

POTENSI EKSTRAK BUNGA TELANG (*CLITORIA TERNATEA L.*) SEBAGAI PENGGANTI CAT HEMATOKSILIN DALAM PEWARNAAN RUTIN JARINGAN

Rosyidah Adiningsih^{1*}, Yeni Rahmawati², Yuyun Nailufar³

Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta^{1,2,3}

*Corresponding Author : rosyidahadiningsih99@gmail.com

ABSTRAK

Hematoksilin merupakan cat yang dibuat dari bagian pohon *Haematoxylum campechianum* yang banyak ditemukan negara bagian Campeche di Meksiko. Cat hematoksilin berwarna biru gelap yang dipakai untuk pengecatan rutin jaringan, penggunaan cat ini memiliki kendala seperti biaya pengadaannya yang mahal, penggunaan bahan pewarna yang jarang beresiko merusak bahan dalam penyimpanan yang lama. Berdasarkan permasalahan tersebut, dilakukan penelitian untuk menemukan bahan pengganti cat hematoksilin dengan bahan yang lebih mudah ditemukan di wilayah Indonesia yaitu bunga telang. Bunga telang memiliki nama ilmiah *Clitoria ternatea L.*, merupakan tumbuhan merambat kerabat *Fabaceae* dan memiliki kandungan antosianin yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengganti hematoksilin dengan dibuat menjadi ekstrak bunga pekat menggunakan metode *soxletasi*. Hasil ekstrak pekat diencerkan dengan alkohol 70% menjadi 5 variasi konsentrasi (1:1) ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 25 ml, konsentrasi (1:2) ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 50 ml, konsentrasi (1:3) ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 75 ml, konsentrasi (1:4) ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 100 ml, dan konsentrasi (1:5) ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 125 ml dan masing-masing konsentrasi digunakan untuk mewarnai jaringan organ tubuh manusia. Jaringan yang telah diwarnai diamati karakteristiknya dan diberi skor nilai dengan skala interval 1-4, skor penilaian dianalisis dengan Uji *SPSS Kruskall Wallis*. Hasil analisis didapatkan nilai *Asymp. Sig* 0,014 dan disimpulkan bahwa ekstrak bunga berpotensi menjadi pengganti hematoksilin dalam pewarnaan rutin jaringan dan mampu mewarnai nukleus dengan cukup baik.

Kata kunci : bunga telang, ekstrak bunga telang, hematoksilin, *kruskall wallis*

ABSTRACT

*Hematoxylin is a paint made from parts of the *Haematoxylum campechianum* tree which is found in the state of Campeche in Mexico. Dark blue hematoxylin dye is used for routine tissue staining. Based on these problems, research was carried out to find a substitute for hematoxylin paint with a material that is easier to find in Indonesia, namely butterfly pea flower. The telang flower has the scientific name *Clitoria ternatea L.*, is a climbing plant belonging to the *Fabaceae* and contains anthocyanin which can be used as a substitute for hematoxylin by making it into a concentrated flower extract using the *soxletation* method. The resulting concentrated extract was diluted with 70% alcohol into 5 variations of concentration (1:1) butterfly pea flower extract 25 ml: 70% alcohol 25 ml, concentration (1:2) 25 ml butterfly pea flower extract: 70% alcohol 50 ml, concentration (1:3) butterfly pea flower extract 25 ml: Alcohol 70% 75 ml, concentration (1:4) butterfly pea flower extract 25 ml: Alcohol 70% 100 ml, and concentration (1:5) butterfly pea flower extract 25 ml: Alcohol 70% 125 ml and each concentration is used to stain human organ tissue. The characteristics of the colored tissue were observed and given a score on an interval scale of 1-4. The assessment scores were analyzed using the *SPSS Kruskall Wallis* Test. The results of the analysis obtained the *Asymp* value. *Sig* 0.014 and it was concluded that the flower extract had the potential to be a substitute for hematoxylin in routine tissue staining and was able to stain the nucleus quite well.*

Keywords : *butterfly pea flower, butterfly pea flower extract, hematoxylin, kruskall wallis*

PENDAHULUAN

Histologi merupakan bidang ilmu mikroskopis yang mempelajari tentang jaringan, jaringan yang dipelajari dapat berupa jaringan hewan, manusia, dan tumbuhan. Sedangkan ilmu

untuk mempelajari tentang prosedur pembuatan preparat jaringan tersebut disebut dengan histoteknik (Sari & Rahmawati, 2021). Peran ATLM dalam bidang histologi adalah melakukan prosedur pengambilan sampel yang dapat merepresentasikan keadaan patologi jaringan yang diperiksa, kemudian melakukan pembuatan preparat mulai dari pemotongan jaringan dalam blok parafin, melakukan pewarnaan, dan pengamatan dengan menggunakan mikroskop (Alturkistani et al., 2015). Pewarnaan atau pengecatan jaringan merupakan langkah analitik untuk mewarnai jaringan yang akan memberikan kontras dari tiap sel penyusun jaringan yang dapat diamati di bawah lensa mikroskop (Permatasari et al., 2023). Komponen yang diperlukan dan sangat penting dalam pewarnaan adalah zat warna, dengan adanya zat warna maka organel sel penyusun suatu jaringan akan lebih mudah dibedakan (Tirtasari & Prasetya, 2020).

