

Struktur Anatomi dan Uji Histokimia Terpenoid dan Fenol Dua Varietas Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Gusti Puspa Dewi^{1*}, Evi Mintowati Kuntorini¹, Eny Dwi Pujawati²

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70714.

²Fakultas Kehutanan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70714

*E-mail: puspawati05@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the anatomical structure and histochemical test of terpenoid and phenol compounds in two varieties of green betel plants (*Piper betle*). Making leaves anatomical structure preparations using the fresh method, testing terpenoid compounds with 5% copper acetate, testing phenol with ferric trichloride 10% and some grains of sodium carbonate. The observations of the anatomical structure of green betel leaf varieties 1 and varieties 2 have similarities consisting of the upper epidermis, upper hypodermis, palisade parenchyma, parenchymal sponges, vascular bundles (xylem and phloem), sclerenchyma, chlorenchyma, lower epidermis, lower hypodermis, secretory cells, trichoma, stoma and calcium oxalate crystals, and in varieties 2 look more trichomes. The anatomical structure of the variety 1 betel stem and varieties 2 are arranged from the outside in the direction of the epidermal tissue, colenchymal tissue, cortical bundles, sclerenchyma, cortex, medullary and peripheral vascular files, pith, the central part of the stem is a secretory gland. Phenol in betel vine varieties 1 and varieties 2 is positive in the secretion cell part which is spread in the parenchymal tissue of the mother's leaf bone and lamina, whereas in the stem is spread around the cortex and pith parenchyma. Positive secretion cells contain phenol not as much as secretory cells containing terpenoids. Based on quantitative observations the size of oil cell density and secretion cell diameter, the essential oils contained in the cell secretions in the leaves of variety 1 are more than varieties 2 while in the varieties 2, there are more varieties 1.

Keywords: Anatomy, histochemistry, green betel (*Piper betle*)

PENDAHULUAN

Sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu obat tradisional yang telah lama digunakan

masyarakat. Berdasarkan penelitian sebelumnya tumbuhan ini juga mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, polifenol, tanin serta minyak atsiri yang bermanfaat

sebagai obat. Minyak atsiri pada daun sirih ini juga telah terbukti mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Marliyana *et al.*, 2013). Daun sirih hijau termasuk dalam familia Piperaceae, merupakan tanaman fungsional karena dapat dimanfaatkan baik untuk perawatan tubuh maupun untuk mengobati berbagai penyakit. Sirih hijau sering digunakan untuk mengatasi bau badan dan mulut, sariawan, mimisan, gatal-gatal dan koreng, serta mengobati keputihan pada wanita (Syahrinastiti *et al.*, 2015).

Penggunaannya sebagai bahan obat karena tanaman sirih mengandung minyak atsiri, yang merupakan masa berbau khas, mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami peruraian. Dalam industri parfum dan kosmetik, minyak atsiri digunakan sebagai bahan pewangi, biasanya minyak tersebut diambil isolat maupun turunanya, sehingga aroma yang dihasilkan jauh lebih halus dibandingkan dengan langsung minyak mentahnya. Pada industri farmasi, minyak atsiri dimanfaatkan karena mempunyai khasiat seperti karminatif, anestesi lokal, analgesik, dan lain-lain, sedangkan dalam

industri makanan, minyak atsiri digunakan untuk memberikan aroma dan rasa yang khas (Setyowati, 2009).

Minyak atsiri merupakan salah satu bagian dari golongan senyawa terpenoid, yaitu monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap (C_{10} dan C_{15}). Selain itu terpenoid juga terbagi menjadi diterpen yang lebih sukar menguap (C_{20}) sampai ke senyawa yang tidak menguap yaitu triterpenoid dan sterol (C_{30}) serta pigmen karotenoid (C_{40}). Zat yang mudah menguap yakni monoterpen dan seskuiterpen adalah penyebab wangi, harum, atau bau yang khas pada banyak tumbuhan. Secara kimia, terpenoid umumnya terlarut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan (Harborne, 1996). Adanya informasi mengenai senyawa kimia khususnya minyak atsiri serta manfaat tumbuhan tersebut menarik perhatian peneliti untuk mengamati struktur anatomi dan uji histokimia senyawa terpenoid pada sirih hijau. Bagian tanaman yang diamati adalah daun dan batang. Pengamatan struktur anatomi dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan kualitatif dilakukan dengan cara mengamati

struktur anatomi daun sirih hijau sedangkan kuantitatif dilakukan dengan pengukuran diameter kelenjar minyak, kerapatan kelenjar minyak, kerapatan trikoma dan kerapatan stomata. Informasi mengenai struktur anatomi serta uji histokimia terpenoid dan fenol daun sirih hijau diharapkan dapat digunakan untuk pengembangan serta pemanfaatan tumbuhan ini secara lebih baik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Oktober 2016 sampai Juni 2017. Pengambilan sampel berlokasi di Jl. Mentaos, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Pengamatan struktur anatomi dan uji histokimia terpenoid pada daun sirih hijau (*P betle* L.) dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Fisiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Koleksi dan Identifikasi Sampel

