

PERBANDINGAN PEWARNAAN TELUR STH MENGGUNAKAN BAYAM MERAH (*AMARANTHUS TRICOLOR L.*) PADA SUHU DINGIN SELAMA PENYIMPANAN

Nilna Khilwatul Khusna^{1*}, Monika Putri Solikah², Novita Eka Putri³

Program Studi Sarjana Terapan Teknologi laboratorium Medis, Fakultas Ilmu kesehatan, Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta^{1,2,3}

*Corresponding Author : nilnakhilwah@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi kecacingan yang disebabkan oleh *Soil-Transmitted Helminths* (STH) masih menjadi masalah kesehatan masyarakat secara global. Berdasarkan data WHO tahun 2023, sekitar 1,5 miliar orang atau 24% populasi dunia terinfeksi cacing jenis ini. Identifikasi mikroskopis telur cacing umumnya dilakukan menggunakan metode natif karena metode ini bersifat sensitif, mudah, murah, dan cepat. Pewarna eosin 2% sering digunakan dalam metode ini untuk membantu visualisasi morfologi telur. Namun, penggunaan bahan kimia sintetis seperti eosin mendorong pencarian alternatif pewarna alami yang lebih ramah lingkungan. Salah satu kandidat potensial adalah ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) yang mengandung pigmen betacyanin dan antosianin. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil pewarnaan sediaan telur cacing STH menggunakan ekstrak bayam merah yang disimpan selama 5, 7, dan 10 hari pada suhu dingin (4°C), dengan eosin 2% sebagai kontrol. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan tiga perlakuan penyimpanan. Data dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dan *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bayam merah memiliki potensi sebagai pewarna alami, meskipun efektivitasnya menurun setelah penyimpanan lebih dari 5 hari akibat degradasi antosianin. Stabilitas warna dipengaruhi oleh pH, suhu, dan paparan cahaya. Simpulan dari penelitian ini adalah ekstrak bayam merah efektif digunakan sebagai pewarna alternatif eosin, terutama jika digunakan dalam jangka waktu penyimpanan pendek maksimal 5 hari pada suhu dingin.

Kata kunci : bayam merah, suhu dingin, telur cacing STH

ABSTRACT

*Worm infections caused by Soil-Transmitted Helminths (STH) remain a global public health problem. According to WHO data from 2023, approximately 1.5 billion people, or 24% of the world's population, are infected with this type of worm. Microscopic identification of helminth eggs is generally performed using native methods because this method is sensitive, easy, inexpensive, and fast. 2% eosin dye is often used in this method to help visualize egg morphology. However, the use of synthetic chemicals such as eosin has encouraged the search for alternative, more environmentally friendly natural dyes. One potential candidate is red spinach (*Amaranthus tricolor L.*) leaf extract, which contains betacyanin and anthocyanin pigments. This study aims to compare the staining results of STH worm egg preparations using red spinach extract stored for 5, 7, and 10 days at a cold temperature (4°C), with 2% eosin as a control. This study was experimental with three storage treatments. Data were analyzed using the Shapiro-Wilk normality test, followed by the Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests. The results showed that red spinach extract has potential as a natural dye, although its effectiveness decreased after storage for more than 5 days due to anthocyanin degradation. Color stability was affected by pH, temperature, and light exposure. The conclusion of this study is that red spinach extract is effective as an alternative dye to eosin, especially when used for short storage periods of up to 5 days at cold temperatures.*

Keywords : red spinach, cold temperature, STH worm eggs

PENDAHULUAN

Cacingan masih menjadi salah satu isu kesehatan yang signifikan secara global, terutama di wilayah negara berkembang. Infeksi ini umumnya disebabkan oleh cacing nematoda usus

