

Potensi Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Eosin pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin

Potential of Red Dragon Fruit Peel (*Hylocereus costaricensis*) as an Alternative Dye to Replace Eosin in Eosin Hematoxylin Staining

Fani Rahmawati, Meutia Srikandi Fitria

Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

Corresponding author : meutia@unimus.ac.id

Abstrak

Hematoxylin eosin merupakan salah satu pewarnaan yang digunakan untuk pewarnaan histologi. Salah satu komponen hematoxylin eosin adalah eosin. Eosin sering digunakan tetapi memiliki sifat karsinogenik, sehingga perlu alternatif yang lebih aman bagi tubuh. Tujuan akhir penelitian ini untuk menganalisis kemampuan kulit buah naga untuk pewarna alternatif pengganti eosin pada pewarnaan hematoxylin eosin. Desain penelitiannya adalah eksperimen laboratorium, dengan objek penelitian berupa jaringan ginjal mencit. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi kulit buah naga adalah etanol 96% dicampurkan dengan pengencer asam sitrat 10%. Pewarnaan jaringan dilakukan dengan menggunakan ekstrak tersebut dan dibandingkan dengan pewarnaan eosin sebagai kontrol. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan dengan ekstrak kulit buah naga merah kurang optimal. Skor pewarnaan untuk inti sel adalah tidak baik (skor 1), sedangkan sitoplasma mendapatkan skor kurang baik (skor 2). Analisis data menggunakan *kruskal wallis* diperoleh hasil $p = 0.000$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada kualitas pewarnaan pada kelompok perlakuan, dilanjutkan uji *mann whitney*. Pada uji ini terdapat perbedaan signifikan ($p < 0.05$) pada kelompok perlakuan dengan eosin terhadap kelompok ekstrak 40%, 45% dan 50%. Pada kelompok ekstrak 40%, 45% dan 50% menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan ($p > 0.05$). Penelitian ini memiliki kesimpulan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga dengan pengencer asam sitrat 10% tidak berpotensi sebagai pengganti eosin pada pewarnaan hematoxylin eosin.

Kata Kunci : kulit buah naga merah, pewarna alternatif, hematoxylin eosin.

Abstract

Hematoxylin and eosin is one of the stains used for histological staining. One component of hematoxylin eosin is eosin. Eosin is often used but has carcinogenic properties, so a safer alternative for the body is needed. The ultimate goal of this study is to analyze the ability of dragon fruit peel to be used as an alternative stain to replace eosin in hematoxylin and eosin staining. The research design was a laboratory experiment, with mouse kidney tissue as the research object. The solvent used for dragon fruit skin extraction was 96% ethanol mixed with 10% citric acid diluent. Tissue staining was performed using this extract and compared with eosin staining as a control. The results of this study showed that the staining quality with red dragon fruit skin extract was less than optimal. The staining score for the cell nucleus was poor (score 1), while the cytoplasm received a less-than-satisfactory score (score 2). Data analysis using Kruskal-Wallis yielded a p -value of 0.000, indicating a significant difference in dyeing quality among the treatment groups, followed by a Mann-Whitney test. This test revealed a significant difference ($p < 0.05$) between the eosin treatment group and the 40%, 45%, and 50% extract groups. The 40%, 45%, and 50% extract groups showed no significant difference ($p > 0.05$). This study concluded that the ethanol extract of dragon fruit peel with 10% citric acid diluent does not have the potential to replace eosin in hematoxylin-eosin staining.

Keywords : *Red Dragon Fruit Peel, Alternative Coloring, Hematoxylin Eosin.*

PENDAHULUAN

Jaringan tubuh memiliki peran yang berbeda-beda. Beberapa jaringan tubuh yang paling penting adalah jaringan epitel, ikat, otot, dan saraf untuk melihat jaringan dibutuhkan alat bantu mikroskop (Soesilawati, 2019). Proses *staining* sangat penting untuk mewarnai jaringan yang transparan setelah proses pematangan. Pewarnaan dapat menunjukkan struktur dan morfologi jaringan, serta keberadaan dan prevalensi sel-sel tertentu (Kristian dan Inderiati, 2017). Pewarna dibagi menjadi dua yaitu pewarna sintesis dan pewarna alami. Pewarna sintesis adalah pewarna yang dibuat dari bahan-bahan kimia, salah satu contohnya adalah hematoxylin dan eosin. Pewarna alami berasal dari bahan-bahan alami seperti daun, buah, dan kulit buah (Yustar *et al.*, 2023).