Sampel tumbuhan dua varietas sirih hijau diambil seluruh bagiannya secara lengkap, kemudian dibuat herbarium. Tumbuhan tersebut diidentifikasi untuk mengetahui nama

ilmiahnya di Herbarium Bogoriense, LIPI, Bogor.

Pembuatan Preparat Anatomi dan Uji Histokimia

Pembuatan preparat anatomi segar

Sampel dipotong menggunakan pisau / cutter pada bagian tengah daun sepanjang 1 x 1 cm, kemudian wortel dipotong kecil seperti balok dan bagian tengah atas wortel diiris sedikit, kemudian jepit sampel daun yang sudah dipotong tadi pada bagian irisan wortel atau gabus. Letakkan wortel atau gabus beserta daun yang sudah dijepit kedalam *hand microtom*, kemudian dipotong tipis. Potongan daun yang tipis diletakkan di dalam cawan petri yang berisi aquades. Potongan daun kemudian direndam di dalam safranin sekitar 1 menit. Potongan daun tadi diletakkan di atas kaca benda yang sudah ditetesi aquades kemudian di tutup menggunakan kaca penutup. Sampel diamati di bawah mikroskop.

Pembuatan preparat stomata dan trikoma pada daun

Menurut Haryanti (2010) daun yang sudah diambil permukaan atas dan bawahnya dibersihkan dengan tissue untuk menghilangkan kotoran atau debu, kemudian olesi dengan

kutek biarkan selama 10 menit, olesan yang sudah kering ditemplei isolasi dan diratakan. Selanjutnya isolasi dikelupas atau diambil pelan-pelan, lalu ditempelkan pada gelas benda, kemudian diratakan dan diberi label pada gelas benda dengan diberi keterangan jenis tanaman. Selanjutnya dilakukan pengamatan jumlah stomata perbidang pandang menggunakan mikroskop dengan perbesaran yang sama (40x).

Pengujian histokimia terpenoid

Sampel dipotong dengan ukuran 1 x 1 dengan *cutter*, selanjutnya diiris tipis menggunakan *Hand Microtom* dan sayatan sampel direndam dalam tembaga asetat 5% selama 2 x 24 jam kemudian sayatan diletakkan di atas kaca benda. Keberadaan terpenoid pada sel atau jaringan ditandai dengan warna kuning kecokelatan (Martin *et al.*, 2002)

Pengujian histokimia fenol

Sampel dipotong dengan ukuran 1 x 1 dengan *cutter*, selanjutnya diiris tipis menggunakan *Hand Microtom* dan sayatan sampel direndam dalam larutan feri triklorida 10% yang kemudian ditambahkan beberapa butir natrium karbonat dan didiamkan selama 15 menit. Sayatan diamati

menggunakan mikroskop. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau gelap atau hitam (Johansen, 1940).

Pengamatan Struktur Anatomi

Pengamatan kualitatif

Pengamatan ini dilakukan dengan cara mengamati struktur anatomi dua varietas daun dan batang sirih hijau. Data tersebut ditampilkan secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar.

Pengamatan kuantitatif

Pengamatan ini dilakukan dengan cara pengukuran diameter minyak, kerapatan sel minyak dan kerapatan trikoma dan stomata.

Pengukuran diameter sel minyak daun dan batang sirih hijau

Pengukuran diameter sel minyak dan kalibrasinya menggunakan mikroskop Olympus dan aplikasi imageJ.

Perhitungan kerapatan sel minyak daun dan batang sirih hijau

Pengamatan struktur anatomi daun sirih hijau daun merah dilakukan dengan mengamati preparat melintang daun secara deskriptif. Pengamatan anatomi daun menggunakan mikroskop Olympus.

Perhitungan kerapatan kelenjar minyak dilakukan persatuan luas mm^2 .