yang menyebar melalui media tanah, yang dikenal dengan istilah *Soil-Transmitted Helminths* (STH). Beberapa spesies STH yang paling sering menjangkiti manusia antara lain *Ascaris lumbricoides* (cacing gelang), *Trichuris trichiura* (cacing cambuk), serta *Ancylostoma duodenale* dan *Necator americanus* (cacing tambang) (Nasir *et al.*, 2024). Siklus hidup parasit ini membutuhkan tanah sebagai tempat berkembang dari tahap belum infektif menjadi infektif. Lingkungan tanah yang lembap dan kaya bahan organik sangat mendukung proses tersebut. Penularan ke manusia umumnya terjadi ketika kulit atau mulut bersentuhan dengan tanah yang telah terkontaminasi telur cacing. Telur tersebut berasal dari feses penderita yang mencemari lingkungan, dan dalam waktu kurang lebih tiga minggu akan berkembang menjadi bentuk infektif. Jika menempel pada bahan makanan seperti sayuran dan tidak dibersihkan atau dimasak dengan benar, telur cacing dapat masuk ke tubuh manusia (Hidayati *et al.*, 2017).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2023, sekitar 1,5 miliar orang, atau sekitar 24% dari populasi global, terinfeksi *Soil-Transmitted Helminth* (STH). Di Indonesia, hasil survei Kementerian Kesehatan di sejumlah provinsi menunjukkan bahwa prevalensi kecacingan pada anak-anak berkisar antara 60% hingga 90%. Tingginya angka infeksi ini dipengaruhi oleh kondisi geografis Indonesia yang beriklim tropis, dengan kelembapan tinggi dan tanah yang subur, sehingga menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan cacing secara optimal. (Nisa *et al.*, 2024). Tingginya prevalensi infeksi kecacingan disebabkan oleh sejumlah faktor seperti sanitasi yang tidak memadai, kontaminasi tanah oleh telur cacing, kepadatan penduduk yang tinggi, serta kondisi iklim panas dan lembap turut memfasilitasi penyebaran infeksi cacing (Nasir *et al.*, 2024). Diagnosis penyakit kecacingan dilakukan melalui pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik (Daeli *et al.*, 2021).

Pemeriksaan laboratorium menjadi penting karena gejala klinis yang muncul sering kali tidak spesifik dan tidak cukup untuk menegakkan diagnosis secara pasti. Pemeriksaan yang sering dilakukan untuk mendeteksi adanya telur cacing pada tubuh seseorang yaitu pemeriksaan feses (Suraini & Sophia, 2022). Pemeriksaan makroskopik dilakukan untuk melihat fisik feses, sedangkan pemeriksaan mikroskopis terdiri atas pemeriksaan kualitatif dan kuantitatif. Pemeriksaan kualitatif dilakukan dengan menggunakan teknik seperti sediaan tebal, flotasi, natif (*direct slide*), sedimentasi, dan metode selotip. Sedangkan pemeriksaan kuantitatif dilakukan dengan metode flotasi kuantitatif, Stoll, dan Kato-Katz (Nasir *et al.*, 2024). Gold standar pada pemeriksaan telur cacing STH yang biasa digunakan yaitu metode natif (kualitatif), dikarenakan memiliki kelebihan sensitif, murah, mudah dan cepat. Metode natif dapat menggunakan pewarna eosin 2% dengan tujuan menilai morfologi telur cacing dalam sediaan (Nisa *et al.*, 2024).

Larutan eosin memberikan lapang pandang berupa warna kekuningan pada telur cacing dan warna merah pada bagian latar. Kelemahan dari penggunaan eosin dalam pewarnaan langsung adalah reagen yang digunakan banyak, kurang ramah terhadap lingkungan, risiko iritasi saluran pernapasan, kulit, dan mata sehingga diperlukan alternatif lain sebagai pengganti eosin yang lebih aman terhadap lingkungan dan pekerja. salah satu alternatif pengganti eosin yaitu pewarna alami. Bahan alami yang dapat digunakan sebagai pewarna salah satunya berasal dari tumbuhan (Nadhira *et al.*, 2023). Tumbuhan yang berpotensi sebagai pewarna alami adalah bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*), yang mengandung pigmen antosianin sebagai komponen utama pemberi warna. (Hasanuddin *et al.*, 2022). Beberapa penelitian membuktikan bahwa zat antosianin pada tumbuhan tertentu dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami pengganti eosin dalam proses pewarnaan. Antosianin termasuk dalam kelompok senyawa flavonoid yang bersifat larut dalam air dan menghasilkan spektrum warna seperti merah, oranye, biru, dan violet. Antosianin pada pH rendah akan menghasilkan pigmen merah, dan pada pH tinggi menghasilkan pigmen violet (Saati, *et al.*, 2019). Proses pengolahan kandungan antosianin penting untuk memperhatikan kestabilannya, karena sifat antosianin yang sensitif

terhadap suhu tinggi dan paparan cahaya, namun lebih stabil dalam kondisi pH rendah, maka penting untuk memperhatikan kondisi penyimpanan ekstrak bayam merah pada suhu dingin agar kualitas dan efektivitasnya sebagai pewarna alami tetap terjaga (Artanti *et al.*, 2024).

