalui perbedaan hamburan cahaya, yang selanjutnya berkontribusi terhadap perbedaan tingkat kecerahan visual jaringan (Martens dan Thybo, 2000).

2.3. Preparasi Mikroskopi

Jaringan kentang yang akan diamati di bawah mikroskop harus dipreparasi terlebih dahulu untuk menjaga kestabilan jaringannya. Preparasi mikroskopi merupakan serangkaian tahapan yang bertujuan mempertahankan struktur dan morfologi jaringan agar tetap menyerupai kondisi aslinya sehingga dapat diamati secara jelas dan representatif di bawah mikroskop (Unhale *et al.*, 2012). Tahapan preparasi mikroskopi secara berurutan terdiri dari tahap fiksasi, dehidrasi, penjernihan penjernihan (*clearing*), infiltrasi, penanaman (*embedding*),

pemotongan (*sectioning*), dan pewarnaan (*staining*) (Sari dan Fitria, 2024). Dari semua tahapan umum preprasi tersebut, tahap dehidrasi dan infiltrasi menjadi tahapan yang berkaitan langsung dengan keberhasilan preparasi. Hal ini karena kedua tahapan tersebut dapat sangat memengaruhi keberhasilan pembuatan preparat serta kualitas hasil pengamatan mikroskopis melalui terbentuknya artefak apabila dilakukan secara kurang optimal.

2.3.1.Fiksasi

Langkah awal yang dilakukan dalam preparasi mikroskopi adalah fiksasi. Fiksasi berfungsi untuk menghentikan semua aktivitas biologis secara instan agar kondisi morfologi jaringan dapat dipertahankan sedekat mungkin dengan kondisi aslinya ketika masih hidup (*life-like-state*) (Dağdeviren *et al.*, 2024). Pencegahan kerusakan jaringan ini dilakukan dengan menggunakan larutan kimia yang dapat mencegah terjadinya autolisis (kerusakan akibat aktivitas enzim) dan putrefaksi (kerusakan akibat aktivitas mikroba) (Bugshan *et al.*, 2022). Berdasarkan hal tersebut, fiksasi diperlukan untuk menonaktifkan enzim-enzim penyebab autolisis serta mikroba pembusuk sehingga jaringan kentang bisa tetap segar ketika diamati di bawah mikroskop. Efektivitas proses fiksasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain durasi fiksasi, suhu fiksasi, konsentrasi fiksatif, dan osmolalitas (Ajileye dan Esan, 2022).

Proses fiksasi terjadi ketika larutan fiksatif berdifusi ke dalam jaringan dan kemudian bereaksi secara kimiawi dengan komponen seluler, seperti protein dan makromolekul lainnya, sehingga struktur jaringan menjadi stabil, tidak larut, dan

tetap terjaga selama tahapan preparasi berikutnya (Thavarajah *et al.*, 2012). Tahap ini dilakukan dalam durasi minimal 6 jam dan maksimal 24 hingga 36 jam dengan cara merendam jaringan pada larutan fiksasi dengan perbandingan 1:10 (Kaushal *et al.*, 2023). Kecepatan fiksasi pada jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ketebalan jaringan dan kepadatan jaringan, struktur jaringan, serta jenis fiksatif yang digunakan (Srinivasan *et al.*, 2002).

Menurut Thavarajah *et al.* (2012), jaringan yang tebal memerlukan waktu fiksasi yang lebih lama karena penetrasi larutan fiksatif ke dalam jaringan berlangsung secara difusi. Apabila kecepatan difusi fiksatif lebih lambat dibandingkan laju pembusukan internal sel, bagian dalam jaringan berpotensi mengalami autolisis sebelum proses fiksasi berlangsung sempurna. Jaringan yang padat seperti kentang dapat menciptakan hambatan yang memperlambat laju difusi. Hal ini sejalan dengan pendapat Michael *et al.* (1997), Jaringan umbi kentang yang tersusun atas sel-sel parenkim yang rapat dan kaya air dapat menjadi hambatan bagi penetrasi larutan fiksatif karena proses transport melalui jaringan berlangsung melalui jalur yang kompleks, sehingga laju difusi menuju bagian dalam jaringan menjadi lebih lambat.

Faktor kedua yang memengaruhi keberhasilan tahap fiksasi yaitu suhu fiksasi. Peningkatan suhu dapat meningkatkan energi kinetik molekul sehingga mempercepat laju difusi fiksatif ke dalam jaringan serta meningkatkan laju reaksi kimia antara fiksatif dan komponen seluler (Chafin *et al.*, 2013). Akan tetapi, di sisi lain juga berpotensi menyebabkan kerusakan akibat autolisis pada jaringan yang belum terfiksasi (Muthiawati *et al.*, 2023). Sebaliknya, suhu yang rendah akan

memperlambat pergerakan molekul fiksatif sehingga laju difusi dan reaksi fiksasi menurun, menyebabkan proses fiksasi berlangsung lebih lama dibandingkan pada suhu yang lebih tinggi (Bamisi dan Alese, 2020). Meskipun demikian, fiksasi pada suhu rendah dapat membantu mengurangi aktivitas enzim dan memperlambat degradasi jaringan sehingga struktur sel dapat dipertahankan dengan lebih baik (Bussolati *et al.*, 2011). Untuk mengatasi hal tersebut, beberapa prosedur fiksasi dilakukan dengan kombinasi suhu ruang dan suhu rendah. Suhu ruang digunakan untuk mempercepat penetrasi awal fiksatif, sedangkan suhu rendah membantu mempertahankan stabilitas jaringan sehingga kualitas preparat mikroskopis dapat terjaga.

Setiap larutan fiksatif memiliki konsentrasi ideal yang berbeda, yang umumnya ditentukan melalui eksperimen atau optimasi. Pemahaman mengenai karakteristik larutan fiksatif dapat sangat membantu dalam memilih larutan fiksatif yang paling optimal untuk sampel yang digunakan (Jalali *et al.*, 2023). Penggunaan larutan fiksatif dengan konsentrasi yang terlalu pekat dapat memicu peningkatan tekanan osmosis sehingga jaringan akan mengalami kontraksi yang pada akhirnya akan menciptakan artefak (Margo dan Lee, 1995). Sebaliknya, apabila konsentrasi larutan fiksatif terlalu encer, maka proses fiksasi akan berlangsung lebih lambat sehingga stabilisasi komponen jaringan tidak terjadi secara optimal. Kondisi demikian memungkinkan terjadinya autolisis sebelum fiksatif bekerja sepenuhnya (Al Tamimi, 2024). Oleh karena itu, penyesuaian konsentrasi atau penggunaan kombinasi fiksatif dapat menjadi salah satu pendekatan untuk meminimalkan risiko terbentuknya artefak dan kerusakan struktur jaringan.