Perbesaran mikroskop: 40 x 13

Satuan luas bidang pandang mikroskop:

$$p \times l = 0,27 \times 0,2 = 0,054 \text{ mm}^2$$

Perhitungan kerapatan kelenjar minyak dilakukan pada masing-masing preparat. Hasil pengamatan kemudian dijumlah dan dirata-rata. Kerapatan kelenjar minyak per luas bidang pandang mikroskop dalam mm^2 didapat melalui perhitungan dengan rumus, yaitu :

Kerapatan sel minyak =

$$\frac{\text{Rata-rata jumlah sel minyak}}{\text{Luas bidang pandang (mm}^2\text{)}}$$

Pengukuran kerapatan trikoma

Pengamatan preparat menggunakan Mikroskop Optiphot. Perhitungan kerapatan trikoma dilakukan dengan rumus di bawah ini.

Kerapatan trikoma =

$$\frac{\text{Rata-rata jumlah trikoma}}{\text{Luas bidang pandang (mm}^2\text{)}}$$

Pengukuran kerapatan stomata

Kerapatan stomata per luas bidang pandang mikroskop dalam mm^2

didapat melalui perhitungan dengan rumus di bawah ini (Sass, 1951).

Kerapatan stomata =

$$\frac{\text{Rata-rata jumlah stomata}}{\text{Luas bidang pandang (mm}^2\text{)}}$$

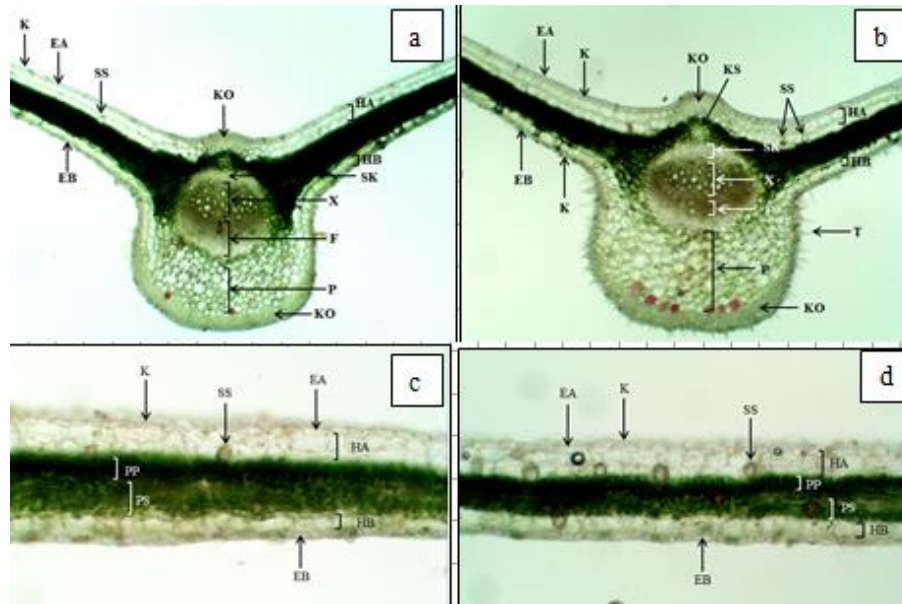
Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif meliputi struktur anatomi dua varietas sirih hijau. Data tersebut ditanpilkan secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar. Sedangkan data kuantitatif adalah menghitung diameter sel kelenjar, kerapatan sel kelenjar, kerapatan trikoma, dan kerapatan stomata pada dua varietas daun sirih hijau.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Struktur Anatomi Daun

Pengamatan terhadap penampang melintang daun sirih varietas 1 dan varietas 2 menunjukkan struktur anatomis yang hampir sama. Hal ini dapat dilihat pada (Gambar 1a-d).



Gambar 1. Struktur Penampang Melintang Ibu tulang daun & Struktur Penampang Melintang Lamina Sirih Hijau (*Piper betle*) a) Varietas 1 segar (perbesaran 4 x 13) b) Varietas 2 segar (perbesaran 4 x 13) c) Varietas 1 segar (perbesaran 4 x 13) d) Varietas 2 se(perbesaran 4 x 13) Keterangan: EA (Epidermis Atas), HA (Hipodermis Atas), HB (Hipodermis Bawah), P (Parenkim), K (Kutikula), X (Xilem), F (Floem), KO (Kolenkim), S (Sklerenkim), EB (Epidermis Bawah), dan SS (Sel Sekresi), K (Kutikula), PP (Parenkim Palisade) & PS (Parenkim Spons).

Struktur anatomis daun sirih varietas 1 dan 2 terdiri atas lapisan kutikula yang tipis di bagian luar lapisan epidermis atas maupun bawah. Jaringan epidermis atas dan bawah memiliki bentuk sel segi banyak dan lapisan tipis tersusun rapat. Bagian bawah lapisan epidermis terdapat dua lapisan hipodermis dengan bentuk sel hexagonal (segi banyak), rapat dan lapisan lebih tebal dengan ukuran sel lebih besar. Bagian dalam jaringan epidermis bawah tersusun oleh satu lapis jaringan hipodermis dengan

bentuk sel segi banyak, tebal dan besar selnya (Gambar 1).

