



## 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*

Muhamad Jumardi<sup>1</sup>, Arya Iswara<sup>1</sup>, Gela Setya Ayu Putri<sup>1</sup>, Tulus Ariyadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Program Studi D III Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

Corresponding author : [mjumardi9@gmail.com](mailto:mjumardi9@gmail.com)

#### Abstrak

Penggunaan eosin bersifat karsinogenik apabila digunakan dalam jangka panjang secara terus menerus. Efek negatif dari penggunaan dapat menyebabkan kanker dan sisa limbah dapat merusak lingkungan. Diperlukan alternatif zat warna untuk mengurangi dampak penggunaan eosin salah satunya dengan pewarna alami, salah satu contoh pewarna alami adalah daun jati muda. Daun jati muda memiliki kandungan senyawa pigmen antosianin yang memberikan warna merah yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai pewarna alami hematoxylin-eosin. Tujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas hasil pewarnaan menggunakan hematoxylin-eosin dan pewarna alami. Penelitian secara eksperimental menggunakan ekstrak daun jati. Sampel yang diteliti sebanyak 24 preparat jaringan kulit dengan 4 kelompok perlakuan yaitu, 6 preparat untuk pewarnaan Hematoxylin-Eosin, 6 preparat untuk pewarnaan ekstrak daun jati 2:1 (gr/mL), 6 preparat untuk pewarnaan ekstrak daun jati 1:1 (gr/mL), 6 preparat untuk pewarnaan ekstrak 1:2 (gr/mL). Hasil kualitas pewarnaan yang diwarnai dengan ekstrak daun jati 2:1 didapatkan kualitas kurang baik sedangkan 1:1 dan 1:2 didapatkan kualitas baik dengan presentase 100%. Uji statistik dengan *Kruskal-Wallis-Test* diperoleh hasil (*p value* <0,05) sehingga terdapat perbedaan yang signifikan terhadap penggunaan Hematoksilin-Eosin dan ekstrak daun jati 1:1 dan 1:2. Ekstrak daun jati dapat digunakan sebagai pewarna dalam pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

**Kata Kunci :** Daun Jati 2:1,1:1,1:2, Hematoxylin Eosin, Preparat Kulit.

#### Abstract

*The use of eosin is carcinogenic when used continuously for a long time. The negative effects of use can cause cancer and the remaining waste can damage the environment. Alternative dyes are needed to reduce the impact of using eosin, one of which is natural dyes, one example of natural dyes is young teak leaves. Young teak leaves contain anthocyanin pigment compounds which give a red color which has the ability as an antioxidant so that it has the potential to be used as a natural hematoxylin-eosin dye. The aim is to compare the quality of staining results using hematoxylin-eosin and natural dyes. Experimental research using teak leaf extract. The samples studied were 24 skin tissue preparations with 4 treatment groups namely, 6 preparations for Hematoxylin-Eosin staining, 6 preparations for teak leaf extract staining 2:1 (gr/mL), 6 preparations for teak leaf extract staining 1:1 (gr /mL), 6 preparations for staining extract 1:2 (gr/mL). The results of the quality of staining stained with teak leaf extract 2:1 obtained poor quality while 1:1 and 1:2 obtained good quality with a percentage of 100%. Statistical tests using the *Kruskal-Wallis-Test* showed results (*p value* <0.05) so that there were significant differences in the use of Hematoxylin-Eosin and teak leaf extract 1:1 and 1:2. Teak leaf extract can be used as a dye in Hematoxylin-Eosin staining.*

**Keywords :** *Teak Leaves 2:1,1:1,1:2, Hematoxylin Eosin, Skin Preparations.*

## PENDAHULUAN

Histoteknik adalah metode atau proses untuk membuat preparat histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisa. Pemeriksaan histopatologi adalah pemeriksaan morfologi sel atau jaringan pada sediaan mikroskopik untuk menetapkan diagnosis kelainan yang meliputi degenerasi, radang atau infeksi neoplasma dan penyebab kematian pada bidang forensik. Metode pewarnaan rutin yang paling banyak digunakan dalam pembuatan preparat histologis adalah Hematoksin-Eosin (Anggia *et al.*, 2018).