Osmolalitas menggambarkan tingkat kepekatan suatu larutan berdasarkan jumlah partikel terlarut yang terdapat dalam setiap kilogram pelarut (Rasouli, 2016). Tingkat osmolalitas larutan fiksatif berperan dalam mengontrol perpindahan air secara osmosis, yakni perpindahan air dari daerah berkonsentrasi rendah ke daerah berkonsentrasi tinggi. Dalam preparasi mikroskopis, larutan fiksatif idealnya harus memiliki osmolalitas yang mendekati kondisi fisiologis jaringan (isotonis) (McFadden *et al.*, 2019). Hal ini dikarenakan ketidaksesuaian osmolalitas dapat menyebabkan perubahan volume sel yang berpotensi menimbulkan artefak pada preparat mikroskopis (Lee *et al.*, 1982). Larutan fiksatif dengan osmolalitas yang terlalu tinggi (hipertonis) dapat menyebabkan molekul-molekul air yang berada di dalam sel keluar secara berlebihan demi menyeimbangkan kepekatan larutan fiksatif. Akibatnya volume sel akan berkurang drastis dan menyebabkan sel mengalami penyusutan (*shrinkage*) yang kemudian juga menyebabkan perubahan morfologi jaringan (Doughty *et al.*, 1997). Sebaliknya, jika larutan fiksatif memiliki osmolalitas terlalu rendah (hipotonis), sel akan mengalami pembengkakan akibat kelebihan air (Rasmussen, 1974). Apabila tekanan air di dalam sel terlalu ekstrem, sel dapat rusak atau pecah dan menimbulkan artefak. Untuk mengatasi hal tersebut, dapat digunakan larutan *buffer* sebagai medium pelarut untuk mempertahankan stabilitas osmolalitas larutan sehingga dapat meminimalkan kerusakan jaringan selama proses fiksasi.

2.3.2. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan tahapan yang bertujuan untuk menghilangkan air dari jaringan sehingga jaringan dapat diinfiltrasi dan ditanamkan pada media *embedding* (Parthiban *et al.*, 2014). Dehidrasi perlu dilakukan karena parafin yang digunakan sebagai media *embedding* bersifat hidrofobik (menolak air) sehingga jika masih terdapat air di dalam jaringan, parafin tidak bisa masuk dan menyatu dengan jaringan. Menurut Richardson *et al.* (2021), agen dehidrasi yang umum digunakan dalam preparasi mikroskopi adalah pelarut polar yang mudah bercampur dengan air (*water-miscible solvents*), seperti etanol, metanol, 1-propanol, tert-butanol, dan *tetrahydrofuran* (THF). Setiap pelarut tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing sehingga penggunaannya perlu disesuaikan dengan jenis sampel yang akan diproses. Meskipun demikian, etanol merupakan agen dehidrasi yang paling umum digunakan dalam preparasi histologi karena mampu menggantikan air secara efektif dari dalam jaringan serta menghasilkan kualitas morfologi jaringan yang baik selama proses pengolahan jaringan (Lerch *et al.*, 2019).

Proses dehidrasi tidak bisa langsung dilakukan dengan alkohol absolut, tetapi harus dilakukan secara bertahap. Menurut Manoj dan Paul (2023), penggunaan konsentrasi alkohol secara bertahap dilakukan guna memastikan penggantian air berlangsung secara merata hingga air benar-benar hilang dari dalam jaringan. Di samping itu, perpindahan konsentrasi yang halus ini juga bertujuan untuk meminimalkan kerusakan jaringan sekaligus memastikan tahap *clearing* berlangsung secara optimal (Lerch *et al.*, 2019). Pada umumnya, dehidrasi dimulai dengan alkohol berkonsentrasi lebih rendah, seperti 70% dan diakhiri dengan

alkohol absolut 100% (Monica K, 2022). Tidak terdapat aturan baku seberapa lama jaringan direndam dalam alkohol. Hal ini dikarenakan waktu perendaman alkohol perlu disesuaikan dengan jenis jaringan, ketebalan jaringan, serta jenis larutan fiksasi yang digunakan (Aziz dan Zeman-Pocrnich, 2022).

2.3.3. *Clearing*

Menurut Bright *et al.* (2024), penjernihan (*clearing*) merupakan proses penggantian alkohol yang digunakan pada tahap dehidrasi dengan pelarut perantara (*clearing agent*) yang dapat bercampur baik dengan alkohol maupun parafin. Tahap ini berfungsi mempersiapkan jaringan agar dapat diinfiltrasi oleh parafin pada proses *embedding*. Hal ini penting dilakukan karena keberadaan alkohol sisa dari tahap dehidrasi dapat menghambat proses infiltrasi sehingga harus dibersihkan dengan agen *clearing* (Scioli *et al.*, 2023). *Xylene* atau *xylol* merupakan agen *clearing* yang sering digunakan pada metode *embedding* parafin karena memiliki sifat dapat bercampur dengan alkohol dan parafin sehingga mampu menarik alkohol keluar dari jaringan sekaligus membuka jalan untuk parafin bisa berpenetrasi ke dalam jaringan (Jancy *et al.*, 2024). Selain berfungsi sebagai perantara, agen *clearing* juga dapat meningkatkan transparansi jaringan karena memiliki indeks bias yang mendekati komponen penyusun jaringan. Kesamaan indeks bias tersebut dapat mengurangi hamburan cahaya di dalam jaringan sehingga cahaya dapat melewati jaringan dengan lebih mudah dan jaringan tampak lebih transparan, yang pada akhirnya memungkinkan pengamatan struktur mikroskopis jaringan secara lebih jelas (Richardson dan Lichtman, 2015).