Pewarnaan dalam histologi dikenal 2 macam jenis yaitu pewarnaan rutin atau umum, dengan contoh pewarnaan rutin adalah pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) dan pewarnaan khusus seperti PAS, Malory, *Diff Quikk* (Apriani et al., 2023). Metode pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) mewarnai bagian yang berbeda dari jaringan. Cat Hematoksilin yang bersifat basa akan mewarnai unsur asam pada sel, penampakan sel yang terwarnai menjadi kebiruan dengan bagian sel yang terwarnai adalah bagian yang memiliki unsur paling asam yaitu sel deoksiribonukleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA). Pengecatan jaringan dengan menggunakan cat hematoksilin eosin berdasarkan prinsip terjadinya afinitas antara jaringan dengan bahan pewarna, baik secara kontak langsung antara bahan cat terhadap jaringan yang mampu berikatan secara langsung dengan baik, atau memerlukan zat tambahan lain seperti mordant untuk membantu terjadinya ikatan yang kuat sehingga jaringan dapat terwarnai dengan baik (Halim R., 2018).

Hematoksilin merupakan cat yang dibuat dari bagian pohon *Haematoxylum campechianum* yang banyak ditemukan negara bagian Campeche di Meksiko. Cat hematoksilin berwarna biru gelap yang dipakai untuk pengecatan secara konvensional, cat ini memiliki kendala seperti harganya yang mahal, penggunaannya relatif sedikit dan kemungkinan bahan akan rusak dalam penyimpanan yang lama, dan bahan pembuatannya sulit didapatkan (Li et al., 2018). Pewarna hematoksilin yang umum digunakan memiliki kandungan bahan kimia seperti alkohol, *mercuric oxide*, sodium iodida, potassium yang apabila digunakan dalam jangka waktu lama akan berpengaruh terhadap kesehatan peneliti, khususnya ATLM yang secara langsung bersinggungan dengan zat warna dalam pelaksanaan histoteknik. Selain itu bahan cat hematoksilin konvensional harus didatangkan dari wilayah luar Indonesia, hal ini selain menambah biaya pengadaan bahan kimia juga akan berpengaruh terhadap harga pelayanan histoteknik (Saraswati & Rahmawati, 2023).

Bunga telang yang memiliki nama ilmiah *Clitoria ternatea L.* merupakan tumbuhan merambat yang masih menjadi kerabat *Fabaceae*, bunga telang merupakan tumbuhan asli wilayah Khatulistiwa Asia, termasuk wilayah asia Tenggara (Suebkhampet et al., 2020). Tumbuhan ini sering dijumpai sebagai tanaman pagar yang menghiasi beberapa pekarangan rumah di Indonesia. Pemanfaatan bagian bunga dari tanaman ini masih terbatas sebagai teh herbal dan bahan pewarna makanan, sedangkan kandungan pigmen warna antosianin yang membuat bunga ini berwarna biru dapat dimanfaatkan sebagai alternatif bahan pengganti cat hematoksilin komersial yang ramah lingkungan dan tentunya lebih murah. Pemanfaatan bunga telang sebagai bahan cat pengganti hematoksilin didasarkan pada adanya kandungan bahan fitokimia penting dari bunga telang yaitu antosianin. Antosianin ialah senyawa dari keluarga *flavanoid* yang sifatnya sebagai antioksidan dan memberikan warna biru atau ungu. Antosianin mempunyai sifat antioksidatif yang dapat menghasilkan warna merah sampai biru. Antosianin berperan penting dalam memberikan warna petal bunga, daun, atau buah pada tumbuhan, warna yang terbentuk yaitu merah, orange, ungu (Suryana, 2021). Pewarnaan rutin jaringan dengan memanfaatkan antosianin dari ekstrak bunga telang menggunakan ekstrak bunga yang didapatkan dari proses ekstraksi kelopak bunga dan ditambahkan zat mordant diakhir proses

ekstraksi (Azka et al., 2021). Belum ditemukan data penelitian yang membahas tentang pemanfaatan bunga telang sebagai bahan pengganti hematoksilin.