Suhu dan lama penyimpanan merupakan faktor penting yang dapat memengaruhi kualitas hasil pemeriksaan, terutama pada bahan biologis yang mudah rusak. Menyimpan bahan pada suhu dingin dapat memperlambat kerusakan, mengurangi pengaruh, dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang bisa menurunkan kualitas bahan. Dengan penyimpanan yang tepat, bahan dapat tetap terjaga mutunya hingga digunakan. Salah satu cara efektif untuk menjaga kesegaran bahan adalah menyimpannya pada suhu rendah. Suhu sekitar 4°C terbukti mampu memperlambat aktivitas kimia di dalam bahan, memperlambat proses pembusukan, dan mencegah pertumbuhan mikroba. Oleh karena itu, menjaga suhu penyimpanan tetap stabil sangat penting agar bahan tetap dalam kondisi baik sampai waktu pemeriksaan (Blongkod *et al.*, 2016).

Menurut penelitian Daeli *et al.* (2021), buah bit memiliki potensi sebagai pewarna alami alternatif yang dapat dimanfaatkan dalam proses pewarnaan mikroskopis karena kandungan pigmen alaminya, di mana penggunaan pada konsentrasi 95% mampu menghasilkan warna yang kontras dengan latar belakang, sehingga memungkinkan struktur morfologi telur dapat diamati dengan lebih jelas dan detail di bawah mikroskop. Meskipun demikian, larutan buah bit memiliki keterbatasan dalam hal penyimpanan. Intensitas warna mengalami penurunan baik saat disimpan pada suhu ruang maupun suhu dingin, meskipun waktu penurunan bervariasi. Untuk mempertahankan kualitas warna, penyimpanan pada suhu dingin disarankan tidak melebihi hari ke-7. Berdasarkan uraian tersebut, melatarbelakangi dilakukannya penelitian mengenai pemeriksaan telur cacing STH menggunakan bahan alami yang berbeda yaitu ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor L*) yang disimpan pada suhu dingin selama penyimpanan sebagai alternatif pewarnaan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas pewarna alami ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor L*) berdasarkan lama waktu penyimpanan pada suhu dingin.

METODE

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental dengan pendekatan deskriptif kuantitatif. Populasi penelitian adalah sampel feses dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Sampel yang digunakan berupa feses positif telur cacing STH, yang dibuat menjadi 24 preparat. Masing-masing preparat dikenai 3 perlakuan, sesuai hasil perhitungan menggunakan rumus Federer diperoleh bahwa nilai *n* atau jumlah ulangan minimum adalah 6. Dengan demikian, penelitian ini memerlukan sedikitnya 6 kali ulangan pada setiap kelompok perlakuan.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta dan Laboratorium Fitomedisin Universitas Muhammadiyah Yogyakarta pada Oktober 2024 hingga Mei 2025. Variabel bebas adalah metode natif dengan pewarna ekstrak bayam merah dan eosin sebagai kontrol, dengan waktu penyimpanan 5, 7, dan 10 hari pada suhu dingin. Variabel terikat yaitu kualitas sediaan telur cacing STH. Data yang diambil merupakan data primer yang diperoleh dengan pemeriksaan di Laboratorium yang dilakukan secara langsung dengan sampel feses menggunakan metode natif (*direct slide*) dengan pewarna alternatif ekstrak bayam merah yang diencerkan dengan perbandingan 1:1. Selanjutnya, data yang diperoleh disesuaikan dengan kriteria baik dan kurang baik berdasarkan hasil pengamatan yang dimasukkan ke dalam tabel. Pemeriksaan data dilakukan oleh tiga orang sebagai verifikator dan divalidasi oleh satu orang ATLM.