Hematoxylin dan Eosin adalah bahan pewarnaan yang sering digunakan dalam histologi. Prinsip dasar pewarnaan hematoxylin eosin ini adalah bahwa sifat asam basa larutan akan berikatan dengan bagian jaringan yang memiliki sifat asam atau basa tersebut. Akibatnya, molekul zat warna akan terikat dengan komponen jaringan seperti inti sel atau sitoplasma (Kristian dan Inderiati, 2017). Penggunaan eosin memiliki sifat karsinogenik yang dapat mengganggu kesehatan jika digunakan dalam jangka panjang salah satunya dapat menyebabkan kanker dan sisa limbah bisa merusak lingkungan, sehingga diperlukan alternatif pengganti yang berbahan alami (Jumardi *et al.*, 2023). Penggunaan eosin memiliki sifat karsinogenik yang dapat mengganggu kesehatan jika digunakan dalam jangka panjang salah satunya dapat menyebabkan penyakit kronis dan sisa limbah bisa merusak lingkungan, sehingga diperlukan pewarna pengganti yang berbahan alami (Jumardi *et al.*, 2023).

Pewarna alami berasal dari bahan tanaman asli, seperti daun bunga, batang, dan akar. Pewarna alami tidak mengandung bahan berbahaya dan limbah pewarna alami tidak merusak lingkungan. Pada jaringan atau sel memiliki sifat yang khusus di setiap bagiannya, sehingga kemampuan penyerapan zat warnanya berbeda (Jumardi *et al.*, 2023). Salah satu pewarna alami yang dapat digunakan untuk eosin adalah ekstrak kulit buah naga merah. Hal ini karena sifat asam basa pada kulit buah naga dan kandungan antosianin dan bastianin yang sifatnya bisa mewarnai jaringan (Asyah *et al.*, 2024). Pembuktian keberhasilan pewarnaan pengganti dapat menggunakan organ yang mudah untuk diamati.

Organ yang digunakan untuk melihat kualitas terhadap ekstrak kulit buah naga merah sebagai pengganti pewarna eosin pada pewarnaan hematoxylin eosin adalah ginjal. Ginjal mencit sering digunakan dalam penelitian dikarenakan ukuran jaringannya yang lebih besar dan jaringan tidak terlalu keras sehingga memudahkan untuk pemotongan (Nadifah *et al.*, 2022).