Hasil penelitian Dhongle & Kogge (2013) tentang studi komparatif farmakognosi dua varietas sirih hijau di India menyatakan bahwa jaringan epidermis atas dan bawah dilapisi oleh kutikula, di bagian sebelah dalam jaringan epidermis tersusun 2-3 lapisan hipodermis yang merupakan karakteristik *Piper betle*. Pradhan *et al.* (2013) & Khan *et al.* (2013) menyatakan bahwa lapisan kutikula bagian epidermis atas lebih tebal dibandingkan lapisan epidermis bawah. Pada lapisan hipodermis atas

tersusun dari 4 lapisan sel dan hipodermis bawah tersusun atas dua lapisan sel. Lapisan terluar epidermis atas dan bawah memiliki bentuk sel yang lebih kecil dibandingkan lapisan hipodermis di sebelah dalamnya yang lebih besar ukuran selnya.

Jaringan mesofil tersusun atas satu lapisan jaringan parenkim palisade/tiang dan beberapa lapis jaringan parenkim spons/bunga karang. Jaringan vaskuler (xilem dan floem) terlihat jelas, jaringan parenkim, jaringan kolenkim, jaringan sklerenkim yang mengalami penebalan sel (Gambar 1). Khan *et al.* (2013) dan Pradhan *et al.* (2013) menyebutkan bahwa pada pengamatan 8 kultivar sirih, srtruktur jaringan parenkim palisade tersusun atas 1-2 lapisan sedangkan jaringan parenkim spons tersusun atas 3-4 lapisan.

Jaringan vaskuler (pengangkut) pada bagian ibu tulang daun terlihat tipe kolateral dengan xylem dibagian adaksial dan floem di bagian abaksial, sel penyusun xylem terlihat penebalan dinding selnya, pada penyusun floem tidak mengalami penebalan dinding sel (Gambar 1).

Sisi atas jaringan vaskuler terdapat beberapa lapis jaringan sklerenkim terlihat jelas penebalan selnya. Jaringan kolenkim terdapat di sebelah dalam lapisan epidermis atas dan sebelah dalam epidermis bawah bagian ibu tulang daun (Gambar 1).

Stomata dijumpai pada lapisan epidermis bawah daun sirih varietas 1 dan 2, memiliki tipe anomositik, pada lapisan atas tidak dijumpai stomata. Sel tetangga tersusun atas 4 sel yang mengelilingi sel penutup (Gambar 1). Hal ini seperti hasil penelitian Dhongle & Kogje (2013) bahwa stomata hanya terdapat pada lapisan epidermis bawah daun sirih. Tipe stomata adalah anomositik dengan 4-5 sel tetangga. Berikut merupakan hasil analisis data pengukuran kerapatan stomata abaksial pada sirih hijau.

Tabel 1. Hasil pengukuran kerapatan stomata abaksial daun sirih hijau

Sampel	Kerapatan Stomata Abaksial Per mm ²
Varietas 1	52,41
Varietas 2	84,07

Berdasarkan Tabel 1, maka diketahui bahwa rata-rata kerapatan stomata abaksial daun sirih hijau varietas 1 lebih kecil daripada varietas

2 yaitu 52,41 per mm² lebih kecil daripada 84,07 per mm². Stomata pada sirih hijau hanya ditemukan pada bagian abaksial saja.

Tipe trikoma pada daun sirih varietas 1 dan 2 tersusun oleh multiseluler (tektor) maupun uniseluler, hasil pengamatan trikoma uniseluler bersifat glanduler bentuk kerucut pendek, ujung runcing (Gambar 1). Khan *et al.* (2013) juga menyebutkan bahwa pada kedua lapisan epidermis daun sirih terdapat trikoma glanduler dan trikoma tektor (multiseluler). Sel apikal trikoma agak meruncing pada trikoma multiseluler. Lebih banyak dijumpai pada bagian pelepah dan tangkai, adapun hasil kajian Dhongle & Kogje (2013) menyatakan trikoma hanya terdapat di bagian abaksial epidermis dengan perbedaan bentuk trikoma pada dua varietas sirih yang diamati, pada varietas Calcutta Bangla bentuk trikoma uniseluler lebih besar ukurannya terletak di bawah ibu tulang daun, sedangkan kultivar Assam Kapoori trikoma multiseluler, lebih kecil ukurannya dan runcing bentuknya. Berikut merupakan analisis data pengukuran kerapatan trikoma

adaksial dan abaksial pada sirih hijau.