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroskop, neraca analitik, pipet tetes, pH meter, refrigerator, hot plate, showcases, autoklaf, oven, wadah maserasi, *Rotary*

Evaporator, botol wadah ekstrak, erlenmeyer, gelas ukur, kertas saring, objek glass, deck glass, lidi, blender, label, tisu, mortar, dan spidol. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel feses positif telur cacing STH, daun bayam merah kering, serta reagensia berupa eosin 2%, etanol 96%, HCl 0,1 M, dan aquadest. Analisis data dilakukan menggunakan Uji Mann-Whitney dan Uji Kruskal-Wallis. Penelitian ini telah memperoleh sertifikat etik dari Komite Etika Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta.

Prosedur Pembuatan Ekstrak Bayam Merah Metode Maserasi

Persiapan pembuatan ekstrak daun bayam merah diawali dengan dicuci hingga bersih, daun bayam merah kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C. Daun yang sudah dikeringkan di blender hingga halus dan disaring menjadi bubuk halus. Sebanyak 200 gram bubuk daun bayam merah ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah gelap, lalu direndam dengan 1000 ml etanol 96%. Sebelum dicampurkan, etanol diasamkan hingga pH 3 dengan menggunakan HCl 0,1 M. Larutan tersebut kemudian ditutup dengan aluminium foil, dihomogenkan, dan dibiarkan selama 3×24 jam dengan pengadukan setiap 24 jam. Setelah proses perendaman selesai, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan evaporator hingga menjadi ekstrak bayam merah kental. Ekstrak tersebut selanjutnya diencerkan dengan aquadest dalam perbandingan 1:1 (5 gram ekstrak bayam merah dan 5 ml aquadest).

Penyimpanan Larutan Ekstrak Bayam Merah

Ekstrak bayam merah yang sudah menjadi larutan di simpan pada suhu dingin (4-8°C) dingin selama 5 hari, 7 hari, dan 10 hari.

Prosedur Pembuatan Preparat

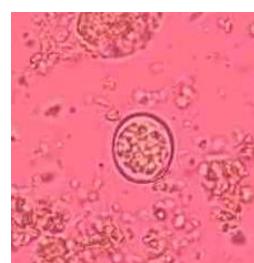
Cara kerja Pemeriksaan telur cacing STH metode natif dengan pewarnaan eosin 2%, dan ekstrak daun bayam merah yaitu disiapkan objek glass dan dibersihkan agar tidak berlemak, kemudian 1 tetes eosin/ekstrak bayam merah diletakkan di atas masing-masing objek glass. Menambahkan sampel feses secukupnya menggunakan lidi yang diletakkan pada eosin dan ekstrak bayam yang sudah ada di atas masing-masing objek glass. Mencapurkan dan meratakan dengan lidi. Selanjutnya, preparat ditutup dengan deck glass hingga seluruh bagian sampel tertutup merata dan tidak terdapat gelembung udara. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x hingga 40x.

HASIL

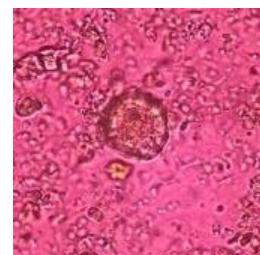
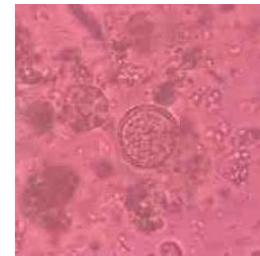
Hasil penilaian sediaan dengan pewarnaan menggunakan eosin 2%, dan ekstrak bayam merah dapat dilihat pada data hasil penelitian setiap perlakuan berikut :



(a) Telur *Ancylostoma duodenale* Eosin 2%
(perbesaran 40x)



(b) Telur *Ancylostoma duodenale* Bayam merah hari ke-5
(perbesaran 40x)

(c) Telur *Ancylostoma duodenale* Eosin 2%
(perbesaran 40x)(d) Telur *Ascaris lumbricoides* (fertil) Bayam merah hari ke-7
(perbesaran 40x)(e) Telur *Ancylostoma duodenale* Eosin 2%
(perbesaran 40x)(f) Telur *Ascaris lumbricoides* (fertil) Bayam merah hari ke-10
(perbesaran 40x)

Berdasarkan hasil penelitian, Penggunaan ekstrak bayam merah sebagai pewarna alternatif dalam pemeriksaan telur cacing STH dengan variasi waktu penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1. Analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan antara ekstrak yang disimpan selama 5, 7, dan 10 hari dibandingkan dengan eosin sebagai kontrol.