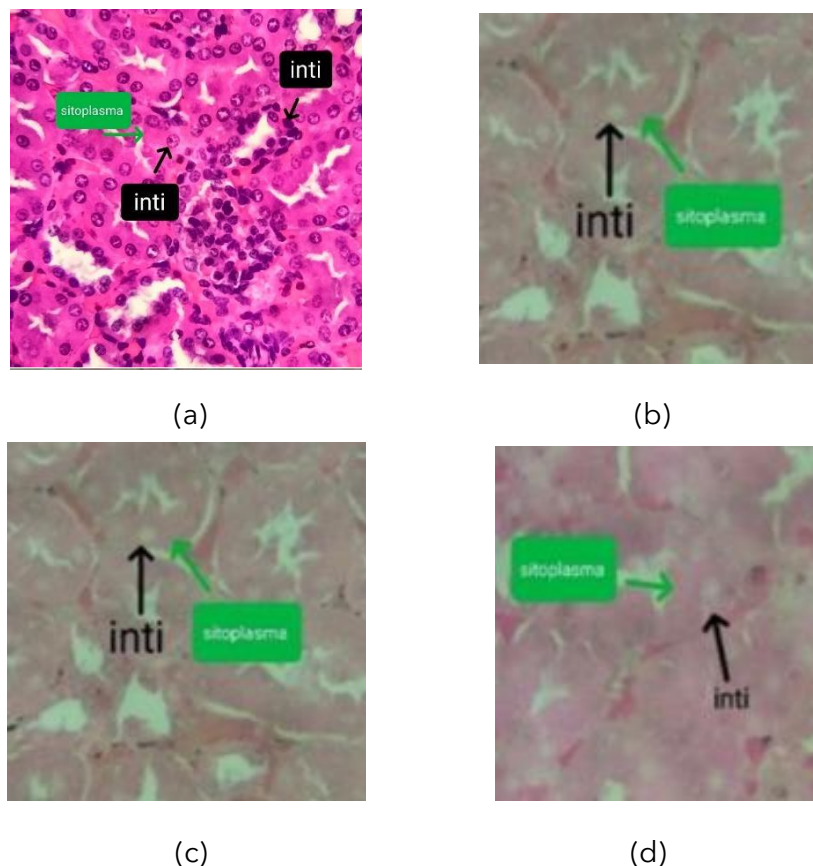
METODE

Penelitian ini menggunakan metode experimental laboratorium. Dalam penelitian ini dilakukan 4 jenis perlakuan pada 4 kelompok pewarnaan yaitu kelompok kontrol dengan pewarnaan hematoxylin eosin, kelompok ekstrak kulit buah naga konsentrasi 40%, kelompok ekstrak kulit buah naga konsentrasi 45% dan kelompok ekstrak kulit buah naga konsentrasi 50%. Pada semua kelompok pewarnaan akan dilakukan pengamatan mikroskopis jaringan ginjal mencit yang telah diwarnai dengan masing-masing kelompok pewarnaan dan hasil akan diinterpretasikan berdasarkan skor pewarnaan. Penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak kulit buah naga merah konsentrasi 40%, 45% dan 50% menggunakan metode maserasi dan evaporasi. Hasil ekstraksi kulit buah naga merah dilarutkan dengan asam sitrat 10% dengan konsentrasi pengenceran 40 %, 45 % dan 50 %. Pembuatan sediaan ginjal mencit dimulai dengan pembedahan rongga perut bawah dan pengambilan organ ginjal untuk pembuatan sediaan diambil. Organ ginjal dicuci dan dipotong ukuran 2x1 cm dengan ketebalan 2 mm. Prosesing jaringan dengan perendaman organ ginjal menggunakan NBF 10% dilanjutkan jaringan diletakkan dalam kaset untuk dilakukan prosesing meliputi dehidrasi, clearing dan impregnasi-embedding. Selanjutnya dilakukan pewarnaan sediaan dengan hematoxylin eosin untuk kelompok kontrol dan ekstrak kulit buah naga konsentrasi 40%, 45% dan 50%. Besar sampel yang digunakan ditentukan dengan menggunakan rumus federer dan didapatkan besar sampel untuk 4 kelompok sebanyak 6.

Penelitian ini menggunakan data primer dari pengamatan mikroskopis jaringan ginjal mencit dan analisis statistik. Data primer adalah hasil pengamatan mikroskopis jaringan ginjal yang diinterpretasikan berdasarkan skor pewarnaan. Analisis statistik untuk mengetahui interaksi antara dua variabel yang terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan uji Saphiro-Wilk dengan hasil olah $P < 0,05$ maka sampel berdistribusi tidak normal. Hasil tidak terdistribusi normal dilakukan uji *Kruskal Wallis* kemudian dilanjutkan uji *Mann Whitney*. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah dengan nomor persetujuan: 904/KE/12/2024. Waktu penelitian dilaksanakan selama bulan Januari 2025.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan mikroskopis sediaan ginjal mencit yang diwarnai dengan hematoxylin eosin dan ekstrak kulit buah naga konsentrasi 40%, 45% dan 50% ditunjukkan pada gambar dibawah ini:



Gambar 1. Preparat ginjal hasil pewarnaan

Keterangan:

- (a) = Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin
- (b) = Hasil Pewarnaan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Konsentrasi 40%
- (c) = Hasil Pewarnaan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Konsentrasi 45%
- (d) = Hasil Pewarnaan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Konsentrasi 50%

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, didapatkan hasil pewarnaan yang berbeda antara pewarna Hematoxylin Eosin sebagai kontrol dengan hasil pewarnaan yang menggunakan variasi konsentrasi ekstrak kulit buah naga pada inti sel dan sitoplasma jaringan ginjal mencit.

Tabel 4.1. Hasil penilaian inti sel pada preparat ginjal mencit

No	Kode Sampel	Perlakuan			
		Kontrol (Eosin)	40%	45%	50%
1	1	3	1	1	1
2	2	3	1	1	1
3	3	3	1	1	1
4	4	3	1	1	1
5	5	3	1	1	1

No	Kode Sampel	Perlakuan			
		Kontrol (Eosin)	40%	45%	50%
6	6	3	1	1	1

Berdasarkan tabel 4.1. menunjukkan bahwa pengamatan preparat yang diwarnai dengan kulit buah naga konsentrasi 40%, 45% dan 50% didapatkan skor 1 (tidak baik) yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah naga memiliki potensi yang tidak baik dalam mewarnai inti sel, warna ungu-biru pada inti sel tidak terwarnai.