Hematoxylin-Eosin terdiri dari dua jenis zat warna, yaitu hematoxylin dan eosin. Hematoxylin merupakan zat warna alami yang dapat mengikat inti sel sehingga terwarnai menjadi biru dengan ikatan yang lemah. Eosin merupakan zat warna yang berfungsi untuk mewarnai sitoplasma menjadi merah. Eosin akan memberikan beberapa corakan pada jaringan, corakan dapat memberikan warna merah pada jaringan. Penggunaan eosin bersifat karsinogenik apabila digunakan dalam jangka panjang secara terus menerus. Efek negatif dari penggunaan dapat menyebabkan kanker dan sisa limbah dapat merusak lingkungan. Diperlukan alternatif zat warna untuk mengurangi dampak penggunaan eosin salah satunya dengan pewarna alami (Rina, 2013).

Pewarna dibagi menjadi dua yaitu pewarna sintesis dan pewarna alami. Pewarna alami adalah pewarna yang terbuat dari bahan alami yang ada di tanaman seperti sayuran, bunga, daun, batang, dan akar. Pewarna alami akan memberikan warna pada jaringan sehingga dapat diamati dengan mikroskop. Setiap bagian pada jaringan atau sel memiliki sifat yang khusus, sehingga daya serap untuk zat warna berbeda-beda. Pewarna alami tidak bersifat karsinogenik dikarenakan tidak mengandung bahan beracun dan limbah pewarna alami tidak merusak lingkungan, salah satu contoh pewarna alami adalah Daun Jati muda (Permatasari *et al.*, 2022).

Daun jati muda memiliki kandungan beberapa senyawa pigmen terutama antosianin yang memberikan warna merah. Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Pemanfaatan kandungan senyawa antosianin pada daun jati akan menghasilkan pigmen alami yang aman bagi kesehatan maupun lingkungan (Sari & Hariyanto, 2020).

Salah satu tumbuhan yang dapat berpotensi sebagai pewarna alami adalah daun jati (*Tectona grandis*) memiliki beberapa kandungan pigmen yang berupa senyawa flavonoid yaitu antosianin. Antosianin merupakan pigmen yang dapat memberikan warna biru, ungu, violet, magenta, merah, dan oranye pada bagian tanaman seperti buah, sayuran, bunga, daun, akar, umbi, legum, dan sereal. Senyawa

antosianin dalam daun jati memberikan warna merah (Mutmainah, 2018; Fathinatullabibah, 2014; Pratama, 2013).

Ekstraksi zat warna alami dapat dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi merupakan metode yang sangat sederhana dan sering digunakan dalam skala kecil maupun industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan bahan yang ingin diekstrak ke dalam pelarut yang sesuai dan diletakan pada wadah tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi akan dihentikan ketika sudah mencapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel bahan. Setelah proses ekstraksi, pelarut kemudian dipisahkan dari sampel dengan proses penyaringan (Maulidya, 2016)

Penelitian yang dilakukan oleh Sisipita, (2020) melaporkan bahwa rendaman kuncup daun jati sebagai pengganti eosin pada pewarnaan Hematoksin-Eosin didapatkan hasil paling baik pada lama rendaman 48 jam menunjukkan gambaran yang paling jelas, namun tidak mewarnai sitoplasma secara sempurna. Berdasarkan hasil penelitian tersebut rendaman kuncup daun jati tidak optimal dalam mewarnai sitoplasma dikarenakan metode rendaman yang digunakan kurang efektif dalam menarik zat warna. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan metode yang lebih efektif sehingga dapat menarik semua zat warna pada daun jati. Salah satu metode yang efektif mengambil pigmen warna adalah dengan metode ekstraksi maserasi sampai dengan eaporasi sehingga didapatkan ekstrak kental.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti tertarik melakukan penelitian lebih lanjut tentang perbandingan kualitas hasil pewarnaan menggunakan Hematoxylin-Eosin dan ekstrak daun jati sebagai pengganti Eosin.

## **METODE**

Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratorium karena dilakukan uji coba pewarnaan alami daun jati pengganti pewarnaan preparat kulit.

### **Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Sitohistoteknologi dan laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Semarang.

### **Waktu Penelitian**

Waktu Penelitian akan dilaksanakan pada bulan maret tahun 2023

## Variabel

Dalam penelitian ini yang menjadi variabel bebas (*independent variabel*) adalah pewarnaan alami daun jati dan hematoxylin-eosin sedangkan yang menjadi variabel terikatnya (*dependent variabel*) adalah kualitas hasil pewarnaan.