Berdasarkan uraian di atas, tujuan penelitian ini untuk mempelajari dan membuktikan kegunaan ekstrak bunga telang yang dapat digunakan untuk mewarnai jaringan seperti cat hematoksilin pada pewarnaan rutin jaringan dengan melakukan penelitian pada bunga telang yang dibuat menjadi ekstrak bunga dan dibuat menjadi beberapa variasi konsentrasi larutan zat warna yang digunakan untuk mewarnai jaringan tubuh manusia.

METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimen murni dengan pendekatan kuantitatif. Seluruh variabel dikontrol dan disamaratakan karakteristiknya. Penelitian dilakukan di laboratorium LPTP-LAMDA UAD dan Laboratorium Patologi Anatomi Waskitha Yogyakarta. Sampel yang digunakan adalah ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan blok jaringan apendiks/usus buntu.

Alat

Mikrotom, waterbath, mikroskop, wadah pewarnaan, kaca benda, *cover glass*, *timer*, kamera, alat tulis, dan komputer, pH meter, alat *soxletasi*, oven, blender, erlenmeyer, dan botol kaca.

Bahan

Kelopak kering bunga telang 100 gr, etanol 700 ml, alkohol 70%, blok jaringan parafin, cat hematoksilin, *eosin*, *xylol*, alkohol 96%, air mengalir, NaOH 2 M, mordan potassium allum, dan entelan, ekstrak bunga pH 8,5 mengandung mordan *alumunium chlorida anhydron*, 5 ekstrak bunga yang telah diencerkan 5 tingkat.

Cara kerja

Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi *soxlet* untuk mendapatkan zat antosianin. Pengerjaan dilakukan dengan mengeringkan petal bunga telang kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk sebanyak 100 gram. Ekstraksi bunga telang dilakukan dengan melarutkan 100 gram bubuk bunga telang dalam etanol 700 ml, ekstraksi dilakukan selama 90 menit dan hasil ekstraksi disimpan dalam wadah bersih bertutup. Hasil ekstraksi dibasakan dengan menambahkan NaOH 2 M dalam 500 ml ekstrak pekat bunga, penambahan NaOH dilakukan bertahap hingga pH mencapai 8,5 skala pH yang diukur dengan pH meter. Setelah pH basa, ditambahkan mordan *alumunium chlorida anhydron* 2 gram, larutan dihomogenkan dan ditutup rapat.

Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak Bunga

Variasi pengenceran ekstrak bunga telang dengan alkohol dibuat pada konsentrasi (1:1) yaitu ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 25 ml, konsentrasi (1:2) yaitu ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 50 ml, konsentrasi (1:3) yaitu ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 75 ml, konsentrasi (1:4) yaitu ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 100 ml, dan konsentrasi (1:5) yaitu ekstrak bunga telang 25 ml : Alkohol 70 % 125 ml.

Pewarnaan Jaringan

Tahap pewarnaan diawali dengan proses deparafinasi, jaringan yang telah dibuat dicelupkan ke dalam *xylol* masing-masing selama 10 menit dan diulang tiga kali. Selanjutnya jaringan direhidrasi dengan mencelupkan ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi yang

bervariasi, pencelupan dimulai dari konsentrasi alkohol pekat (alkohol absolut) selama 1-2 menit, dilanjut dengan konsentrasi 95 %, 80 %, 60 % masing-masing 1-2 menit, semua jaringan yang telah direhidrasi dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya jaringan diwarnai dengan mencelupkan ke dalam tiap konsentrasi ekstrak bunga telang sebanyak 4 kali pengulangan dan dibuat pembanding hasil pewarnaan dengan pengecatan cat hematoksilin dan ekstrak induk bunga telang masing-masing jaringan dicelupkan selama 15 menit, seluruh jaringan dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit. Setelah itu jaringan dicelupkan ke dalam cat eosin selama 2-3 menit, dilanjutkan dengan tahap dehidrasi dengan mencelupkan jaringan ke dalam alkohol konsentrasi 95 % selama 3 menit, ke dalam alkohol absolut 3 menit, dan ke dalam alkohol absolut kembali selama lima menit. Sebelum diberi *mounting*, jaringan dicelupkan kembali dalam *xylool* masing-masing lima menit dalam dua wadah yang berbeda. Langkah terakhir yaitu mounting menggunakan DPX. Hasil pengecatan diamati di bawah mikroskop untuk melihat hasil pewarnaan pada komponen jaringan (Dey, 2019).

Analisis data

Pengolahan data penelitian dilakukan dengan Uji SPSS versi 25 Metode *Kruskall-Wallis* untuk menentukan *mean rank* hasil pemberian skor pewarnaan preparat dan nilai signifikan dalam pembuktian potensi ekstrak bunga telang sebagai pengganti hematoksilin. Pemberian skor hasil pewarnaan mengikuti ketentuan sesuai dengan tabel 1.

