

Potensi Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Eosin pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin Terhadap Sediaan Jaringan Hepar Mencit

*The Potential of Red Dragon Fruit (*Hylocereus costaricensis*) Peel as an Alternative Dye to Replace Eosin in Hematoxylin-Eosin Staining of Mice Liver Tissue Preparations*

Audy Siska Nabila, Meutia Srikandi Fitria

Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

Corresponding author : meutia@unimus.ac.id

Abstrak

Salah satu contoh sediaan histologi adalah jaringan hepar mencit. Metode pewarnaan yang dapat digunakan untuk mewarnai sediaan histologi adalah eosin. Larutan *methylene blue* dan eosin yang memberikan dampak negatif bagi kesehatan. Penelitian ini menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) sebagai pewarna alternatif karena memiliki kandungan antosianin dan betasianin yang dapat menghasilkan warna seperti eosin. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan hepar mencit menggunakan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) sebagai pewarna alternatif. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain penelitian *cross sectional* dengan metode pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi dan evaporasi. Sampel berasal dari jaringan hepar mencit yang kemudian dibuat menjadi 28 preparat dengan 4 perlakuan yaitu eosin dan ekstrak kulit buah naga merah konsentrasi 40%, 45% dan 50%. Hasil pewarnaan menggunakan pewarna alami didapatkan hasil kualitas pewarnaan yaitu skor 1 (tidak baik) pada inti sel dan skor 2 (kurang baik) untuk sitoplasma. Berdasarkan uji statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan (*p value* 0.000) kualitas pewarnaan kelompok eosin dan variasi konsentrasi ekstrak kulit buah naga merah. Nilai *mean rank* (11.00) pada kelompok konsentrasi jauh dari nilai *mean rank* kontrol (25.00) menunjukkan bahwa kualitas sediaan pada kelompok konsentrasi tidak baik dibandingkan eosin. Pewarna alternatif dari ekstrak kulit buah naga merah belum bisa menggantikan eosin untuk pewarnaan histologi jaringan hepar mencit.

Kata Kunci : hepar, kulit buah naga, eosin

Abstract

One example of a histological preparation is mouse liver tissue. Eosin is a staining method that can be used to stain histological preparations. Methylene blue and eosin solutions have negative effects on health. This study used red dragon fruit peel extract (*Hylocereus costaricensis*) as an alternative dye because it contains anthocyanins and betacyanins that can produce colors similar to eosin. The purpose of this study was to determine the quality of staining results of mouse liver tissue preparations using red dragon fruit peel extract (*Hylocereus costaricensis*) as an alternative dye. This study was an experimental study with a cross-sectional design, and the extract was prepared using maceration and evaporation. The samples were taken from mouse liver tissue, which was then made into 28 preparations with 4 treatments, namely eosin and red dragon fruit peel extract at concentrations of 40%, 45%, and 50%. The staining results using natural dyes showed a staining quality score of 1 (poor) in the cell nucleus and a score of 2 (fair) in the cytoplasm. Based on the *Kruskal-Wallis* statistical test, there was a difference (*p value* 0.000) in the staining quality between the eosin group and the red dragon fruit peel extract concentration variation group. The mean rank value (11.00) in the concentration group was far from the mean rank value of the control (25.00), indicating that the quality of the preparation in the concentration group was not as good as eosin. The alternative

dye from red dragon fruit peel extract cannot yet replace eosin for histological staining of mouse liver tissue.

Keywords : liver, dragon fruit skin, eosin

PENDAHULUAN

Ilmu yang mempelajari struktur jaringan menggunakan mikroskop adalah histologi. Ilmu ini mempelajari jaringan secara detail setelah dibuat menjadi sediaan yang diiris tipis sehingga menjadi preparat. Preparat sediaan histologi digunakan untuk mempelajari struktur jaringan normal atau abnormal dengan menggunakan mikroskop. Proses pengolahan jaringan digunakan untuk membuat preparat sampai preparat yang telah diwarnai dihasilkan. Preparat histologi dibuat melalui beberapa proses yang harus dilakukan secara berurutan, yaitu prosesing jaringan, pemotongan, dan pewarnaan jaringan dilanjutkan dengan pengamatan (Indrawati *et al.*, 2017).

Pewarna rutin pada histologi adalah Hematoxylin Eosin (HE). Hematoxylin memberikan warna biru (basofilik) pada inti sel (nukleus). Eosin sebagai pewarna yang bersifat asam, memiliki afinitas terhadap sitoplasma sel. Eosin ketika berinteraksi dengan sitoplasma, pewarna ini memberikan warna merah muda pada sel dan jaringan penyambung. Tahap pewarnaan rutin dengan hematoxylin eosin pada preparat jaringan akan melewati beberapa proses yaitu deparafinisasi, rehidrasi, pewarnaan hematoxylin, dehidrasi, pewarnaan eosin, clearing, dan mounting (Nazhiifah *et al.*, 2023).