Tahap *clearing* umumnya dilakukan dengan beberapa kali pergantian larutan agen *clearing* untuk memastikan alkohol dari tahap dehidrasi benar-benar telah tergantikan sebelum proses infiltrasi parafin dilakukan (Bright *et al.*, 2024). Larutan *clearing* pertama biasanya akan terkontaminasi oleh alkohol sehingga diperlukan pergantian larutan beberapa kali untuk memperoleh hasil penjernihan yang optimal (Shah *et al.*, 2017). Durasi proses *clearing* dipengaruhi oleh ukuran jaringan dan jenis agen *clearing* yang digunakan. Pada jaringan berukuran kecil, proses *clearing* menggunakan *xylene* selama 30–60 per tahap cukup efektif dalam menggantikan alkohol serta mempertahankan morfologi jaringan dengan baik (Onyegbula *et al.*, 2019).

2.3.4. Infiltrasi

Infiltrasi atau impregnasi merupakan tahap penyusupan media *embedding* menembus dan mengisi bagian internal jaringan untuk memberikan dukungan struktural dari dalam (van der Lem *et al.*, 2021). Dukungan struktural ini berperan penting dalam memastikan jaringan dapat dipotong menjadi irisan yang sangat tipis (Buesa, 2007). Pemilihan media *embedding* perlu disesuaikan dengan karakteristik sampel karena perbedaan sifat fisik media *embedding* dapat memengaruhi kualitas dan kemudahan proses penyayatan jaringan sehingga menentukan kualitas irisan histologis yang dihasilkan (Lim dan Lee, 2009). Beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan media *embedding*, antara lain sifat fisik jaringan, ketebalan irisan (*section thickness*) yang diinginkan, serta tujuan analisis mikroskopi yang dilakukan.

Parafin merupakan media embedding yang paling umum digunakan dalam preparasi histologi dan sering dianggap sebagai standar dalam histologi rutin karena dapat digunakan pada berbagai jenis jaringan serta mendukung pembuatan irisan tipis untuk pengamatan mikroskopis (van der Lem *et al.*, 2021). Meskipun awalnya banyak digunakan dalam histologi hewan, parafin juga telah diterapkan secara luas pada preparasi jaringan tumbuhan karena mampu memberikan kekakuan dan dukungan mekanik yang memadai pada jaringan sehingga memungkinkan pembuatan irisan tipis dengan ketebalan yang seragam menggunakan mikrotom (Miya *et al.*, 2025). Namun, untuk jaringan dengan struktur yang lebih keras, seperti tulang, resin menjadi pilihan yang lebih baik karena mampu memberikan dukungan mekanik yang lebih kuat dibandingkan parafin (Lindner *et al.*, 2020). Infiltrasi dengan parafin memungkinkan pembuatan irisan dengan ketebalan sekitar 5–10 μm yang cocok untuk pengamatan morfologi jaringan dengan mikroskop cahaya (Xiang *et al.*, 2018). Sementara itu, infiltrasi dengan resin memungkinkan pembuatan irisan yang jauh lebih tipis sehingga dapat meningkatkan resolusi pengamatan hingga ke tingkat seluler, sehingga struktur intraseluler, seperti inti sel, sitoplasma, dan komponen sel lainnya dapat diamati jauh lebih detail dibandingkan preparat yang diinfiltrasi menggunakan parafin (İnan *et al.*, 2025).

Parafin adalah lilin padat yang harus dicairkan terlebih dahulu agar bisa berpenetrasi ke dalam jaringan. Pemanasan selama proses infiltrasi menurunkan viskositas parafin cair sehingga mempermudah penetrasi media embedding ke dalam jaringan (Zhanmu *et al.*, 2020). Infiltrasi menggunakan parafin umumnya dilakukan dalam beberapa tahap dengan durasi sekitar 60 menit per tahap untuk

memastikan proses infiltrasi terjadi secara merata di dalam jaringan (Fuchs *et al.*, 2019). Sebaliknya, resin merupakan cairan kimia yang berbentuk cair di suhu ruang sehingga proses penetrasinya tidak memerlukan suhu tinggi. Karena hanya mengandalkan proses difusi yang berlangsung secara alami, proses infiltrasi dengan resin menjadi sedikit lebih lama. Proses infiltrasi menggunakan resin ini bisa langsung dilakukan setelah tahap dehidrasi dengan merendam jaringan dalam resin selama 1–2 jam, kemudian memindahkannya ke resin baru untuk diinkubasi (*curing*) semalaman pada suhu ruang (Sullivan-Brown *et al.*, 2011). Preparasi dengan resin sering kali tidak membutuhkan tahap *clearing*, karena beberapa jenis resin dapat bercampur dengan alkohol sehingga jaringan bisa langsung dipindahkan ke wadah berisi resin setelah tahap dehidrasi.

2.3.5.Embedding

Setelah proses infiltrasi selesai, jaringan ditempatkan dalam cetakan (*embedding mold*) dan dikelilingi oleh parafin cair. Selanjutnya parafin didinginkan hingga mengeras sehingga membentuk blok padat yang dapat digunakan untuk proses penyayatan mikrotom (Gracia *et al.*, 2020). Blok padat ini berperan penting dalam memberikan dukungan mekanik eksternal sehingga blok dapat dipasang pada *specimen holder* untuk dipotong dengan mikrotom secara stabil (Kmecick *et al.*, 2023). Stabilitas blok embedding selama proses sectioning sangat penting karena mikrotomi merupakan teknik pemotongan presisi untuk menghasilkan irisan jaringan yang tipis dan berkualitas. Ketidakstabilan blok selama pemotongan dapat meningkatkan risiko terbentuknya artefak dan menurunkan keseragaman irisan

yang dihasilkan (Wang *et al.*, 2022).

Berbeda dengan blok resin yang memiliki struktur sangat padat setelah *curing*, blok parafin perlu didinginkan terlebih dahulu sebelum pemotongan untuk meningkatkan kekerasan dan menjaga kestabilan blok. Proses pendinginan ini perlu dilakukan secara berulang apabila blok telah berada di suhu ruang selama waktu tertentu. Hal ini sesuai dengan pendapat Wang *et al.* (2022) yang mengatakan bahwa blok parafin harus didinginkan lagi selama 5 menit setelah lima pemotongan pita parafin setiap lima pemotongan berturut-turut. Hal ini disebabkan karena parafin bersifat termoplastik yang dapat berubah lebih lunak jika berada di suhu ruang dalam waktu yang lama. Sebaliknya, setelah proses polimerasi (*curing*), blok resin yang telah mengeras dapat langsung dipotong dengan menggunakan mikrotom tanpa harus didinginkan. Media *embedding* berbasis resin memiliki densitas, kekerasan, dan stabilitas mekanik tinggi sehingga blok dapat langsung dipasang pada mikrotom untuk dipotong menjadi irisan yang sangat tipis (Fuchs *et al.*, 2019).