Tabel 2. Hasil pengukuran kerapatan trikoma pada daun sirih hijau

Sampel	Kerapatan Trikoma Adaksial Per mm ²	Kerapatan Trikoma Abaksial Per mm ²
Varietas 1	24,63	38,51
Varietas 2	26,30	30,93

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa rata-rata trikoma adaksial sirih hijau varietas 1 lebih kecil daripada varietas 2 yakni 24,63 per mm² lebih kecil daripada 26,30 per mm². Berbeda dengan trikoma adaksial, pada trikoma abaksial sirih hijau varietas 1 lebih besar daripada varietas 2 yakni 38,51 per mm² lebih kecil daripada 30,93 per mm².

Pada varietas daun sirih hasil pengamatan Dhongle & Kogje (2013) juga menunjukkan adanya kelenjar minyak/sel sekresi di lapisan atas dan bawah hipodermis. Sel sekresi dan kristal oksalat tampak tersebar di bagian jaringan parenkim tersebut (Gambar 1a). Berikut merupakan analisis data pengukuran kerapatan sel sekresi dan diameter sel sekresi pada daun sirih hijau (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengukuran kerapatan sel sekresi pada daun sirih hijau

Sampel	Kerapatan Sel Sekresi Daun Per mm ²
Varietas 1	29,26
Varietas 2	22,41

Tabel 4. Hasil pengukuran rata-rata diameter sel sekresi pada daun sirih hijau

Sampel	Rata-rata Diameter Sel Sekresi Daun dalam μm
Varietas 1	36287,83
Varietas 2	31684,25

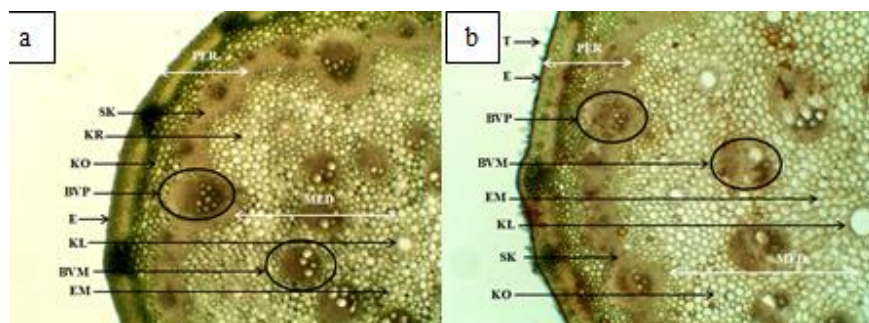
Berdasarkan Tabel 4 maka diketahui bahwa rata-rata kerapatan sel sekresi pada daun sirih hijau varietas 1 lebih besar daripada varietas 2 yaitu 29,26 per mm² lebih besar daripada 22,41 per mm². Rata-rata diameter sel sekresi daun sirih hijau pada varietas 1 lebih besar daripada varietas 2 yaitu 36287,83 μm lebih besar daripada 31684,25 μm . Berdasarkan besarnya ukuran kerapatan sel sekresi dan diameter pada daun varietas 1 lebih banyak

menghasilkan minyak atsiri daripada varietas 2. Hal ini dikarenakan sel sekresi merupakan tempat penyimpanan minyak atsiri. Minyak atsiri yang terkandung di dalam sel sekresi di antaranya dapat berupa senyawa terpenoid dan fenol.

Struktur Anatomi Batang

Struktur anatomi penampang melintang batang sirih varietas 1 dan 2 memiliki kemiripan. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2a dan b.

Struktur anatomi penampang melintang batang sirih varietas 1 dan 2 tersusun dari bagian terluar adalah epidermis, jaringan kolenkim membentuk lapisan tipis yang melingkari batang dengan penebalan pada dinding sel, bagian korteks batang tersusun oleh jaringan parenkim. Sklerenkim tersusun



Gambar 2. Struktur Penampang Melintang Batang Sirih Hijau (*Piper betle*) a) Varietas 1 segar (perbesaran 4 x 13) b) Varietas 2 segar (perbesaran 4 x 13) Keterangan: E (Epidermis), KR (Korteks), BVM (Berkas Vaskular Medular), KL (Kelenjar Lendir), EM (Empulur), SK (Sklerenkim), BVP (Berkas Vaskular Perifer), KO (Kolenkim), PER (Perifer) dan MED (Meduler).

beberapa lapis sel melingkari batang sekitar 7 lapisan sel, lapisan selnya lebih tebal dibanding lapisan jaringan kolenkim. Pada sisi luar jaringan sklerenkim (bagian terluar korteks) terdapat berkas vaskuler korteks/perifer dengan jumlah cukup banyak melingkari batang. Berkas pembuluh perifer terletak di antara korteks dan sklerenkim, sedangkan berkas pembuluh medular terletak di bagian empulur (Gambar 2).