Tabel 4.2. Hasil penilaian sitoplasma pada preparat ginjal mencit

No	Kode Sampel	Perlakuan			
		Kontrol (Eosin)	40%	45%	50%
1	1	3	2	2	2
2	2	3	2	2	2
3	3	3	2	2	2
4	4	3	2	2	2
5	5	3	2	2	2
6	6	3	2	2	2

Berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan bahwa pengamatan preparat yang diwarnai dengan kulit buah naga konsentrasi 40%, 45% dan 50% didapatkan skor 2 (kurang baik) yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah naga memiliki potensi kurang baik dalam mewarnai sitoplasma, sitoplasma terwarnai namun kurang jelas dibandingkan kontrol yang menggunakan eosin yang mewarnai sitoplasma dengan jelas.

Tabel 4.3 Hasil Uji Statistik

Uji Statistik	Nilai sig.
Shapiro-Wilk	0.000
Kruskal-Wallis	0.000

Pada hasil uji Shapiro-Wilk, Hasil uji data diatas didapatkan hasil p value sebesar 0.000 pada inti sel dan sitoplasma. Data tersebut termasuk data yang kurang dari taraf signifikansi 5% ($p < 0.05$) sehingga didapatkan hasil data terdistribusi tidak normal. Uji Kruskal-Wallis yang telah dilakukan, didapatkan nilai p value sebesar 0.000 yang artinya nilai tersebut < 0.05 , sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan potensi antara kontrol dan konsentrasi kulit buah naga yang digunakan sebagai pewarna alternatif pengganti eosin pada pewarnaan hematoxylin eosin terhadap preparat jaringan ginjal mencit.

Tabel 4. 4 Hasil Uji Mann Whitney

	Perlakuan			
	Eosin	40%	45%	50%
Eosin		(P=0.001)	(P=0.001)	(P=0.001)
40%			(P=1.000)	(P=1.000)
45%				(P=1.000)
50%				

Keterangan:



= Signifikan $P < 0.05$ (Ada perbedaan)



= Tidak Signifikan $P > 0.05$ (Tidak terdapat perbedaan)

Berdasarkan Tabel 4.4 hasil uji statistik Mann Whittney menunjukkan adanya perbedaan kualitas pewarnaan pada kelompok preparat yang diwarnai menggunakan eosin dengan kelompok preparat yang diwarnai ekstrak kulit buah naga merah konsentrasi 40%, 45% dan 50%, yang ditunjukkan dengan nilai sig. 0.001 ($p < 0.05$). Perbedaan kualitas kelompok preparat yang diwarnai dengan ekstrak kulit buah naga konsentasi 40% dengan ekstrak 45% dan 50% didapatkan hasil sig. 1.000 ($p > 0.05$) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan pada kualitas pewarnaan. Nilai sig. 1.000 ($p > 0.05$) juga ditunjukkan oleh kualitas preparat ekstrak kulit buah naga dengan ekstrak 50% yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan pada kualitas pewarnaan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pewarnaan HE memberikan kualitas pewarnaan yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan ekstrak kulit buah naga merah pada variasi konsentrasi 40%, 45%, dan 50% dengan pelarut etanol 96% dan pengencer asam sitrat 10%. Pewarnaan HE menghasilkan skor 3 (baik) untuk inti dan sitoplasma sel ginjal mencit. Hal ini sejalan dengan fungsi HE sebagai metode standar dalam histologi untuk membedakan komponen seluler berdasarkan afinitasnya terhadap pewarna asam dan basa (Kristian & Inderiati, 2017).

Hasil ini sejalan dengan penelitian Asyah *et al.*, (2024) yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah naga merah dapat digunakan sebagai pengganti eosin, tetapi penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan penggunaannya. Penelitian oleh Muslim *et al.*, (2023) pada sel hepatosit tikus juga menunjukkan bahwa ekstrak asam sitrat kulit buah naga merah memberikan hasil yang kurang baik dibandingkan dengan pewarnaan HE. Pemasari *et al.*, (2022) menemukan bahwa ekstrak buah naga merah dapat digunakan sebagai pewarna alternatif pada preparat apus epitel

mulut ayam, tetapi dengan hasil yang bervariasi tergantung pada konsentrasi dan perbandingan dengan larutan induk.