2.3.6. Pemotongan

Pemilihan jenis pisau mikrotom perlu disesuaikan dengan karakteristik sampel dan media *embedding* yang digunakan karena setiap jenis pisau dirancang untuk aplikasi pemotongan yang berbeda, mulai dari preparat parafin hingga preparat resin untuk menghasilkan kualitas irisan yang optimal (Mohammed *et al.*, 2012). Menurut Abd El-Aziz *et al.* (2025), terdapat empat jenis mikrotom yang umum digunakan dalam preparasi mikroskopi, yaitu *rotary microtome*, *cryostat*

microtome, *sliding microtome*, dan *ultramicrotome*. Mikrotom putar digunakan untuk memotong jaringan yang ditanam dalam parafin maupun resin untuk pengamatan mikroskop cahaya. Mikrotom kriostat digunakan untuk memotong jaringan beku, sedangkan mikrotom geser umumnya digunakan untuk menghasilkan irisan yang lebih tebal pada sampel yang ditanam dalam media tertentu seperti celloidin. Sementara itu, ultramikrotom digunakan untuk menghasilkan irisan resin yang sangat tipis guna pengamatan ultrastruktur sel menggunakan mikroskop elektron transmisi (TEM).

Jenis pisau mikrotom merupakan salah satu faktor yang menentukan kualitas hasil pemotongan. Berdasarkan material penyusunnya, pisau mikrotom dibedakan menjadi pisau baja, kaca, dan berlian (Mohammed *et al.*, 2012). Pisau baja sendiri tersedia dalam bentuk pisau permanen (*reusable*) maupun pisau sekali pakai (*disposable*). Pisau baja konvensional memiliki bentuk panjang dan tebal dengan struktur yang kuat sehingga dapat digunakan berulang kali setelah melalui proses pengasahan (*sharpening*), penghalusan (*honing*), serta pemolesan (*stropping*) untuk mempertahankan ketajamannya, sehingga tetap mampu menghasilkan irisan preparat dengan kualitas baik (Barbosa *et al.*, 2018). Sementara itu, *disposable steel blade* memiliki bentuk yang lebih tipis dan dirancang untuk digunakan dalam waktu terbatas tanpa proses pengasahan ulang. Pisau ini mampu menghasilkan irisan yang lebih presisi dan konsisten dibandingkan pisau baja konvensional, tetapi kurang optimal ketika digunakan untuk memotong jaringan yang keras, seperti tulang (Wang *et al.*, 2020).

Selain pisau baja, terdapat pisau kaca (glass knife) dan pisau berlian (diamond knife) yang umumnya digunakan pada ultramikrotom. Pisau kaca digunakan untuk menghasilkan irisan semi-tipis ($0,5\text{--}2\ \mu\text{m}$), tetapi memiliki daya tahan yang rendah karena mudah tumpul dan rapuh (Mohammed *et al.*, 2012). Sebaliknya, pisau berlian digunakan untuk menghasilkan irisan ultratipis dengan kualitas tinggi, ketebalan yang seragam, dan artefak yang minimal karena memiliki ketajaman serta ketahanan aus yang sangat baik (Blumer *et al.*, 2002).

2.3.7. Pewarnaan

Proses pewarnaan bertujuan untuk meningkatkan kontras sehingga struktur jaringan yang semula transparan dapat dilihat lebih jelas di bawah mikroskop (Noor *et al.*, 2020). Setiap zat pewarna memiliki selektivitas dan afinitas yang berbeda terhadap komponen seluler tertentu sehingga tidak semua struktur jaringan dapat diwarnai secara optimal menggunakan satu jenis pewarna (Prentø, 2009). Oleh karena itu, pemilihan pewarna perlu disesuaikan dengan tujuan pengamatan dan jenis struktur yang ingin divisualisasikan.

Salah satu pewarna yang banyak digunakan dalam pengamatan jaringan tumbuhan adalah *toluidine blue* O, yaitu pewarna basa yang memiliki sifat metakromatik. Menurut Sridharan dan Shankar (2012), sifat metakromatik terjadi akibat kemampuan molekul *toluidine blue* O untuk mengalami agregasi (pengelompokan) ketika berinteraksi dengan senyawa yang memiliki kepadatan gugus anionik (bermuatan negatif) tinggi, sehingga menyebabkan perubahan spektrum penyerapan cahaya dan menghasilkan variasi warna. Dalam pengamatan

jaringan tumbuhan, *toluidine blue* O banyak digunakan untuk mengidentifikasi komponen dinding sel karena struktur ini mengandung senyawa polianion dalam jumlah tinggi (Vidal dan Mello, 2019). Salah satu komponen utama dinding sel adalah pektin, yaitu polisakarida anionik yang mengandung gugus karboksil (-COOH). Gugus ini dapat terdisosiasi menjadi bentuk bermuatan negatif (-COO⁻) sehingga berperan dalam menentukan interaksi dinding sel dengan zat pewarna (Archut *et al.*, 2022). Meskipun *toluidine blue* O memiliki sifat metakromatik yang dapat menghasilkan variasi warna seperti ungu atau kemerahan pada jaringan dengan kepadatan gugus anionik tinggi, dalam kondisi tertentu pewarna ini juga dapat menunjukkan warna biru (ortokromatik) apabila interaksi antara pewarna dan komponen jaringan tidak cukup kuat untuk memicu terjadinya agregasi molekul pewarna (O'Brien *et al.*, 1964).

Sebelum proses pewarnaan, preparat parafin perlu melalui tahap deparafinasi dan rehidrasi untuk menghilangkan parafin serta mengembalikan jaringan ke kondisi yang kompatibel dengan larutan pewarna berbasis air sehingga pewarna dapat berinteraksi secara optimal dengan jaringan (Marinho dan Hanscheid, 2023). *Xylol* digunakan dalam proses deparafinasi karena memiliki kemampuan melarutkan parafin secara efektif karena keduanya sama-sama bersifat non-polar (Buesa dan Peshkov, 2009). Proses rehidrasi dilakukan dengan merendam preparat dalam alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke rendah dan diakhiri dengan akuades untuk mencegah perubahan mendadak yang dapat merusak struktur jaringan serta memastikan kondisi optimal bagi pewarna yang membutuhkan medium berair (Golberg *et al.*, 2024).