Pada bagian sebelah dalam jaringan sklerenkim terdapat jaringan parenkim yang mengisi bagian tengah batang yaitu bagian empulur, di dalamnya tersebar secara teratur melingkar berkas vaskular medular/dalam, pada batang sirih varietas 1 berjumlah 12 berkas vaskuler medular/dalam sedangkan pada batang sirih varietas 2 jumlahnya lebih banyak yaitu 15-16 berkas vaskuler medular (Gambar 2). Menurut Simpson (2006), dua kelompok berkas pembuluh merupakan ciri khas anggota Piperaceae.

Hasil pengamatan variasi kambium pada batang 7 spesies *Piper* sp. di Taiwan oleh Yang dan Chen (2017),

salah satunya adalah spesies *Piper betle* yang memiliki struktur yang sama dengan batang sirih varietas 1 dan 2. Dijelaskan bahwa jumlah berkas vaskuler medular berkisar 12-19, sedangkan jumlah berkas vaskuler korteks yang berkembang menjadi berkas vaskuler perifer pada pertumbuhan selanjutnya sebanyak 30-40. Kelenjar lendir pada *Piper betle* dijumpai di pusat empulur dan di korteks berjumlah satu.

Empulur mengisi bagian batang berisi jaringan parenkim, pada pusat batang terdapat satu kelenjar lendir/sekresi pada sirih varietas 1 dan 2. Pada batang varietas 1 dan 2 selain kelenjar lendir di pusat batang terdapat beberapa sel lendir/sekresi terletak secara melingkar pada jaringan parenkim/korteks, di antara berkas vaskuler medular/dalam dan berkas vaskular perifer/luar. Tabel 5 dan 6 menyajikan hasil analisis kerapatan sel sekresi dan diameter sel sekresi pada batang sirih hijau.

Tabel 5. Hasil pengukuran kerapatan sel sekresi pada daun sirih hijau (*Piper betle*)

Sampel	Kerapatan Sel Sekresi Batang Per mm ²
Varietas 1	21,67
Varietas 2	25,56

Tabel 6. Hasil pengukuran diameter sel sekresi pada daun sirih hijau (*Piper betle*)

Sampel	Rata-rata Diameter Sel Sekresi Batang dalam μm
Varietas 1	44771,08
Varietas 2	45283,92

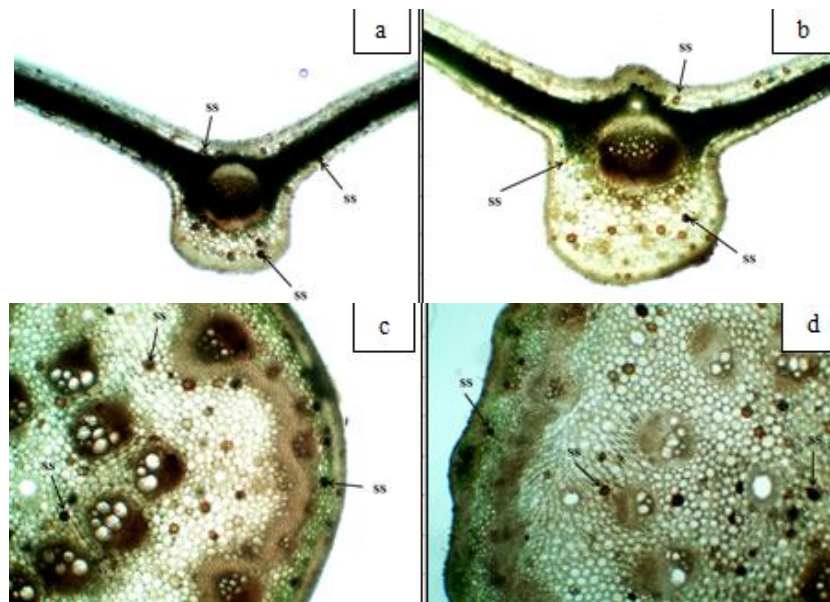
Berdasarkan tabel 5 dan 6, diketahui bahwa kerapatan sel sekresi pada batang sirih hijau varietas 1 lebih kecil daripada varietas 2 yaitu 21,67 per mm^2 lebih kecil daripada 25,56 per mm^2 . Rata-rata diameter sel sekresi pada batang sirih hijau varietas 1 lebih kecil daripada varietas 2 yaitu 44771,08 μm lebih kecil daripada 45283,92 μm . Berdasarkan besarnya ukuran kerapatan sel sekresi dan diameter pada batang varietas 2

lebih banyak menghasilkan minyak atsiri daripada varietas 1. Hal ini dikarenakan sel sekresi merupakan tempat penyimpanan minyak atsiri. Minyak atsiri yang terkandung di dalam sel sekresi di antaranya dapat berupa senyawa terpenoid dan fenol.