Tabel 1. Acuan Pemberian Skor

No.	Kriteria penilaian	Skala Interval	Skala Ordinal
1.	Penampakan jaringan yang telah diwarnai dengan ekstrak bunga telang tidak kontras, nukleus dan sitoplasma tidak jelas dan tidak kontras.	1	Buruk
2.	Penampakan jaringan yang telah diwarnai dengan ekstrak bunga telang tampak kurang kontras, perbedaan nukleus dan sitoplasma kurang jelas serta kurang kontras.	2	Cukup
3.	Penampakan jaringan yang telah diwarnai dengan ekstrak bunga telang tampak kontras, perbedaan nukleus dan sitoplasma tampak jelas dan kontras.	3	Baik

HASIL

Hasil penelitian didapatkan melalui proses pengumpulan data dengan metode observasi dan pemberian skor pada masing-masing hasil pewarnaan preparat jaringan. Penelitian dimulai pada tanggal 6 Juli 2024 di Laboratorium Virologi UNISA dengan melakukan pembuatan variasi konsentrasi cat ekstrak bunga telang. Selanjutnya penelitian dilakukan pada tanggal 7 Juli 2024 di Laboratorium Patologi Anatomi Waskitha dengan melakukan pembuatan preparat jaringan dan melakukan pewarnaan rutin hematoksilin konvensional serta cat dari ekstrak bunga telang. Hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dengan jumlah objek yang diteliti sebanyak 22 preparat jaringan apendiks atau usus buntu.

Hasil Pemberian Skor Pewarnaan Jaringan

Preparat yang telah diwarnai dengan ekstrak induk, ekstrak dalam 5 variasi konsentrasi, dan cat hematoksilin dinilai oleh dokter Spesialis Patologi Anatomi dan diberikan skor dengan hasil seperti pada tabel 2.

Tabel 2 tersaji data berupa 22 data hasil pemberian skor. Pewarnaan hematoksilin digunakan sebagai cat pembanding dengan skor baik. Pewarnaan yang cukup dapat dilihat pada jenis Cat induk, cat A, dan cat B. Pewarnaan yang buruk didapatkan pada jenis cat C, cat D,

dan cat E. Seluruh data skor penilaian preparat diolah dengan Uji *SPSS* versi 25 metode *Kruskall-Wallis* untuk menentukan *mean rank* dan nilai signifikan.

Tabel 2. Hasil Pemberian Skor pada Pewarnaan Rutin Jaringan

No	Jenis Cat	Pengulangan Preparat Ke-			
		1	2	3	4
1	Hematoksilin	3			
2	Cat induk	2			
3	Cat A	2	2	2	2
4	Cat B	2	2	2	2
5	Cat C	1	1	2	1
6	Cat D	1	1	1	2
7	Cat E	1	1	1	1

Keterangan Kriteria Pemberian Skor :

1. Buruk
2. Cukup
3. Baik

Tabel 3. Mean Rank Hasil Pewarnaan Slide Jaringan

No.	Jenis Cat	N	Mean Rank
1	Pembanding Hematoksilin	1	22,00
2	Larutan Induk	1	16,00
3	Pengenceran A (1:1)	4	16,00
4	Pengenceran B (1:2)	4	16,00
5	Pengenceran C (1:3)	4	8,13
6	Pengenceran D (1:4)	4	8,13
7	Pengenceran E (1:5)	4	5,50
Total		22	

Pengolahan data untuk mengetahui potensi ekstrak bunga telang sebagai pengganti hematoksilin dilakukan dengan Uji *SPSS* versi 25 metode *Kruskall Wallis*, didapatkan *mean rank* dari masing-masing kategori. *Mean rank* hasil pewarnaan dari cat hematoksilin 22,00, pewarnaan larutan induk 16,00, pengenceran (A) dan (B) masing-masing 16,00, pengenceran (C) dan (D) masing-masing 8,13, dan pengenceran terakhir (E) 5,50. Jenis cat yang paling mendekati *mean rank* cat hematoksilin adalah jenis cat induk, pengenceran (A), dan (B) dengan *mean rank* 16,00 sedangkan hematoksilin adalah 22,00. Pembuatan variasi ekstrak bunga telang memberikan kualitas pewarnaan yang berbeda signifikan yaitu 0,014 dengan Uji *SPSS* metode *Kruskall-Wallis*.

Tabel 4. Hasil Analisis Pengaruh Variasi Ekstrak Bunga Telang

<i>Kruskal-Wallis H</i>	15,989
df	6
<i>Asymp. Sig.</i>	(0,014)

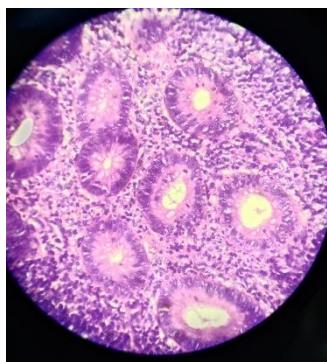
Berdasarkan aturan dasar pengambilan keputusan uji *Kruskall-Wallis* dengan nilai *Asymp. Sig.* < 0,05 hipotesis a diterima dan hipotesis 0 ditolak maka dapat dikatakan bahwa ekstrak bunga telang memberikan pengaruh terhadap cat pembanding hematoksilin.