Pewarna sintesis seperti eosin dapat menimbulkan beberapa risiko bagi penggunaannya terutama petugas laboratorium ketika menggunakannya sebagai pewarna jariganya, diantaranya kandungan bahan kimia pada eosin berpotensi membahayakan kesehatan petgas laboratorium, paparan berulang dapat menimbulkan iritasi kulit, mata dan saluran pernapasan, serta meningkatkan risiko dermatitis kontak (Nadhifah *et al.*, 2022). Oleh karena itu, diperlukan alternatif dari bahan alami seperti buah naga.

Buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) yang memiliki kandungan senyawa antosianin dan betasianin di dalam buahnya dapat digunakan sebagai alternatif untuk pewarnaan. Sifat amfoter antosianin ini berarti dapat bereaksi baik dengan asam maupun basa 4 (Sahraeni *et al.*, 2018). Kulit buah naga merah mengandung antosianin yang lebih tinggi daripada daging buah, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif untuk pewarnaan histologi (Permatasari *et al.*, 2022). Buah naga merah digunakan sebagai pewarna alternatif pada sediaan jaringan hepar mencit dapat memberikan wawasan berharga tentang efektivitas dan aplikabilitas pewarna alami dalam praktik histologi. Jaringan hepar mencit sering digunakan sebagai penelitian biomedis karena strukturnya yang mirip dengan hepar manusia (Nazhiifah *et al.*, 2023).