Uji Histokimia

Uji Terpenoid

Histokimia merupakan pengujian yang berguna untuk mengetahui lokasi suatu senyawa metabolit yang disekresikan oleh tanaman (Kolb & Muller, 2004). Hasil uji terpenoid dengan metode histokimia disajikan pada (Gambar 3).

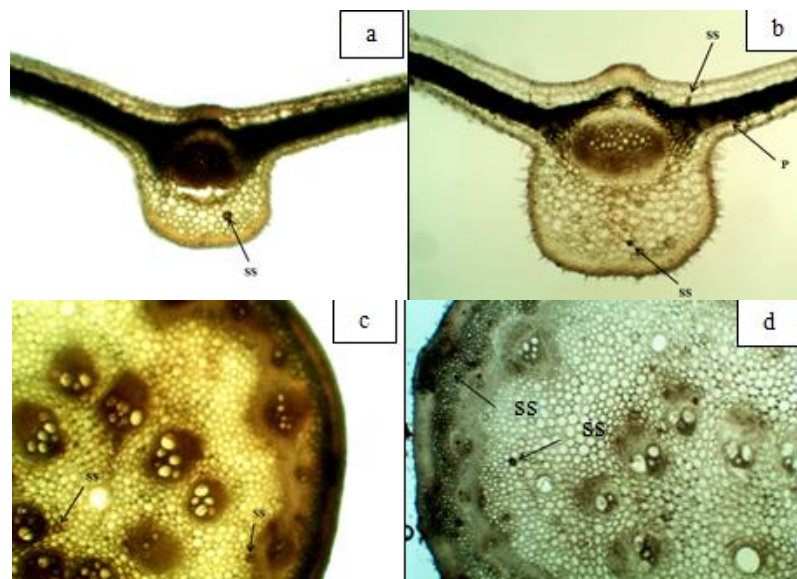


Gambar 3. Struktur penampang melintang daun dan batang sirih positif terpenoid a); ibu tulang daun varietas 1 (perbesaran 4x13) b); ibu tulang daun varietas 2 (perbesaran 4x13); c) batang varietas 1 (perbesaran 4x13); d) batang varietas 2 (perbesaran 4x13). Keterangan: SS = sel sekresi; P = parenkim; BP = berkas pengangkut; KR = korteks; EM = empulur; BVP = berkas vaskuler perifer; BVM = berkas vaskuler meduler.

Pada daun dan batang sirih varietas 1 dan 2 menunjukkan positif terpenoid dengan ditandai adanya perubahan warna menjadi kuning kecokelatan pada jaringan atau sel. Pada penampang lintang daun sirih varietas 1 dan 2 hasil uji terpenoid diperoleh hasil positif padasel sekresi yang tersebar pada jaringan parenkim ibu tulang daun dan lamina. Pada batang varietas 1 dan 2 menunjukkan hasil positif terpenoid pada bagian sel sekresi yang tersebar di jaringan parenkim korteks dan empulur.

Uji Fenol

Uji fenol dilakukan dengan menggunakan feri triklorida 10% yang kemudian ditambahkan beberapa butir natrium karbonat dan didiamkan selama 15 menit. Sayatan diamati menggunakan mikroskop. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau gelap atau hitam. Hasil uji fenol dengan metode histokimia disajikan pada (Gambar 4).



Gambar 4. Struktur penampang melintang daun dan batang sirih positif fenol: a) ibu tulang daun varietas 1 (perbesaran 4x13); b) ibu tulang daun varietas 2 (perbesaran 4x13); c) batang varietas 1 (perbesaran 4x13); d) batang varietas 2 (perbesaran 4x13). Keterangan: SS = sel sekresi; P = parenkim; BP = berkas pengangkut; KR = korteks; EM = empulur; BVP = berkas vaskuler perifer; BVM = berkas vaskuler meduler.