2.4. Natrium Hidroksida

Jaringan kentang memiliki dinding sel primer yang kaya polisakarida dan tersusun terutama oleh selulosa, hemiselulosa, serta pektin yang membentuk struktur kompleks berupa kerangka mikrofibril selulosa yang tertanam dalam matriks pektin. Susunan ini menghasilkan jaringan yang relatif padat dan berpori kecil sehingga dapat membatasi penetrasi molekul dari lingkungan eksternal ke bagian dalam jaringan (Chen *et al.*, 2026). Natrium hidroksida (NaOH) merupakan basa kuat yang dapat digunakan untuk memodifikasi struktur dinding sel tumbuhan. Sebagai agen *pretreatment*, NaOH mampu melarutkan sebagian komponen pektin serta memodifikasi struktur dinding sel, sehingga dinding sel yang semula rapat menjadi lebih longgar dan membentuk mikropori yang meningkatkan permeabilitas jaringan (Odoch *et al.*, 2017). Perubahan struktur tersebut dapat meningkatkan permeabilitas jaringan serta mempermudah penetrasi media embedding ke dalam jaringan parenkim umbi kentang dibandingkan jaringan tanpa perlakuan *pretreatment* (Yang *et al.*, 2022).

Efek NaOH terhadap dinding sel dipengaruhi oleh konsentrasi dan durasi perlakuan. Konsentrasi NaOH memengaruhi tingkat modifikasi struktur dinding sel yang terjadi, sedangkan lama perlakuan menentukan sejauh mana proses dekontruksi dan degradasi komponen penyusun dinding sel berlangsung (Ji *et al.*, 2014). Hasil penelitian Chen *et al.* (2021) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi NaOH menyebabkan perubahan struktur dinding sel yang semakin nyata. Namun, konsentrasi di atas 5% mengakibatkan kolaps parah pada sel parenkim akibat hilangnya sebagian komponen matriks dinding sel. Berdasarkan

temuan tersebut, konsentrasi NaOH 5% dipilih karena dinilai mampu memodifikasi dinding sel tanpa menyebabkan kerusakan struktural yang berlebihan. Oleh karena itu, perbedaan durasi perendaman NaOH perlu dikaji lebih lanjut untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kualitas mikroskopis jaringan kentang. Informasi tersebut dapat digunakan sebagai dasar dalam menentukan durasi perendaman yang mampu menghasilkan preparat dengan kualitas pengamatan yang lebih baik sehingga struktur jaringan kentang dapat diamati secara lebih jelas dan representatif.

2.5. Parameter Penelitian

2.5.1. Cell Area

Luas sel (*cell area*) merupakan salah satu parameter morfometri yang digunakan dalam analisis mikroskopis jaringan tumbuhan untuk menggambarkan karakteristik morfologi sel secara kuantitatif. Parameter ini mencerminkan ukuran sel yang terbentuk oleh batas dinding sel sehingga dapat digunakan untuk mengevaluasi perubahan morfologi dan integritas struktur sel akibat perlakuan maupun proses preparasi jaringan (Legldan *et al.*, 2020). Pengukuran *cell area* dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak analisis citra, seperti ImageJ, dan setiap sel dihitung luasnya dalam satuan mikrometer persegi (μm^2) (Jiao *et al.*, 2022). Akurasi pengukuran luas sel sangat dipengaruhi oleh kejelasan batas dinding sel dan kualitas preparat sehingga metode preparasi yang optimal menjadi faktor penting dalam analisis ini (Zhang *et al.*, 2020). Atas pertimbangan tersebut, parameter luas sel tidak hanya berfungsi sebagai indikator ukuran sel, tetapi juga sebagai parameter evaluatif untuk menilai kualitas preparasi mikroskopi melalui

pengamatan terhadap integrasi struktur jaringan yang diamati.

2.5.2. Diameter Ekuivalen

Diameter sel digunakan untuk menggambarkan dimensi linear sel pada jaringan parenkim umbi kentang yang memiliki bentuk poligonal tidak beraturan (irregular) serta variasi ukuran yang tinggi (Gray *et al.*, 1999). Pengukuran diameter sel dilakukan menggunakan diameter ekuivalen, yaitu parameter yang merepresentasikan ukuran sel dalam bentuk yang lebih sederhana sebagai diameter lingkaran yang memiliki luas yang sama dengan sel yang diamati (Herremans *et al.*, 2015). Meskipun luas sel (*cell area*) saja telah mampu menggambarkan ukuran sel secara kuantitatif, tetapi parameter tersebut belum sepenuhnya merepresentasikan dimensi linier sel karena sel memiliki bentuk yang kompleks. Berdasarkan hal tersebut, pengukuran diameter sel diperlukan untuk menyederhanakan kompleksitas tersebut sehingga memudahkan perbandingan ukuran sel antar perlakuan serta meningkatkan interpretasi morfologi (Ochatt dan Moessner, 2010). Hal ini dikarenakan, morfologi sel tidak dapat direpresentasikan hanya dengan satu parameter, melainkan memerlukan kombinasi beberapa parameter kuantitatif, seperti luas sel (*cell area*), diameter atau panjang sel, rasio aspek (*aspect ratio*), dan kompleksitas bentuk (Ivakov dan Persson, 2013).

2.5.3. Persentase Sel Terukur

Persentase sel terukur merupakan parameter yang menggambarkan proporsi sel yang dapat disegmentasi dan diukur secara kuantitatif pada citra mikroskopis berdasarkan kejelasan batas selnya (Wolny *et al.*, 2020). Penentuan batas sel (*cell boundaries*) merupakan tahap krusial dalam analisis mikroskopi yang menjadi dasar pengukuran parameter morfologi sel (Gogoberidze dan Cimini, 2024). Kejelasan batas sel dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti ketebalan irisan, kualitas preparasi, kontras pewarnaan, serta perlakuan kimia terhadap jaringan. Semakin tebal irisan, kejelasan batas sel akan semakin menurun karena terdapat potensi beberapa lapisan sel ikut teramati secara bersamaan sehingga batas sel menjadi kurang tegas dan sulit dibedakan (Verhertbruggen *et al.*, 2017). Proses preparasi sampel juga berperan penting dalam mempertahankan integritas struktur jaringan karena preparasi yang tidak optimal dapat menyebabkan penyusutan, deformasi, serta munculnya artefak yang dapat mengaburkan detail batas dinding sel (Zhang *et al.*, 2017). Di sisi lain, pewarnaan yang tepat dapat meningkatkan kontras antara dinding sel dan komponen intraseluler, sehingga batas sel dapat diamati dengan lebih jelas (Ploem, 2019).