PEMBAHASAN

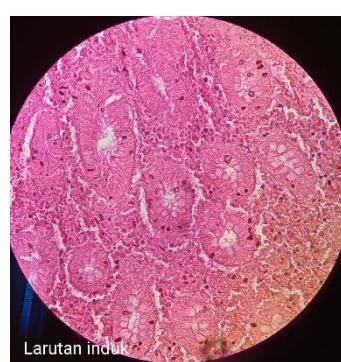
Hasil penelitian terhadap ekstrak bunga telang yang dimanfaatkan sebagai pengganti hematoksilin pada pewarnaan rutin jaringan menunjukkan bahwa ekstrak bunga dapat digunakan sebagai pengganti hematoksilin. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 2. yang menyajikan data hasil pemberian skor masing-masing preparat dengan pewarnaan

hematoksilin, ekstrak induk bunga telang, dan ekstrak bunga telang dalam 5 variasi konsentrasi. Berdasarkan skor tersebut dilakukan analisis *mean rank* pewarnaan dari 7 jenis cat untuk mengetahui jenis cat yang memberikan hasil paling baik dan mendekati *mean rank* dari cat hematoksilin sebagai cat pembanding. Hal tersebut didukung oleh penelitian Permatasari et al., (2023) yang meneliti potensi buah delima sebagai alternatif eosin dan menyatakan bahwa semakin tinggi *mean rank* ekstrak induk dan variasi serta paling mendekati *mean rank* cat eosin sebagai cat pembanding maka menunjukkan kualitas pewarnaan yang baik.

Pengolahan data pada Tabel 3. menunjukkan hasil pewarnaan yang memiliki *mean rank* mendekati rata-rata cat hematoksilin (22,00) yaitu larutan induk (16,00), pengenceran A (16,00), dan pengenceran B (16,00). Ketiga jenis cat tersebut dapat memberikan gambaran nukleus dan sitoplasma jaringan yang cukup saat diamati di bawah lensa mikroskop.

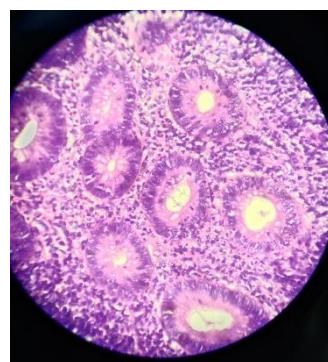


(a) Hematoksilin

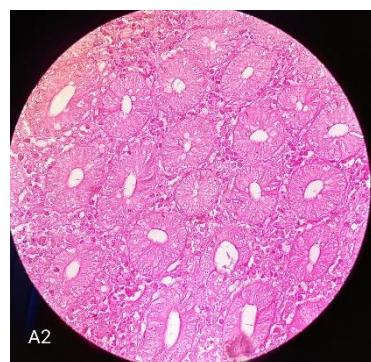


(b) Larutan Induk

Gambar 1. Konsentrasi Pewarnaan Hematoksilin dan Larutan Induk

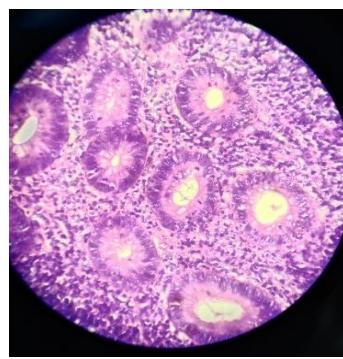


(a) Hematoksilin

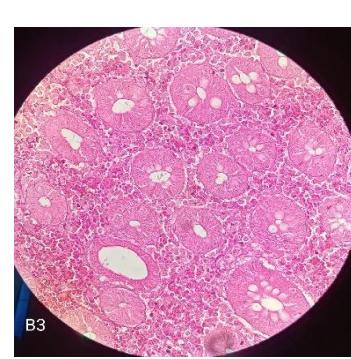


(b) Pengenceran A

Gambar 2. Konsentrasi Pewarnaan Hematoksilin dan Pengenceran A 1:1



(a) Hematoksilin



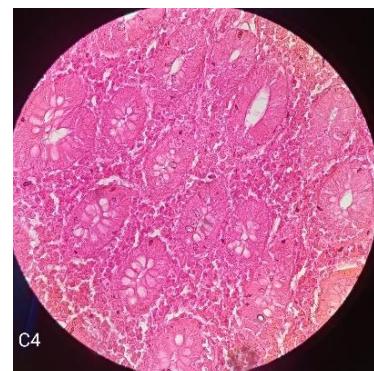
(b) Pengenceran B

Gambar 3. Konsentrasi Pewarnaan Hematoksilin dan Pengenceran B 1:2

Pengenceran C (8,13) dan pengenceran D (8,13) memiliki *mean rank* yang cukup jauh dari rata-rata hematoksilin (22,00), terdapat skor penilaian pada kedua jenis cat ini yang masuk kategori buruk. Pengenceran C dan D dapat mewarnai nukleus namun tidak sebaik pengenceran A dan B.