Kualitas pewarnaan yang kurang optimal dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu antosianin dan betasianin pada kulit buah naga merupakan pigmen alami yang memberikan warna merah-ungu (Yustar *et al.*, 2023). Antosianin dan betasianin pada kulit buah naga merah kurang optimal untuk mengganti eosin. Antosianin diketahui stabil pada pH asam, dan asam sitrat digunakan sebagai pengencer untuk menjaga stabilitasnya (Muslim *et al.*, 2023).

Hasil pewarnaan dengan ekstrak kulit buah naga merah menunjukkan bahwa meskipun kulit buah naga mengandung antosianin dan betasianin yang berpotensi sebagai pewarna alami, kualitas pewarnaan yang dihasilkan masih jauh dari efektif. Salah satu faktor yang memengaruhi hal ini adalah metode ekstraksi yang digunakan dan pelarut etanol juga bersifat semipolar yang memungkinkan kurang optimalnya proses ekstraksi dikarenakan berbeda dengan sifat antosianin dan betasianin yang bersifat polar. Struktur jaringan ginjal yang kompleks memerlukan pewarna dengan kemampuan penetrasi yang lebih baik. Jaringan ginjal terdiri dari berbagai jenis sel dan komponen ekstraseluler yang dapat memengaruhi penyerapan pewarna (Alwiyah *et al.*, 2024).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit buah naga dengan pengencer asam sitrat 10% tidak berpotensi sebagai pewarna alternatif pengganti eosin pada pewarnaan hematoksilin eosin. Hal ini dikarenakan preparat jaringan pada kontrol (dengan eosin) dan pewarnaan ekstrak kulit buah naga memiliki kualitas yang berbeda (kurang baik).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Alwiyah, F., Rudiyanto, W., Indria Anggraini, D., & Windarti, I. 2024. Anatomi dan Fisiologi Ginjal: Tinjauan Pustaka. In Tinjauan Pustaka Medula ,14 (2), 285 - 289.
- [2] Asyah, S., Nailufar, Y., & Astuti, T. D. 2024. Literature Review: Red Dragon Fruit (*Hylocereus costaricensis*) as an Alternative Stain to Hematoxylin-Eosin in Histology Preparation Making. Menara journal of health science, 3 (1), 220 - 228.
- [3] Jumardi, M., Iswara, A., Setya Ayu Putri, G., Ariyadi, T., Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, A., & Studi III Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, P. D. 2023. Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Menggunakan Hematoxylin-Eosin dan Ekstrak Daun Jati

- Sebagai Pengganti Eosin Comparison of Quality of Staining Results Using Hematoxylin-Eosin and Teak Leaf Extract As Eosin Substitute. Prosiding Seminar Nasional UNIMUS, 6, 878 – 887.
- [4] Khristian, E., & Inderiati, D., 2017. Sitohistoteknologi. Pertama. Jl. Hang Jebat III Blok F3, Kebayoran Baru Jakarta Selatan - 12120.
- [5] Muslim, A., Yahya, A., & Rosidah, A. (2023). Validitas Ekstrak Asam Sitrat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Pewarna Sel Hepatosit Pada Preparat Jaringan Organ Hepar Tikus *Rattus Norvegicus* L. Universitas Islam Malang, 11(2), 1-8.
- [6] Nadifah, F., Prasetyaningsih, Y., & Alhikmah, Y. T. 2022. The effects of pre-fixation time on kidney tissue structure of *Mus musculus* pengaruh waktu pra-fiksasi terhadap struktur jaringan ginjal *Mus musculus*, Prosiding Basic and Applied Medical Science Conference (BAMS-Co) Badan Eksekutif Mahasiswa STIKES Guna Bangsa Yogyakarta, 1(1), 092 – 096.
- [7] Soesilawati, R., 2020. Histologi Kedokteran Dasar. Airlangga University Press Anggota IKPI dan APPTI Jawa Timur.
- [8] Yustar, Y., Ahmad, R., & Sari, D. (2023). The Potential of Natural Dyes in Histological Applications. *Journal of Natural Products*, 15(2), 123-130