Selain faktor-faktor tersebut, perlakuan kimia menggunakan NaOH juga dapat memengaruhi persentase sel terukur melalui perubahan struktur kimia dan fisik dinding sel. Perlakuan alkali, seperti NaOH diketahui dapat melonggarkan matriks dinding sel sehingga struktur menjadi lebih terbuka dibandingkan kondisi awalnya yang lebih kompak (Zhang *et al.*, 2025). Kondisi ini berpotensi meningkatkan penetrasi zat pewarna dan kontras visual jaringan. Namun, perlakuan

alkali yang tidak optimal dapat menyebabkan degradasi berlebihan pada komponen dinding sel, yang pada akhirnya memicu deformasi serta perubahan struktur asli jaringan (Palmer *et al.*, 2015).

2.5.4. Persentase Sel Tidak Terukur Akibat Artefak

Persentase sel tidak terukur akibat artefak merupakan parameter yang merepresentasikan proporsi sel yang tidak dapat dianalisis secara morfometri karena mengalami distorsi morfologi akibat artefak preparasi, sehingga struktur yang diamati tidak lagi merepresentasikan kondisi biologis asli jaringan (Taqi *et al.*, 2018). Jaringan tumbuhan dengan kandungan air tinggi dan matriks dinding sel yang kaya polisakarida, seperti jaringan umbi kentang, memiliki potensi lebih besar mengalami artefak akibat perubahan fisik dan kimia selama proses preparasi (Talbot dan White, 2013).

Tahap dehidrasi dapat menimbulkan distorsi jaringan karena perubahan kadar air dalam jaringan dapat memicu tegangan mekanik pada dinding sel (Huang *et al.*, 2018). Air berperan penting dalam menjaga hidrasi matriks dinding sel dan tekanan turgor, sehingga kehilangan air selama dehidrasi menyebabkan matriks menyusut dan menimbulkan tegangan pada mikrofibril selulosa yang berujung pada penyusutan jaringan. Menurut pendapat Kongtueng *et al.* (2024), dehidrasi yang tidak dikontrol dengan baik dapat menjadi salah satu sumber utama artefak.

Selain itu, infiltrasi yang tidak optimal juga dapat menimbulkan artefak karena parafin tidak terdistribusi secara merata dalam jaringan, sehingga ketika blok parafin dipotong terjadi robekan atau munculnya rongga pada preparat (Taqi

et al., 2018). Di samping itu, pembentukan artefak juga dapat dipengaruhi oleh kondisi dinding sel yang mengalami modifikasi kimia, seperti perlakuan alkali. Perlakuan menggunakan NaOH diketahui dapat melarutkan pektin serta menurunkan kristalinitas selulosa, yang menyebabkan terbentuknya mikropori pada dinding sel dan menurunkan kekuatan strukturalnya (Odoch *et al.*, 2017). Maka dari itu, perlakuan NaOH perlu dioptimalkan untuk meminimalkan terbentuknya artefak yang dapat mengganggu proses identifikasi batas sel dan menyebabkan sel tidak memenuhi kriteria untuk dilakukan pengukuran morfometri.

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Materi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2024 sampai dengan Juni 2025 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah kentang varietas Granola yang diperoleh dari Perkebunan Agro Lestari Merbabu, Kabupaten Magelang. Bahan kimia yang digunakan dalam proses preparasi mikroskopi meliputi paraformaldehid, glutaraldehid, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaOH , etanol, *xylol*, parafin, akuades, serta pewarna *toluidine blue* O.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop cahaya *Olympus CX-23*, *circular polarizer*, kamera mikroskop, mikrotom Leica RM2235, *hot plate*, *water bath*, botol vial, gelas ukur, pipet, pinset, kaca objek, kaca penutup, *syringe*, gelas beker, timbangan analitik, kaca pengaduk, labu ukur, cawan porselin, *cassette*, *base mold*, *cabinet dryer*, *thinwall*, cup plastik, pisau, talenan, penggaris, dan laptop. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop cahaya *Olympus CX-23*, *circular polarizer*, kamera mikroskop, mikrotom Leica RM2235, *hot plate*, *water bath*, botol vial, gelas ukur, pipet, pinset, kaca objek, kaca penutup, *syringe*, gelas beker, timbangan analitik, kaca pengaduk, labu ukur, cawan porselin, *cassette*, *base mold*, *cabinet dryer*, *thinwall*, cup plastik, pisau, talenan, penggaris, *mini photo box*, dan laptop. Perangkat lunak ImageJ digunakan untuk analisis citra

mikroskopis, sementara *Microsoft Excel* 2021 dan *SPSS* versi 26.0 *for Windows* digunakan untuk pengolahan data.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian meliputi rancangan percobaan, prosedur penelitian, pengujian parameter, dan analisis data. Runtutan metode tersebut dijabarkan secara ringkas di bawah ini.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang akan dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan 2 perlakuan dan 4 ulangan sehingga terdapat 8 unit percobaan. Faktor perlakuan yang diterapkan yaitu durasi perendaman NaOH 5% dengan P_1 = perendaman dengan NaOH selama 25 menit dan P_2 = perendaman dengan NaOH selama 30 menit. Rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Desain Rancangan Percobaan

Ulangan (U)	Perlakuan (P)	
	P_1	P_2
1	P_1U_1	P_2U_1
2	P_1U_2	P_2U_2
3	P_1U_3	P_2U_3
4	P_1U_4	P_2U_4

Keterangan:

P_1 = Perendaman NaOH 5% selama 25 menit

P_2 = Perendaman NaOH 5% selama 30 menit

Model matematis dari rancangan percobaan yang diterapkan dalam penelitian yaitu sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = nilai pengamatan perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = rata-rata umum hasil pengamatan perlakuan

α = pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = pengaruh galat yang timbul dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Secara statistik, hipotesis dalam penelitian dijabarkan sebagai berikut:

$H_0 : \mu_1 = \mu_2$ (tidak terdapat perbedaan antar perlakuan)