Tabel 1. Penilaian Kualitas Pewarnaan Telur Cacing STH Berdasarkan Variasi Waktu Penyimpanan

No sampel	Penyimpanan ekstrak bayam merah			Kontrol Eosin
	Hari ke-5	Hari ke-7	Hari ke-10	
Sediaan 1	2	1	1	2
Sediaan 2	2	1	1	2
Sediaan 3	2	2	1	2
Sediaan 4	2	1	1	2
Sediaan 5	2	1	1	2
Sediaan 6	2	1	1	2

Keterangan (Permatasari *et al.*, 2021) :

Skor 1 : diberikan apabila lapang pandang kurang kontras, telur cacing kurang menyerap warna, bagian telur cacing kurang jelas.

Skor 2 : diberikan apabila lapang pandang kontras, telur cacing menyerap warna, bagian telur cacing jelas terlihat.

Selanjutnya, Data dianalisis dengan Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* dan diketahui tidak terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan signifikan antar tiga perlakuan, dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas Pada Proses Pewarnaan Telur Cacing STH Berdasarkan Variasi Waktu Penyimpanan

Uji Normalitas <i>Shapiro wilk</i>	Perlakuan	Sig.
Nilai	Kontrol Positif	
	Penyimpanan hari ke-5	<, 001
	Penyimpanan hari ke-7	
	Penyimpanan hari ke-10	

Tabel 3. Hasil Uji Kruskal-Wallis Perbedaan Peringkat Rata-rata Kualitas Pewarnaan Telur Cacing STH Berdasarkan Variasi Waktu Penyimpanan

Uji Kruskal-wallis	Perlakuan	Mean Rank
Nilai	Kontrol Positif	18.00
	Penyimpanan hari ke-5	18.00
	Penyimpanan hari ke-7	8.00
	Penyimpanan hari ke-10	6.00

Berdasarkan tabel 3, nilai mean rank tertinggi (18,00) diperoleh pada perlakuan kontrol (eosin 2%) dan ekstrak bayam merah yang disimpan selama 5 hari, menunjukkan kualitas pewarnaan terbaik. Semakin lama waktu penyimpanan, kualitas pewarnaan menurun, tercermin dari nilai mean rank yang lebih rendah.

PEMBAHASAN

Soil Transmitted Helminths (STH) adalah nematoda usus yang menginfeksi manusia melalui tanah. Beberapa jenis cacing yang termasuk dalam kategori ini antara lain *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, dan *Strongyloides stercoralis* (Artanti *et al.*, 2024). Dampak jangka panjang kecacingan dapat memicu kekurangan gizi yang berdampak pada buruknya status gizi, keterlambatan pertumbuhan, dan penurunan kemampuan kognitif. (Nasir *et al.*, 2024). Metode natif dengan reagen eosin 2% merupakan cara paling sederhana untuk mendeteksi telur cacing, namun eosin bersifat sulit terurai, mudah terbakar, dan berpotensi menghasilkan limbah yang membahayakan lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pewarna yang lebih ramah lingkungan, salah satunya melalui pemanfaatan zat pewarna alami dari tumbuhan (Salnus, *et al.*, 2021). Penelitian ini menggunakan Ekstrak bayam merah sebagai pewarna alternatif berdasarkan variasi penyimpanan dengan membandingkan hasil sediaan pada kontrol eosin 2%.

Berdasarkan gambar 1(a) dan 2(b), yang disajikan berupa hasil pewarnaan telur cacing *Ancylostoma duodenale* menggunakan eosin 2% (a) dan ekstrak bayam merah pada penyimpanan hari ke-5 (b). Gambar (a), eosin memberikan warna merah muda yang kontras serta nampak jelas struktur dan morfologi telur cacing *Ancylostoma duodenale*, Sementara itu pada gambar (b) menunjukkan bahwa ekstrak bayam merah menghasilkan warna sedikit keunguan yang jelas dengan lapang pandang kontras sehingga dapat dibedakan antara telur cacing dan kotoran. Gambar 3(c) dan 4(d) terlihat adanya perbedaan antara hasil pewarna eosin (c) dan ekstrak bayam merah pada penyimpanan hari ke-7 (d). Pewarna eosin (c) tetap konsisten dengan struktur telur cacing *Ancylostoma duodenale* terlihat jelas sedangkan pada gambar (d) ekstrak bayam merah menunjukkan penurunan intensitas warna dengan kontras yang melemah, dimana telur cacing *Ascaris lumbricoides fertile* nampak morfologi khasnya yaitu bentuk oval dengan cangkang tebal namun kurang jelas karena inti sel kurang bisa dibedakan dengan dinding sel telur. Hal ini menandakan adanya degradasi pigmen seiring waktu.