## Definisi Oprasional

Tabel 1:  
Definisi Oprasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Skala ukur
1	Pewarnaan Hematoxilin-Alami Daun Jati	Pewarnaan rutin untuk mewarnai sel menggunakan hematoxilin dengan pewarna alami daun jati yang didapatkan dari proses ekstraksi dengan perbandingan 2:1, 1:1, 1:2.	Nominal
2	Pewarnaan Hematoxilin-Eosin	Pewarnaan inti sel dengan komposisi reagen hematoxilin dan reagen eosin.	
3	Kualitas hasil pewarnaan	Penilaian skor hasil pengecatan dari pengamatan dilihat dari pengamatan secara visual menggunakan mikroskop dengan baik (skor 3), kurang baik (skor 2), tidak baik (skor 1).	Ordinal

## Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini yaitu 24 preparat jaringan. 6 preparat untuk pewarnaan hematoxylin-eosin, 6 preparat untuk pewarnaan hematoxylin dan ekstrak daun jati dengan perbandingan 2:1, 6 preparat untuk pewarnaan hematoxylin dan ekstrak daun jati dengan perbandingan 1:1 dan 6 preparat untuk pewarnaan hematoxylin dan ekstrak daun jati dengan perbandingan 1:2. Penentuan jumlah sampel dari setiap perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$3(r-1) \geq 15$$

$$3r - 3 \geq 15$$

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 6$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

r = jumlah sampel

Berdasarkan perhitungan rumus Federer, didapatkan banyak sampel yang digunakan yaitu 6 preparat dari masing-masing perlakuan dengan total keseluruhan 24 blok jaringan dengan pembagian sebagai berikut;

Kelompok	Perlakuan	Jumlah
Kontrol	Pewarnaan menggunakan Hematoxilin-Eosin	6
Kel.1	Pewarnaan menggunakan Hematoxilin-Ekstrak Daun Jati perbandingan 2:1	6
Kel.2	Pewarnaan menggunakan Hematoxilin-Ekstrak Daun Jati perbandingan 1:1	6
Kel.3	Pewarnaan menggunakan Hematoxilin-Ekstrak Daun Jati perbandingan 1:2	6

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan kualitas jaringan dan kualitas warna preparat jaringan kulit marmut yang diwarnai menggunakan hematoxylin eosin dan pewarnaan alami daun jati dengan perbandingan 2:1, 1:1, dan 2:1 dapat dilihat pada tabel berikut:

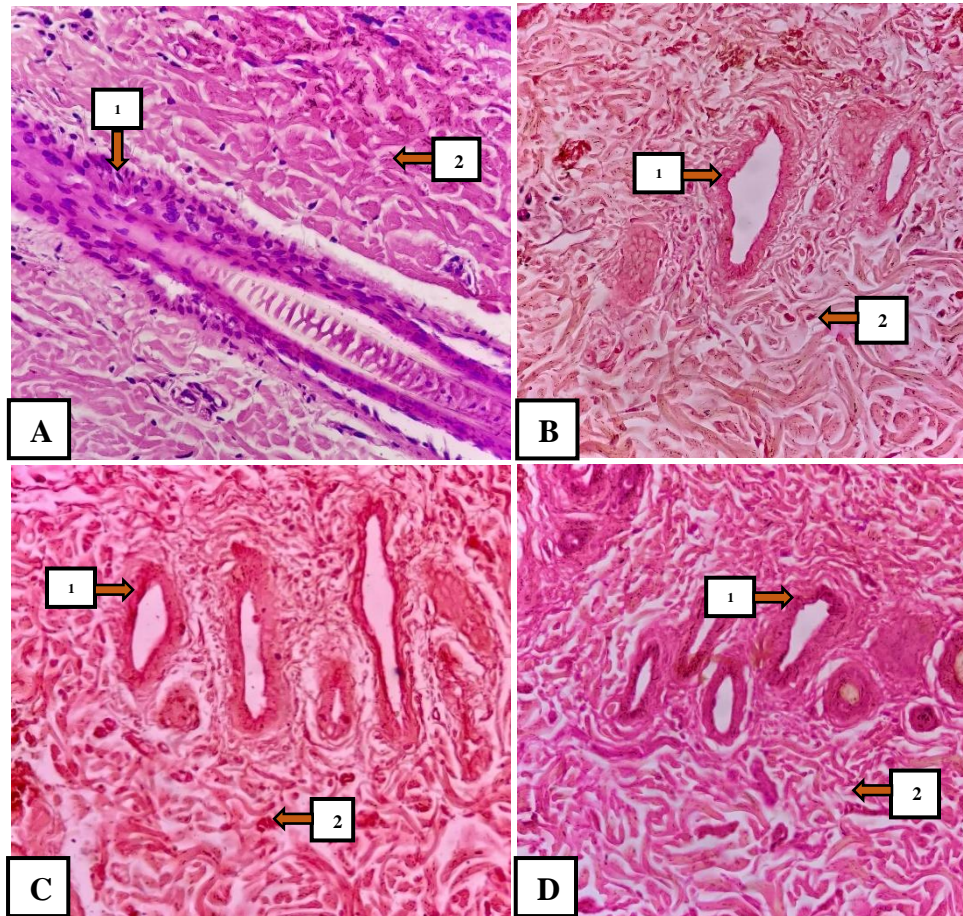
Tabel 4.  
Hasil pengamatan kualitas pewarnaan pada jaringan kulit.