$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$ (terdapat perbedaan antar perlakuan)

Kriteria analisis statistik yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

$p \geq \text{sig. } 0,05$ (dengan $\alpha=0,05$), maka H_0 diterima dan H_1 ditolak

$p < \text{sig. } 0,05$ (dengan $\alpha=0,05$), maka H_0 ditolak dan H_1 diterima

3.2.2.Preparasi Mikroskopi

Prosedur preparasi mikroskopi jaringan kentang mengacu pada metode penelitian yang dilakukan oleh An *et al.* (2024) dan Faluti *et al.* (2022) dengan beberapa penyesuaian. Kentang segar varietas Granola yang telah dicuci dan dibersihkan dipotong menjadi dua bagian, lalu dipotong kembali menjadi irisan yang lebih kecil dengan ukuran sekitar 1 x 1 cm dan ketebalan 2–3 mm untuk

digunakan sebagai sampel. Pengambilan jaringan dilakukan tanpa pemisahan spesifik berdasarkan zona anatomi umbi, sehingga sampel yang diamati dapat berasal dari zona yang berbeda atau transisi antar zona. Irisan kentang selanjutnya divakum terlebih dahulu untuk menghilangkan udara dari rongga jaringan kentang. Proses vakum dilakukan dengan memasukkan irisan kentang ke dalam botol vial yang berisi larutan buffer fosfat 0,05 M (pH 6,9), kemudian udara dikeluarkan dengan menggunakan *syringe* hingga gelembung udara pada jaringan hilang.

Irisan kentang yang telah disiapkan sebelumnya difiksasi menggunakan larutan fiksatif yang terdiri dari 1,6% paraformaldehid dan 2,5% glutaraldehid dalam buffer fosfat 0,05 M (pH 6,9) selama 1 jam pada suhu ruang, kemudian dilanjutkan dengan fiksasi utama selama 20 jam pada suhu dingin. Setelah difiksasi, sampel dicuci menggunakan larutan buffer fosfat 0,05 M (pH 6,9) sebanyak 3 x 10 menit.

Sebagai modifikasi metode, dilakukan perendaman menggunakan larutan NaOH 5% untuk membantu melonggarkan matriks dinding sel jaringan kentang sehingga dapat meningkatkan penetrasi media *embedding* pada tahap berikutnya. Perlakuan NaOH dilakukan dengan dua variasi waktu perendaman yaitu 25 menit dan 30 menit. Penentuan kedua waktu tersebut didasarkan pada percobaan pendahuluan yang menunjukkan bahwa waktu perlakuan yang lebih singkat (20 menit) menyebabkan infiltrasi *embedding* belum menyeluruh, sehingga menghasilkan irisan jaringan yang kurang baik saat pemotongan menggunakan mikrotom. Setelah perendaman NaOH, sampel direndam dengan akuades selama 10 menit untuk menghilangkan sisa larutan NaOH yang masih menempel pada

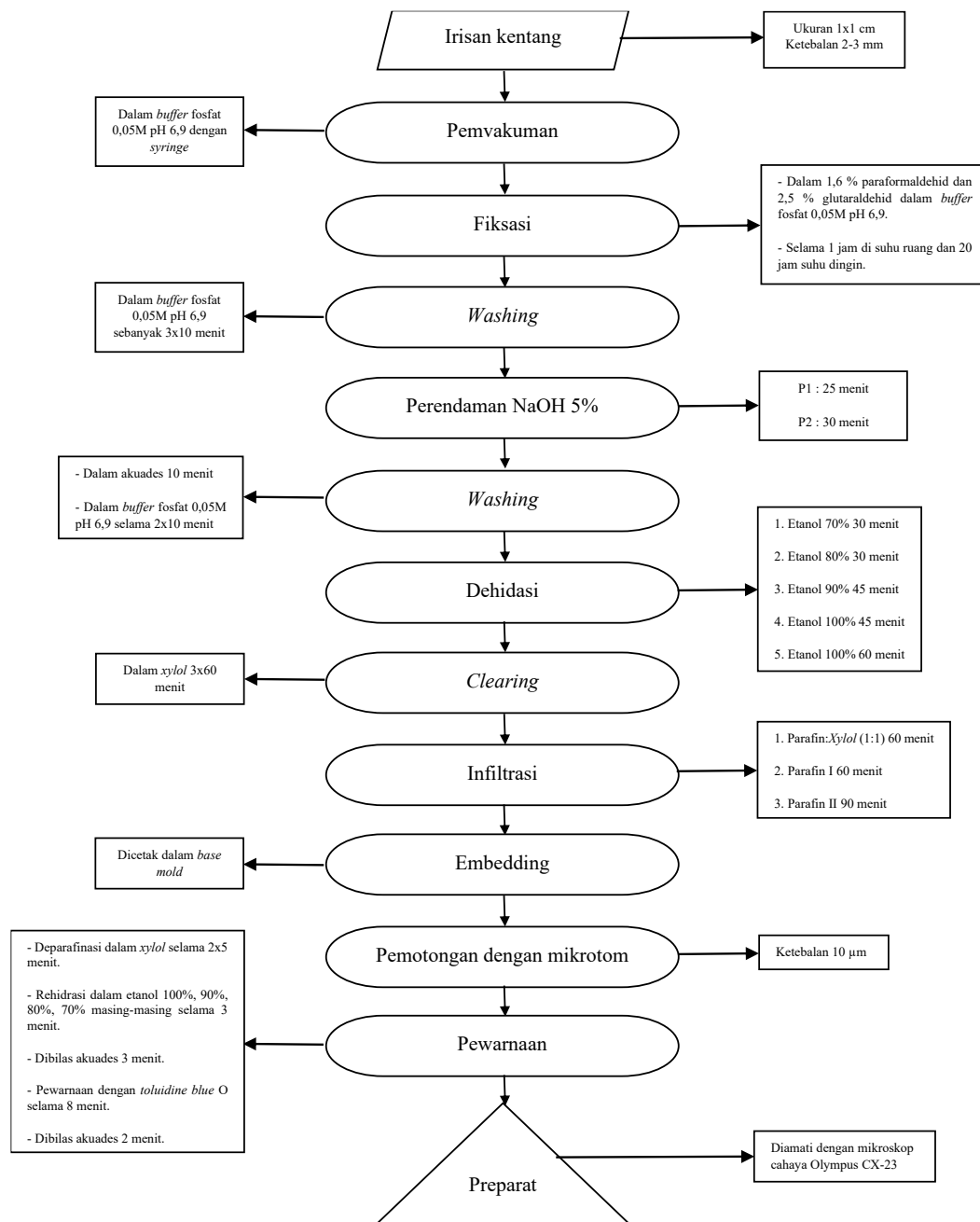
sampel, lalu direndam kembali dalam buffer fosfat 0,05 M (pH 6,9) selama 2 x 10 menit untuk menetralkan pH jaringan.