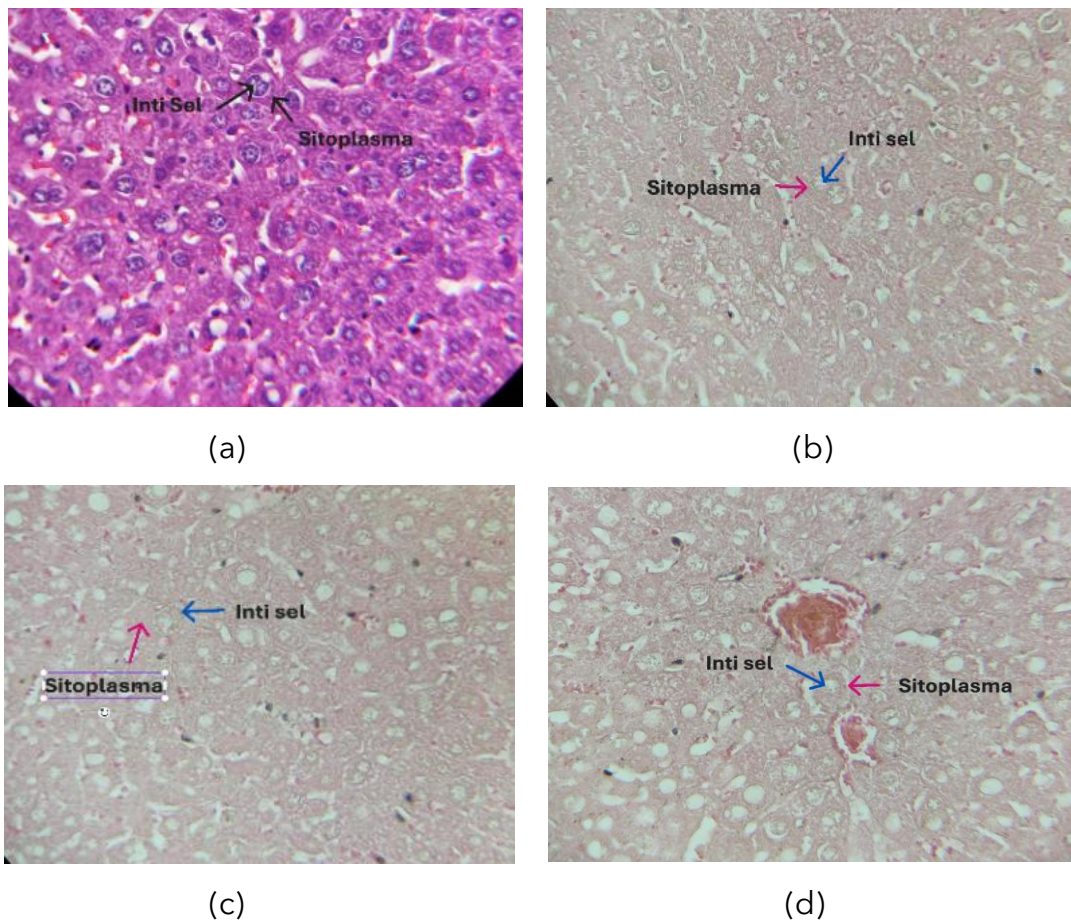
METODE

Jenis penelitian ini adalah experimental laboratorium dengan desain penelitian *cross sectional*. Penelitian ini dilakukan 4 jenis perlakuan pada 4 kelompok pewarnaan yaitu kelompok kontrol dengan pewarnaan hematoxylin eosin, kelompok ekstrak kulit buah naga konsentrasi 40%, 45% dan 50%. Pada semua kelompok pewarnaan akan dilakukan pengamatan mikroskopis jaringan hepar 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 hepar mencit dimulai dengan pengambilan organ hepar dicuci dan dipotong ukuran maksimal 1x 1 x 0,5 cm. 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 ditentukan 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. Analisa statistik dilakukan untuk mengetahui interaksi antara dua variabel yang terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan uji Saphiro-Wilk dengan hasil $P < 0,05$ maka sampel berdistribusi tidak normal. Data yang berdistribusi tidak normal di analisa menggunakan uji Kruskal Wallis. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah dengan nomor persetujuan: 904/KE/12/2024.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilaksanakan bulan Januari 2025 di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Hasil pengamatan mikroskopis pada preparat histologi jaringan hepar mencit menggunakan pewarna eosin sebagai kontrol dan ekstrak kulit buah naga merah sebagai pewarna alami pengganti eosin konsentrasi 40%, 45% dan 50% menggunakan pengencer asam sitrat 10% diamati dibawah mikroskop perbesaran lensa objektif 400x seperti pada gambar 1:



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Jaringan Hepar Mencit

Keterangan:

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

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 hepar mencit, penilaian hasil pewarnaan berdasarkan perbedaan pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Hasil penilaian inti sel pada preparat hepar 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

Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa pengamatan sediaan 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, dimana warna ungu-biru pada inti sel tidak terwarnai.

Tabel 2. Hasil penilaian sitoplasma pada preparat hepar 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

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa pengamatan sediaan 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, dimana sitoplasma terwarnai namun kurang jelas dibandingkan kontrol yang menggunakan eosin yang mewarnai sitoplasma dengan jelas.

Tabel 3. Hasil Uji Statistik

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

Berdasarkan Tabel 3, berupa data hasil skor pengamatan pada sel hepar mencit dianalisa uji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk*. Hasil uji data diatas didapatkan hasil *p value* sebesar 0.000 pada inti sel dan sitoplasma. Data tersebut termasuk data yang melebihi taraf signifikasi 5% ($p < 0.05$) sehingga didapatkan hasil data terdistribusi tidak normal. Uji dilanjutkan dengan *Kruskal-Wallis* karena hasil data subyek tidak terdistribusi normal. Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* yang telah dilakukan, didapatkan nilai *p value* yaitu 0.000 yang artinya nilai tersebut < 0.05 , jadi 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 sediaan jaringan hepar mencit.

Hasil pada tabel 1 dan 2 tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah naga konsentrasi 40%, 45% dan 50% memberikan kualitas yang berbeda dengan kontrol yaitu eosin. Apabila nilai *mean ranks* semakin tinggi menandakan bahwa kualitas pewarnaan semakin baik atau mendekati kategori kualitas. Sebaliknya apabila nilai

mean ranks yang semakin rendah menunjukkan kualitas pewarnaan yang semakin tidak baik (Romeva *et al.*, 2022). Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan Wahyuni dan Sabban (2024) yang menunjukkan bahwa ekstrak buah naga belum baik dalam mewarnai sediaan sitologi dibandingkan dengan pewarna pembanding. Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Yustar *et al.*, (2023) yang menemukan bahwa pewarnaan alami dari sumber lain juga tidak dapat mencapai kualitas yang setara dengan pewarna sintetik.

Salah satu faktor yang memengaruhi hal ini adalah perbedaan mekanisme pewarnaan antara eosin dan antosianin yang terkandung dalam ekstrak kulit buah naga. Mekanisme pewarnaan dengan hematoxylin eosin (HE) melibatkan dua tahap utama: pertama, hematoxylin mewarnai inti sel (nukleus) menjadi biru, dan kedua, eosin memberikan warna merah muda pada sitoplasma. Eosin, sebagai pewarna asam, memiliki afinitas yang tinggi terhadap komponen asidofilik dalam sitoplasma, seperti protein dan organel, melalui interaksi elektrostatis yang kuat (Rahmawati *et al.*, 2022). Ekstrak kulit buah naga merah yang mengandung antosianin menunjukkan sifat amfoter, yang dapat bereaksi dengan pH asam dan basa, tetapi tidak cukup efektif untuk menembus struktur sitoplasma yang lebih kompleks (Sahraeni *et al.*, 2018).