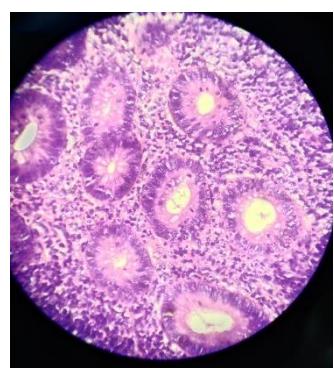


(a) Hematoksilin

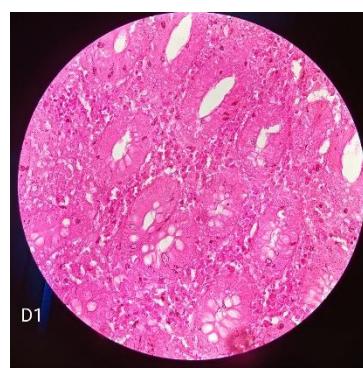


(b) Pengenceran C

Gambar 4. Konsentrasi Pewarnaan Hematoksilin dan Pengenceran C 1:3



(a) Hematoksilin



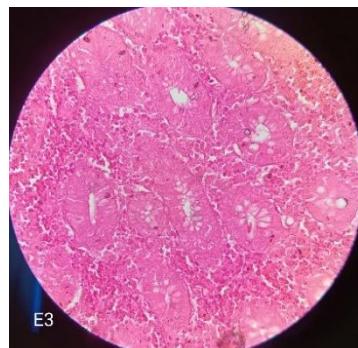
(b) Pengenceran D

Gambar 5. Konsentrasi Pewarnaan Hematoksilin dan Pengenceran D 1:4

Pengenceran E (5,50) memiliki rata-rata yang paling jauh dari hematoksilin (22,00) dan seluruh skor penilainnya mendapat kategori buruk, cat tidak mewarnai inti sel sehingga penampakan jaringan dominan merah muda karena cat eosin.



(a) Hematoksilin



(b) Pengenceran E

Gambar 6. Konsentrasi Pewarnaan Hematoksilin dan Pengenceran E 1:5

Potensi ekstrak bunga telang sebagai bahan pengganti hematoksilin diketahui dengan melakukan pembuatan variasi konsentrasi ekstrak bunga telang yang dibuat dari pelarutan ekstrak induk dengan alkohol 70%. Pengenceran ekstrak induk bertujuan untuk mengetahui

konsentrasi berapa yang memberikan hasil pewarnaan stabil dengan hasil pewarnaan mendekati hasil pewarnaan rutin hematoksilin. Hasil analisis data menggunakan Uji *SPSS* metode *Kruskall-Wallis* terhadap kemungkinan ekstrak bunga telang berpotensi menjadi pengganti hematoksilin dapat dilihat pada Tabel 4. didapatkan besaran nilai *Asymp.Sig.* sebesar $0,014 < \text{Asymp.Sig.} 0,05$. Pembuktian hipotesis yang berdasar pada uji *Kruskall-Wallis* mensyaratkan nilai *Asymp.Sig. < 0,05* sehingga H_a diterima dan menyatakan bahwa ekstrak bunga telang dapat digunakan sebagai bahan pewarnaan rutin jaringan menggantikan hematoksilin dengan nilai *Asymp.Sig.* sebesar 0,014.

Pemilihan bunga telang sebagai bahan pengganti hematoksilin didasarkan pada tujuan penelitian yaitu untuk menemukan bahan cat hematoksilin yang lebih murah ditemukan dan juga lebih murah biaya pengadaannya. Alasan tersebut sejalan dengan pendapat Sigh dalam Asra et al., (2021) yang menjelaskan bahwa standar yang dibutuhkan suatu bahan cat yang ideal yaitu murah, tahan lama, mudah dibersihkan, dan yang paling utama adalah tidak merusak lingkungan. Syarat yang harus dipenuhi dalam pemilihan bahan pengganti zat warna konvensional adalah ramah lingkungan, tersedia melimpah, murah, serta mudah dalam pembuatannya (Tirtasari & Prasetya, 2020).