Gambar 5(e) dan 6(f) menunjukkan perbandingan kualitas pewarnaan antara eosin (e) dan ekstrak bayam merah pada penyimpanan hari ke-10 (f). Pewarnaan dengan eosin tetap memberikan hasil yang baik, telur *Ancylostoma duodenale* menyerap warna serta nampak jelas struktur telur dan dapat dibedakan antara dinding sel dan inti sel. Sementara ekstrak bayam merah menunjukkan penurunan kontras yang signifikan dengan warna yang memudar dan struktur telur menjadi kurang jelas sehingga sulit untuk membedakan antara telur cacing dengan kotoran. Penurunan efektivitas pewarnaan ekstrak bayam merah dapat dikaitkan dengan sifat kimia antosianin yang stabil pada pH 2-3 dan mengalami degradasi warna pada pH 4-5. Paparan suhu dan cahaya selama penyimpanan juga dapat mempercepat proses

degradasi. Stabilitas antosianin yang rendah dalam kondisi penyimpanan yang tidak ideal menyebabkan warna memudar, sehingga morfologi telur menjadi kurang jelas (Khairuddin *et al.*, 2020). Pada penyimpanan hari ke-7, hasil sediaan 3 menunjukkan pewarnaan yang baik dengan telur cacing STH tampak jelas dan kontras, sehingga mendapat skor 2, Sementara pada sediaan lain tampak kurang jelas karena tertutup kotoran, sehingga struktur telur seperti dinding dan inti sulit dibedakan. Meskipun ekstrak yang digunakan sama, perbedaan kualitas pewarnaan dapat disebabkan oleh perbedaan distribusi sampel, ketebalan preparat, atau teknik pembuatan sediaan. Menurut Sofia (2017) Telur cacing sulit terdeteksi apabila preparat terlalu tipis atau mengalami pengeringan terlalu cepat, yang dapat menyebabkan kerusakan morfologi telur. Selain itu, penurunan kualitas antosianin selama penyimpanan juga memengaruhi karena senyawa antosianin mudah terdegradasi akibat paparan suhu, cahaya, dan perubahan pH, sehingga efektivitasnya sebagai pewarna menurun.

Kejelasan telur cacing dilihat dari bagaimana tampilan seluruh bagian telur cacing dan kejelasan setiap bagian-bagian telurnya. Kecacatan morfologi telur cacing diluar pengaruh pewarnaan tidak mempengaruhi penilaian. Kecacatan telur cacing diluar faktor pewarnaan dapat terjadi seperti telur *infertile* yang hanya terdiri dari lapisan albumin dan hialin, telur *fertile decorticated* yang kehilangan lapisan albumin dan hanya menyisakan hialin dan vitelin. Sedangkan kecacatan telur yang dipengaruhi pewarnaan dapat terjadi dari kerusakan yang diakibatkan senyawa utama maupun pelarut yang digunakan dalam pewarnaan telur cacing, seperti terkikisnya bagian terluar dari telur, telur yang mengkerut akibat suasana yang terlalu asam maupun basa (Nadhira *et al.*, 2023).