Mekanisme pewarnaan yang kurang efektif ini dapat dikaitkan dengan kurangnya penetrasi antosianin ke dalam sel. Proses pewarnaan memerlukan waktu yang cukup untuk pewarnaan meresap ke dalam sel dan berinteraksi dengan komponen seluler. Durasi pewarnaan yang singkat dengan ekstrak kulit buah naga tidak cukup untuk mencapai penetrasi yang optimal, sehingga hasil pewarnaan pada sitoplasma tetap terlihat kurang jelas (Ayun *et al.*, 2022).

Variasi konsentrasi ekstrak (40%, 45%, dan 50%) menunjukkan bahwa meskipun peningkatan konsentrasi dapat meningkatkan kualitas pewarnaan, hasil yang diperoleh tetap di bawah standar yang diharapkan. Penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang lebih tinggi dari antosianin mungkin diperlukan untuk mencapai hasil yang sebanding dengan eosin (Hartika *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Hasil kualitas sediaan jaringan pada pewarnaan menggunakan ekstrak kulit buah naga konsentrasi 40%, 45% dan 50% pada pengamatan inti sel diperoleh skor (1) tidak baik dan pengamatan pada sitoplasma diperoleh skor (2) kurang baik. Hasil kualitas sediaan jaringan pada pewarnaan eosin sebagai kontrol diperoleh skor (3) baik. Hasil analisis uji statistik ekstrak kulit buah naga merah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan (*p* value 0.000) kualitas pewarnaan antara kelompok kontrol yaitu eosin dan variasi ekstrak kulit buah naga merah 40%, 45% dan 50%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ayun, Q., Endara, R. S., Ajeng, A. N., & Khomsiyah. (2022). Optimasi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) untuk Mendapatkan Kadar Antosianin Maksimal. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- [2] Hartika, R., Nuraini, A., & Setiawan, B. (2023). The Effectiveness of Natural Dyes in Histological Staining. *Journal of Biological Research*, 12(3), 201-210.
- [3] Indrawati, A. & Artdita. C. A. (2017). Teknik Pembuatan dan Evaluasi Preparat Histologi dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin di Laboratorium Histologi dan Biologi Sel Fakultas Kedokteran UGM dan National Laboratory Animal Center (NALC). Karya Tulis Ilmiah. Universitas Gadjah Mada.
- [4] Nadifah, F., Prasetyaningsih, Y., & Alhikmah, Y. T. (2022). Pengaruh Waktu Pra-Fiksasi Terhadap Struktur Jaringan Ginjal Mus musculus. *Basic and Applied Medical Science Conference*. 1(1): 92-96.
- [5] Nazhiifah, T. S. & Sofyanita, E. N. (2023). Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) Pada Histologi Kulit Mencit (*Mus Musculus*) Berdasarkan Ketebalan Pemotongan 3 Mm, 6 Mm Dan 9 Mm. *Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology*. 6(1): 474-480.
- [6] Permatasari, R., Suriani, S. & Adinda, H. (2022). Potensi Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Papanicolaou Terhadap Sediaan Apusan Epitel Mulut Ayam. *Jurnal Kesehatan Jompa*. 1(1): 1-9.
- [7] Rahmawati, F., Sari, K. P., Huda, N., & Rousdy, D. W. (2023). Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* L.) sebagai Pewarna Alami Sediaan Jaringan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Bios Logos*. 13(3): 233-242.
- [8] Romeva, S., Gonzalez, M., & Torres, J. (2022). Natural Alternatives in Histology: A Review. *International Journal of Histology Studies*, 8(1), 45-55.
- [9] Sahraeni, S., Harjanto, & Rahim, H. (2018). Ekstraksi Antosianin dari Kulit Buah Naga Merah sebagai Pewarna Alami. *Portal E-journal System PNUP*. 4(9):105-109.
- [10] Wahyuni, D., & Sabban, A. (2024). Evaluasi Kualitas Pewarnaan Alami pada Preparat Histologi. *Jurnal Histologi Indonesia*, 10(1), 50-60.
- [11] Yustar, Y., Ahmad, R., & Sari, D. (2023). The Potential of Natural Dyes in Histological Applications. *Journal of Natural Products*, 15(2), 123-130.