Berdasarkan Gambar 4, pada daun dan batang sirih varietas 1 dan 2 menunjukkan positif fenol dengan ditandai adanya perubahan warna menjadi coklat kehitaman pada jaringan atau sel. Pada daun sirih varietas 1 dan 2 hasil uji fenol diperoleh hasil positif pada sel sekresi yang tersebar disekitar parenkim ibu tulang daun dan lamina. Pada batang varietas 1 dan 2 menunjukkan hasil positif terpenoid pada bagian sel sekresi yang tersebar di jaringan parenkim korteks dan empulur. Sel sekresi yang positif mengandung fenol tidak sebanyak dengan sel sekresi yang mengandung terpenoid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Struktur anatomis pada daun sirih hijau varietas 1 dan varietas 2 memiliki kesamaan. Terdiri dari bagian paling atas yakni lapisan kutikula, epidermis atas, trikoma adaksial, bagian bawah lapisan epidermis terdapat hipodermis atas, jaringan mesofil yang tersusun atas jaringan parenkim palisade, spons dan jaringan pengangkut, hipodermis bawah, epidermis bawah, stomata abaksial, trikoma abaksial dan lapisan kutikula.
2. Struktur anatomis pada batang sirih varietas 1 dan varietas 2 memiliki kesamaan struktur anatomis yang tersusun dari bagian luar ke arah dalam yakni trikoma, epidermis, jaringan kolenkim, berkas vaskuler perifer, sklerenkim, korteks, berkas vaskuler medular, empulur, dan pada bagian pusat batang terdapat kelenjar sekresi.
3. Rata-rata kerapatan stomata abaksial varietas 1 adalah 52,41 per mm^2 dan varietas 2 adalah 84,07 per mm^2 .
4. Rata-rata kerapatan trikoma adaksial varietas 1 adalah 24,63 per mm^2 dan varietas 2 adalah 26,30 per mm^2 , sedangkan trikoma abaksial varietas 1 adalah 38,51 per mm^2 dan varietas 2 adalah 30,93 per mm^2 .
5. Rata-rata kerapatan sel sekresi pada daun varietas 1 adalah 29,26 per mm^2 dan varietas 2 adalah 22,41 per mm^2 , sedangkan pada batang varietas 1 adalah 21,26 per mm^2 dan varietas 2 adalah 25,56 per mm^2 .
6. Rata-rata diameter sel minyak pada daun varietas 1 adalah 36287,83 μm dan varietas 2 adalah 31684,25 μm sedangkan pada batang varietas 1 adalah 44771,08 μm dan varietas 2 adalah 45283,92 μm .

7. Uji histokimia pada sirih hijau varietas 1 dan varietas 2 positif mengandung terpenoid dan fenol.

DAFTAR PUSTAKA

- Dhongle, S.S dan K. K. Kogje. 2013. Comparative Pharmacognostic Study of Leaves of Two Varieties of *Piper betle* L. namely Calcutta Bangla and Assam Kapoori. *International Journal of Herbal Medicine*. **1 (3)**, 115-119
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. ITB. Bandung.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.
- Kolb D, Müller M. 2004. Light, conventional and environmental scanning electron microscopy of the trichomes of *Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca* and histochemistry of glandular secretory products. *Ann Bot.* **94**, 515-526.
- Khan, A.A., S.P. Bhatnagar, B.N. Sinha, & U.R. Lal. 2013. Pharmacognostic specifications of eight cultivars of *Piper betle* from eastern region of India. *Pharmacognosy Journal*. **5**, 176-183
- Marliyana, S.D., Nestri H., Siti N., & Eliza N.S. 2013. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) *Jurnal Penelitian Kimia*. **9(2)**, 33-40.
- Martin, Tholl D, Gershenzon J, Bohlmann J. 2002. Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of norway spruce stem. *Plant Physiol* **129**, 1003-1018.
- Pradhan, D, K. A. Suri, D. K. Pradhan dan P. Biswasroy. 2013. Golden Heart of the Nature: *Piper betle* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **1(6)**, 147-167.
- Setyowati E. N. 2009. Studi Komparatif Komponen Kimia Penyusun Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), Sirih Hijau (*Piper betle* L.), Lada (*Piper nigratum* L.) Dan Kemukus (*Piper cubeba* L.). Skripsi dipublikasikan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Simpson MG. 2006. *Plant Systematics*. London (UK): Elsevier Academic Pr.
- Syahrinastiti, T. A., Aniz D. & Lili A. 2015. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. **4(2)**, 421-424.
- Yang, S.Z. & P.H. Chen. 2017. Cambial variations of *Piper* (Piperaceae) in Taiwan. *Botanical Studies*. **58**,17.