Tahap berikutnya yaitu dehidrasi menggunakan etanol bertingkat yaitu etanol 70% selama 30 menit, etanol 80% selama 30 menit, etanol 90% selama 45 menit, serta etanol 100% selama 45 menit dan 60 menit. Selanjutnya dilakukan proses *clearing* menggunakan *xylol* sebanyak 3 x 60 menit. Proses infiltrasi dilakukan secara bertahap dalam larutan parafin:*xylol* (1:1) selama 60 menit, parafin I selama 60 menit, dan parafin II selama 90 menit pada suhu 60–65 °C. Tahap yang terakhir yaitu *embedding* atau penanaman sampel kentang dalam blok parafin yang dicetak menggunakan *base mold*.

Blok parafin yang sudah terbentuk disimpan di dalam *freezer* terlebih dahulu sebelum dilakukan pemotongan. Blok berisi sampel kemudian dipotong tipis menggunakan mikrotom putar (*rotary microtome*) Leica RM2235 dengan ketebalan 10 µm. Pita parafin yang dihasilkan dari proses pemotongan direndam dalam *water bath*, kemudian ditempelkan pada kaca objek, lalu dipanaskan di atas *hot plate* pada suhu 40°C. Preparat yang telah ditempelkan pada kaca objek selanjutnya direndam dalam larutan *xylol* I dan *xylol* II masing-masing selama 5 menit. Setelah itu, preparat direndam dalam etanol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%) masing-masing selama 3 menit, kemudian dibilas dengan akuades selama 3 menit. Preparat selanjutnya diwarnai menggunakan larutan *toluidine blue* O 0,05% selama 8 menit, kemudian dibilas kembali dengan akuades selama 2 menit.

Setelah diwarnai, preparat diamati menggunakan mikroskop Olympus CX-23 pada perbesaran lensa objektif 10x. Mikroskop dilengkapi dengan *circular*

polarizer untuk meningkatkan kontras struktur jaringan sehingga batas dinding sel dapat terlihat lebih jelas. Pengamatan preparat dilakukan melalui perangkat lunak MicroCam pada laptop yang tersambung dengan kamera mikroskop. Hasil pengamatan yang diperoleh kemudian disimpan dalam format digital untuk digunakan pada tahap analisis citra. Rangkaian tahap preparasi mikroskopis dapat dilihat pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Diagram Alir Proses Preparasi Mikroskopi

3.2.3 Analisis Citra Mikroskopi

Analisis citra hasil pengamatan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak ImageJ untuk mengukur luas sel (*cell area*) jaringan kentang.

Sebelum dilakukan pengukuran, citra dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan fitur *set scale* pada perangkat lunak untuk mengonversi ukuran piksel pada gambar menjadi ukuran sebenarnya yaitu mikrometer (μm). Kalibrasi dilakukan secara matematis menggunakan nilai diameter bidang pandang nyata (*Field of View / FOV*) mikroskop Olympus CX-23. Nilai FOV ini diperoleh dengan membagi nilai *field number* (FN 20) dengan perbesaran lensa objektif yang digunakan (10x), menghasilkan diameter bidang pandang sebesar 2 mm atau 2000 μm . Jarak linear pengukuran diameter bidang pandang ini kemudian digunakan sebagai nilai acuan (*known distance*) di aplikasi ImageJ untuk menetapkan rasio piksel per mikrometer yang akurat pada citra yang dianalisis.

Pengukuran *cell area* dilakukan secara manual satu per satu dengan menggunakan fitur *freehand selection*. Pengukuran hanya dilakukan pada sel dengan batas dinding sel yang terdefinisi (terukur) dalam bidang pandang, sedangkan sel yang memiliki batas sel yang tidak teridentifikasi tidak dimasukkan dalam analisis *cell area*. Data hasil pengukuran selanjutnya direkapitulasi untuk dilakukan perhitungan diameter ekivalen serta untuk menganalisis perbedaan karakteristik jaringan pada kedua perlakuan. Perhitungan diameter ekivalen dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel 2021*. Sementara itu, pengukuran persentase sel terukur dan sel tidak terukur akibat artefak dilakukan dengan menggunakan rumus persamaan berikut:

$$\text{Persentase sel terukur (\%)} = \frac{\text{Sel dengan dinding sel terdefinisi}}{\text{total sel dalam bidang pandang}} \times 100\%$$

$$\text{Persentase sel tidak terukur (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel tidak terukur}}{\text{total sel dalam bidang pandang}} \times 100\%$$

3.3. Analisis Data

Data kuantitatif yang telah diperoleh dari hasil pengujian meliputi luas sel (*cell area*), diameter ekivalen sel, persentase sel terukur, dan persentase sel tidak terukur akibat artefak. Data tersebut terlebih dahulu diolah menggunakan *Microsoft Excel* 2021 untuk menghitung nilai rata-rata per bidang pandang serta mengukur diameter ekivalen sel. Selanjutnya, data dianalisis lebih lanjut menggunakan program *SPSS 26.0 for Windows*. Analisis data dilakukan melalui statistik deskriptif dan uji normalitas Shapiro-Wilk. Apabila data berdistribusi normal ($p > 0,05$), dilakukan uji lanjutan menggunakan *Independent Samples T-Test* dengan taraf signifikansi 5% untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan. Uji ini dipilih karena penelitian membandingkan dua kelompok perlakuan yang independen dengan jenis data berskala numerik.

Selain dianalisis secara kuantitatif, citra mikroskopis juga dianalisis secara deskriptif kualitatif. Analisis deskriptif kualitatif ini dilakukan untuk memberikan informasi tambahan mengenai karakteristik visual jaringan kentang yang tidak dapat dijelaskan secara kuantitatif, seperti sifat optik pewarnaan, jenis kemunculan artefak secara spesifik, dan integritas struktural jaringan parenkim umbi kentang.