Kelompok	Kriteria Penilaian			
	Skor 2 (Kurang baik)		Skor 3 (Baik)	
	N	%	N	%
Hematoxylin-Eosin	0	(0)	6	100%
Daun Jati 2:1	6	(100%)	0	0%
Daun Jati 1:1	0	(0)	6	100%
Daun Jati 1:2	0	(0)	6	100%

Berdasarkan tabel 4 diperoleh bahwa pewarnaan kelompok hematoxylin-eosin, hematoxylin-daun jati 1:1 dan hematoxylin-daun jati 1:2 diperoleh hasil skor 3 dengan presentase 100% dalam kategori baik, sedangkan preparat yang dilakukan pewarnaan hematoxylin-daun jati 2:1 diperoleh hasil skor 2 dengan presentase 100% dalam kategori kurang baik.



Gambar 1:  
Gambar kualitas jaringan preparat kulit pada pewarnaan HE dan pewarnaan ekstrak daun jati.



Kelompok Hematoxylin-eosin, (B) Kelompok Hematoxylin-Daun Jati 2:1, (C) Kelompok Hematoxylin-Daun Jati 1:1, (D) Kelompok Hematoxylin-Daun Jati 1:2. (1) Inti sel, (2) Sitoplasma.

Gambar A menunjukkan kualitas mikroskopis sediaan jaringan kulit yang diwarnai menggunakan hematoxylin-eosin menghasilkan inti sel dan sitoplasma pada preparat terwarnai dengan jelas. Gambar B menunjukkan kualitas mikroskopis sediaan jaringan kulit yang diwarnai menggunakan pewarna alami daun jati perbandingan 2:1 menghasilkan inti sel terwarnai dengan jelas, namun sitoplasma kurang terwarnai pada preparat. Gambar C menunjukkan kualitas mikroskopis sediaan jaringan kulit yang diwarnai menggunakan pewarna alami daun jati perbandingan 1:1 menghasilkan inti sel terlihat jelas dan sitoplasma terwarnai pada preparat. Gambar D menunjukkan kualitas mikroskopis sediaan jaringan kulit yang diwarnai menggunakan pewarna alami daun jati perbandingan 1:2 menghasilkan gambar inti sel terlihat jelas dan sitoplasma terwarnai pada preparat.

Tabel 1:  
Hasil Uji Statistik

Uji Statistik	Nilai Sig
<i>Shapiro-Wilk Test</i>	0,001
<i>Kruskal-Wallis Test</i>	0,000

Data yang diperoleh dari pembacaan secara mikroskopis pada jaringan kulit dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk test*. Berdasarkan hasil pengujian data diperoleh nilai signifikansi 0,001 yang berarti nilai *p value* <0,05 menunjukkan hasil berdistribusi tidak normal sehingga dilakukan uji non parametrik *Kruskal-Wallis Test*. Hasil uji tersebut didapatkan hasil signifikansi 0,000 maka *p value* <0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan kualitas sediaan kulit pada proses pewarnaan alami daun jati dengan pewarnaan hematoxylin-eosin.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa

- Kualitas jaringan pada pewarnaan menggunakan hematoxylin-eosin sebagai control diperoleh skor baik (3).
- Kualitas hasil pewarnaan sampel kulit pada proses pewarnaan daun jati dengan perbandingan 1:1, dan 1:2 secara mikroskopis yang didapat hasil dengan tingkat skor baik (3).
- Terdapat perbedaan kualitas hasil pewarnaan dengan pewarnaan hematoxylin-eosin dengan uji *Kruskal-walis test* mendapatkan nilai sig  $p < 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andre, M., Setiawan, W., Nugroho, E. K., & Lestario, L. N. (2015). . In *Ekstraksi Betasianin Dari Kulit Umbi Bit (Beta vulgaris) Sebagai Pewarna Alami*. Jurnal Ilmu Pertanian.
- Andriani, D., Masyita, D., & Zainudin, F. (2017). . In *Struktur Histologi Kulit Ikan Gabus (Channa striata)*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner (JIMVET).
- Anggia, M., Mutiar, S., & Arziah, D. (2018). . In *Teknologi Ekstraksi Bunga Kenanga (Cananga Odorata L.) dan Sereh Wangi (Cymbopogon Nardus L.) Sebagai Aroma Terapi Sabun Cair* (Vol. 1, pp. 5–9). Jurnal Daur Lingkungan.
- Aryadi, T. G., & Suryono, H. (2017). . In *Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxilin Eosin* (Vol. 1). Jurnal Labora Medika.