Ekstrak bunga telang yang digunakan untuk mewarnai jaringan adalah ekstrak yang memiliki pH basa, hasil pewarnaan jaringan dengan ekstrak bunga yang tidak dibasakan dan yang telah dibasakan terlihat berbeda. Pendapat tersebut dikuatkan oleh penelitian Asyah et al., (2024) yang mengatakan bahwa hematoksilin merupakan cat yang bersifat basa dan akan berikatan dengan komponen sel yang sifatnya asam seperti DNA atau RNA. Apabila ekstrak tidak bersifat basa maka ekstrak tidak akan terserap dan berikatan dengan komponen sel yang sifatnya asam, perbedaan tersebut dapat dilihat pada gambar 6.



(a) Larutan Induk pH 8,5 dengan NaOH dan mordant



(b) Larutan Pekat pH 6 tanpa NaOH dan mordant

Gambar 4. (a) penampakan jaringan dengan warna keunguan dan nukleus keunguan yang terwarnai ekstrak berpH basa dan (b) penampakan jaringan yang diwarnai dengan ekstrak berpH netral tampak wananya dominan merah muda karena eosin.

Berdasarkan teori tersebut pembuatan cat ekstrak bunga telang ditambahkan reagen NaOH 2 M hingga pH mencapai 8,5 skala pH yang bertujuan untuk membaskan ekstrak warna agar cat dapat berikatan dengan bagian sel target yang memiliki pH asam. Selain faktor pH, faktor yang memengaruhi hasil pewarnaan jaringan dengan ekstrak alami adalah mordan. Hasil pewarnaan preparat pada Gambar 7. terlihat perbedaan penampakan antara jaringan (a) dengan nukleus terwarnai dan ada perbedaan jelas antar penyusun sel sedangkan gambar (b) nukleus tidak terwarnai dan tidak ada perbedaan antar penyusun sel. Penambahan zat mordan seperti *alumunium chloride anhydrat* 2 g dalam pembuatan pewarna alami dari ekstrak bunga telang bertujuan agar zat warna dapat terserap kedalam sel jaringan. Mordan memegang peran penting dalam pewarnaan menggunakan bahan alami karena menentukan sukses atau tidaknya proses pewarnaan. Hal ini sejalan dengan penjelasan mengenai fungsi zat mordan terhadap jaringan

yang diwarnai pada penelitian Asra et al., (2021) yang mengatakan bahwa bahan cat alami membutuhkan zat mordan untuk meningkatkan ikatan warna kedalam kromatin nukleus serta memberikan ikatan warna kompleks dan hasil pewarnaan yang stabil. Penelitian lain yang membahas tentang pentingnya mordan dalam pewarnaan adalah Munawaroh et al., (2022) yang mengatakan bahwa penambahan zat mordan berguna untuk mengikat warna alami secara sempurna agar tidak mudah luntur dengan memberikan ikatan kimia antara zat alam dengan substrat sehingga meningkatkan afinitas dan menghasilkan warna yang bagus. Penelitian yang dilakukan oleh Langenbacher et al., (2023) menguatkan alasan penggunaan mordan untuk mentabilkan kompleks warna zat warna dengan kromatin dalam nukleus.

Hal lain yang harus diperhatikan pada pembuatan ekstrak bunga telang yang digunakan sebagai bahan utama pembuatan zat warna adalah kondisi akhir ekstrak bunga pasca ekstraksi. Kandungan etanol dalam ekstrak harus dipastikan sudah dalam kadar minimal dan bentuknya semi cair cenderung kental. Hasil ekstraksi metode *soxlet* selama 90 menit pada penelitian ini cenderung cair sebanyak 600 ml dari bahan yang digunakan berkisar 100 g berat kering dilarutkan dalam 700 ml etanol. Konsistensi ekstrak yang masih cair menyebabkan hasil pewarnaan jaringan kurang maksimal karena kandungan antosianin yang menjadi bahan utama pewarnaan kurang pekat. Pemilihan metode *soxlet* didasarkan pada alasan kecepatan waktu ekstraksi dan optimalisasi penggunaan pelarut, ekstraksi bunga telang menggunakan pelarut yang mudah menguap, mampu melarutkan antosianin, tahan panas, serta bersifat polar. Penelitian yang dilakukan oleh Junaidi & Fatria, (2022) menyatakan bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka kadar antosianin akan semakin menurun, penurunan kadar tersebut dikarenakan adanya kerusakan antioksidan di dalam ekstrak yang dipengaruhi oleh lama dan peningkatan suhu pemanasan yang lama, hal tersebut yang menguatkan alasan pemilihan metode, lama waktu, dan pelarut dalam penelitian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dijabarkan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga telang berpotensi menjadi pengganti hematoksilin dalam pewarnaan rutin jaringan, terdapat perbedaan hasil pewarnaan pada masing-masing variasi konsentrasi ekstrak bunga telang yang digunakan untuk mewarnai preparat, dan ekstrak bunga yang dibuat mampu mewarnai nukleus dengan cukup baik