Berdasarkan tabel 1, kualitas pewarnaan ekstrak bayam merah cukup baik pada hari ke-5 dengan sediaan memperoleh skor 2, Namun pada hari ke-7 dan ke-10, nilai skor menurun menjadi 1 menunjukkan penurunan kemampuan mewarnai telur cacing secara optimal. Sebaliknya, eosin tetap konsisten mendapatkan skor 2 pada semua sediaan. Hasil uji Kruskal-Wallis yang disajikan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil nilai *mean rank* kualitas pewarnaan tertinggi diperoleh oleh kontrol positif (eosin) dengan nilai 18.00, diikuti oleh pewarnaan hari ke-5 dengan ekstrak bayam merah dengan nilai yang sama dengan kontrol sebesar 18.00, kemudian hari ke-7 sebesar 8.00, dan nilai *mean rank* terendah pada hari ke-10 sebesar 6.00. Nilai *mean rank* antar perlakuan mencerminkan kualitas pewarnaan sediaan. Semakin tinggi nilai tersebut, semakin baik kualitas pewarnaan berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, seperti kontras terhadap lapang pandang, pewarnaan yang jelas pada telur cacing, serta terlihatnya bagian-bagian morfologi telur. Sebaliknya, nilai *mean rank* yang sama menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan antar perlakuan tidak berbeda (Zahra & Solikah, 2023). Perbedaan ini didukung oleh nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0,001 yang lebih kecil dari 0,05, sehingga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan terhadap kualitas sediaan antara tiga perlakuan, yaitu ekstrak bayam merah yang disimpan selama 5, 7, dan 10 hari.

Pewarna alami dengan ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor L*) berpotensi sebagai pewarna sediaan untuk pemeriksaan telur cacing *Soil Transmitted Helminth* (STH), Perbedaan kualitas pewarnaan dapat dipengaruhi oleh variasi konsentrasi dalam perlakuan pewarnaan (Oktari & Mu'tamir, 2017). Antosianin bersifat sensitif terhadap pH, sehingga dapat menghasilkan warna yang berbeda pada kondisi pH tertentu, yang berdampak pada perbedaan tampilan warna untuk setiap jenis telur (Singh *et al.*, 2020). Ini menguatkan bahwa ekstrak bayam merah paling efektif digunakan dalam jangka waktu pendek, khususnya hingga 5 hari setelah ekstrak dibuat dengan memperhatikan suhu penyimpanannya. Untuk meningkatkan stabilitas ekstrak bayam merah, beberapa strategi dapat diterapkan, seperti penyesuaian pH, penggunaan pelarut yang sesuai, dan penyimpanan dalam wadah gelap. Penelitian oleh Adam (2015) menunjukkan bahwa penambahan asam tertentu, seperti HCl 0,1 M, dapat menstabilkan kadar total antosianin dalam ekstrak bayam merah. Secara keseluruhan, ekstrak daun bayam merah memiliki potensi sebagai bahan pewarna alami alternatif penganti

eosin dalam identifikasi telur cacing pada sampel feses. Pengembangan lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan stabilitas dan efektivitasnya, sehingga ekstrak ini dapat menjadi pilihan yang lebih baik dalam pemeriksaan mikroskopis.

Meskipun penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak bayam merah efektif dimanfaatkan sebagai pewarna alami hingga hari ke-5, belum dilakukan pengujian kuantitatif terhadap kandungan antosianin seperti uji fitokimia atau spektrofotometri UV-Vis. Hal ini menjadi keterbatasan karena tidak diketahui secara pasti kadar senyawa aktif yang berperan dalam pewarnaan, sehingga degradasi warna hanya didasarkan pada observasi visual dan nilai skor pewarnaan. Penelitian lanjutan dengan analisis kandungan kimia akan membantu memahami sejauh mana penurunan antosianin memengaruhi kualitas pewarnaan mikroskopis (Aprian & Ereskadi, 2024). Evaluasi terhadap stabilitas ekstrak dalam berbagai bentuk sediaan, serta optimasi konsentrasi ekstrak terhadap kualitas pewarnaan, juga diperlukan agar ekstrak ini dapat diterapkan secara praktis dan luas sebagai alternatif eosin di laboratorium diagnostik.

Studi pada ekstrak antosianin buah lipote menegaskan pentingnya kondisi penyimpanan suhu rendah dan pH asam untuk menjaga stabilitas warna (Mellers, 2015). Selain itu, optimasi konsentrasi ekstrak sangat menentukan kualitas pewarnaan, seperti yang ditemukan pada ekstrak kulit manggis yang mampu mendekati hasil eosin sintetis dengan konsentrasi optimal (Rahmad, 2020). Formulasi sediaan juga berperan besar dalam menjaga intensitas warna, terbukti dari penelitian ekstrak *Hibiscus sabdariffa* yang berhasil menurunkan degradasi warna melalui penyesuaian formulasi (Budi et al., 2020). Dengan demikian, pengembangan ekstrak bayam merah harus menggabungkan analisis kandungan kimia, stabilitas sediaan, dan optimasi konsentrasi agar dapat diaplikasikan secara praktis dan aman sebagai alternatif eosin (Irukawa & Hanifa, 2020).