- Aryadi, T., & Suryono, H. (2017). . In *Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocecing Pewarnaasn Hematoxylin Eosin* (Vol. 1, pp. 7–11). Jurnal Laboran Medika.
- Asmi, F. (2016). . In *Anatomi dan Histologi Hepar* (Vol. 1, pp. 147–154). Jurnal Kedokteran.
- Eroschenko, V. P. (2015). . In *Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional*. EGC.
- Erwin, Y., Aryadi, T., & Nuroini, F. (2019). . In *Perbedaan Kualitas Preparat Hati Marmut Pada Proses Deparafinisasi Menggunakan Xilol Dan Minyak Zaitun Pada Pewarnaan HE*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Fatmawati, S. (2019). . In *Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Perkolasi Terhadap Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus)* (pp. 95–102). Jurnal Industri Pertanian.
- Helena G.Z, & Andrea G.T. (2018). . *Skin Wound Healing in Humans and Mice. 1st Ed, Journal of Dermatological Science, Challenges in Translational Research*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29289417/>
- Kalangi, S. J. R. (2018). *Histofisiologi Kulit*. 12–20.
- Maulidya, D. C. (2016). *Ekstraksi Zat Warna Alami Dari Kayu Bakau (Rhizophora Mucronata) Dengan Metode Microwave Assisted Extraction*.
- Mescher, A. L. (2017). *Histologi Dasar JUNQUEIRA* ( dr F. Susanti, dr H. S. Wijaya, dr L. Agustina, dr S. Agustin, & dr R. E. Sadikin, Eds.; 14th ed.). EGC, Buku Kedokteran.
- Permatasari, R., Suriani, E., & Hikmah, A. (2022). *Buah Naga Merah (Hylocereus costaricensis) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Papanicolaou Terhadap Sediaan Apusan Epitel Mulut Ayam. 1*, 1–2. <https://doi.org/JUKEJ> : Jurnal Kesehatan Jompa
- Pratiwi, E. N., & Armalina, D. (2021). . In *Mikroskopis Preparat Mus Musculus Jaringan Ginjal Yang Dideparafinisasi Dengan Minyak Zaitun Pada Pengecatan Hematoxylin Eosin (HE)* (Vol. 1, pp. 61–66). Jurnal Laboratorium Medis.
- Purushotham, K. (2010). *Synergistic in Vitro Antibacterial Activity of Tectona Grandis Leaves With Tetracycline*.
- Rina, S. (2013a). . In *Petunjuk Praktikum Mikroteknik Bagian Histologi dan Biologi Sel*. FK.
- Rina, S. (2013b). *Petunjuk Praktikum Mikroteknik*. Bagian Histologi dan Biologi Sel FK UGM.



- Sari, Y. E. S., & Hariyanto. (2020). Rendama Kuncup Daun Jati (*Tectona grandis*) Sebagai Alternative Pewarna Eosin Pada Proses Histoteknik. *PROSIDING SENAKES*, 1, 2.
- Sumanto, D. (2014). . Ikatan Analis Kesehatan Indonesia Semarang (IAKIS).
- Tjitrosoepomo, G. (2010). *Taksonomi Tumbuhan (Spermathopyta)*. Gajah Mada University Perss.
- Ubay. (2011). . *Ekstraksi Padat Cair*. [www.ekstraksi-padat-cair.html](http://www.ekstraksi-padat-cair.html)
- Wahyuni, Idris, F., & Septiadi, M. (2019). . In *Analisa Pewarnaan Umum Histopatologi Hematoxylin dan Eosin Modifikasi untuk Negri Bodies Rabies*. Jurnal Medik Veteriner.
- Widayat, D. (2017). *Histologi Program Keahlian Teknologi Laboratorium Medik* (T. Ayu Y.B & M. Ester, Eds.). Buku Kedokteran EGC.
- Wigati, D., & Rahardian, R. R. (2018). *Penetapan Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Hasil Perkolasi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* ( L .) Merr)*. 15(2), 36–40.