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Ibu dari Laboratorium LPTP-LAMDA UAD, ATLM di Laboratorium Patologi Anatomi Waskitha yang telah mendampingi peneliti dalam melakukan penelitian, dan juga dokter dari Laboratorium Patologi Anatomi Waskitha yang telah membantu dalam melakukan pembacaan dan pemberian skor hasil pewarnaan jaringan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M., & Mohammedsaleh, Z. M. (2015). Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science*, 8(3), 72–79. <https://doi.org/10.5539/gjhs.v8n3p72>
- Apriani, Andrianus, & Marisca, S. (2023). Ez Prep Concentrate (Ez Prep) Sebagai Alternatif Reagen Deparafinasi Pada Pewarnaan Hematoksilin Eosin. *G-Tech : Jurnal Teknologi Terapan*, 7(1), 96–102.
- Asra, R., R, R., Fitrina, I. K., & Nessa, N. (2021). Application of Red Dragon Fruit Dyes as Staining in Histological Study. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and*

- Development*, 9(6), 48–55. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v9i6.1045>
- 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* ..., 220–228. <https://jurnal.iakmikudus.org/article/view/189%0Ahttps://jurnal.iakmikudus.org/article/download/189/137>
- Azka, E. N., Mandasari, A. A., & Santoso, S. D. (2021). Comparison of Natural Dyes from Telang Flower Extracts (*Clitoria ternatea* L) as a Substitute for Methylen Blue in Diff Quik Painting. *Procedia of Engineering and Life Science*, 1(2). <https://doi.org/10.21070/pels.v1i2.990>
- Dey, P. (2019). Basic and advanced laboratory techniques in histopathology and cytology. In *Journal of Histotechnology* (Vol. 42, Issue 1). <https://doi.org/10.1080/01478885.2019.1559501>
- Junaidi, R., & Fatria, D. (2022). Ekstraksi Zat Warna Alami Bunga Telang dengan Metode Ekstraksi Sokletasi. *Jurnal Hasil Penelitian Dan Ulasan Ilmiah*, 13, 22–30.
- Langenbacher, R. E., Horoszko, C. P., Kim, M., & Heller, D. A. (2023). Hematoxylin Nuclear Stain Reports Oxidative Stress via Near-Infrared Emission. *ACS Chemical Biology*, 18(5), 1237–1245. <https://doi.org/10.1021/acschembio.3c00156>
- Li, Y., Li, N., Yu, X., Huang, K., Zheng, T., Cheng, X., Zeng, S., & Liu, X. (2018). Hematoxylin and eosin staining of intact tissues via delipidation and ultrasound. *Scientific Reports*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30755-5>
- Munawaroh, S., Musdalifah, M., & Prasetyaningtyas, W. (2022). Pengaruh Mordan Terhadap Pencelupan Serat Tekstil Menggunakan Limbah Kayu Nangka (*Artocarpus Heterophylla* Lamk). *Fashion and Fashion Education Journal*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.15294/ffej.v11i1.18963>
- Permatasari, R., Putra, F. V., Maharani, S., Kesehatan, F. I., & Indonesia, U. P. (2023). *Potensi Buah Delima Merah (Punica Granatum L .) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin pada Pewarnaan Papanicolaou*. 2(1), 288–295. <https://doi.org/10.55123/sehatmas.v2i1.1204>
- Saraswati, & Rahmawati, Y. (2023). ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) Sebagai Alternatif Bahan Pewarna Histologi. *Jurnal Sains Dan Teknologi Laboratorium Medis*, 9(1), 1–5.
- Sari, Y. N., & Rahmawati, Y. (2021). Perbandingan Perasan Jeruk (*Citrus sp.*) Dan Xylol Sebagai Agen Deparafinasi Sediaan Jaringan Dengan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin. 15.
- Suebkhampet, A., Sotthibandhu, P., & Laoharatchathanin, T. (2020). Butterfly pea flower extract as an alternative dye in cytological canine mast cell tumor staining. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 50(4), 473–478. <https://doi.org/10.56808/2985-1130.3051>
- Suryana, M. R. (2021). Ekstraksi Antosianin Pada Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.): Sebuah Ulasan. *Pasundan Food Technology Journal*, 8(2), 45–50. <https://doi.org/10.23969/pftj.v8i2.4049>
- Tirtasari, N. L., & Prasetya, T. (2020). Pengaruh Rasio Berat Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dan Volume Pelarut Asam Sitrat terhadap Pewarnaan Preparat Jaringan Tumbuhan. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 9(3), 201–204.