Potensi bioaktif antosianin yang juga memiliki sifat antioksidan pada ekstrak bayam merah tidak hanya memberikan warna merah alami tetapi juga membantu menjaga stabilitas warna selama penyimpanan dan aplikasi, sekaligus meningkatkan keamanan penggunaan pewarna alami dibanding eosin sintetis yang bersifat karsinogenik (Ni'mah et al., 2023). Penelitian ini menegaskan pentingnya pengembangan formulasi yang tepat untuk mempertahankan stabilitas antioksidan dan pigmen, termasuk teknik copigmentasi dan pengemasan yang melindungi dari cahaya dan oksidasi (Budi et al., 2020). Oleh karena itu, studi lanjutan yang komprehensif mengkaji kadar antosianin, sifat antioksidan, serta formulasi sediaan sangat penting untuk memastikan ekstrak bayam merah dapat diimplementasikan secara luas dan efektif sebagai alternatif eosin dalam laboratorium diagnostik modern (Irukawa & Hanifa, 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut : (1) Pewarnaan menggunakan ekstrak bayam merah efektif hingga hari ke-5 penyimpanan pada suhu dingin (4°C), dengan hasil kontras warna yang baik dan morfologi telur cacing yang jelas. (2) Pada hari ke-7, kualitas pewarnaan mulai menurun akibat degradasi senyawa antosianin, ditandai dengan warna yang melemah dan kontras yang berkurang. (3) Penyimpanan hingga hari ke-10 menyebabkan penurunan kualitas yang signifikan, warna memudar, dan struktur telur sulit diamati, sehingga ekstrak tidak lagi efektif digunakan. (4) Disarankan agar ekstrak bayam merah digunakan maksimal dalam waktu 5 hari penyimpanan untuk menjaga efektivitas sebagai pewarna alami dalam identifikasi telur cacing STH.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini, khususnya kepada kedua orang tua, dosen, pembimbing, dan

penguji Program Studi Sarjana Terapan TLM Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta, serta universitas atas fasilitas yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, D., H. (2015). Analisis Total Antosianin Dari Daun Bayam Merah (*Alternanthera Amoena Voss.*) Berdasarkan Pengaruh Penambahan Jenis Asam. *Jurnal Eduscience*, 2(2), 9-12.
- Aprian, & Ereskadi. (2024). Evaluasi pewarnaan ekstrak bayam merah sebagai alternatif eosin pada penelitian parasit cacing *Soil Transmitted Helminth* (STH). *Jurnal Laboratorium Diagnostik*, 12(1), 45-53.
- Artanti, L. Y., Sungkawa, H. B., Djohan, H., Nuswantoro, A., Alfianita, R., Yunda, L., 1, A., & Budi Sungkawa, H. (2024). Potensi Air Perasan Batang Bayam Merah (*Amaranthus Tricolor L*) Sebagai Alternatif Pewarnaan Telur Cacing *Soil Transmitted Helminth*. 4, 1033–1041. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 4(4), 4612-4616.
- Blongkod, N. A., Wenur, F., & Longdong, I. A. (2016). Kajian Pengaruh Pra Pendinginan Dan Suhu Penyimpanan Terhadap Umur Simpan Brokoli. *In Cocos*, 7(5), 1–10.
- Budi, S., Rahman, F., & Wicaksono, R. (2020). Formulasi dan stabilitas ekstrak antosianin *Hibiscus sabdariffa* sebagai pewarna alami alternatif eosin. *Jurnal Farmasi dan Sains*, 15(3), 200-209.
- Daeli, B. A., Yulianti, F., & Rosmiati, K. (2021). Modifikasi Larutan Buah Bit (Beta vulgaris 1.) sebagai Alternatif Pengganti Zat Warna Eosin 2% pada Pemeriksaan Telur Cacing STH (*Soil Transmitted Helminths*). *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 3(2), 223–226.
- Djohan, H., Pratama, V. A., & Salim, M. (2021). Perbedaan Variasi Waktu Rendaman Daun Bayam Merah (*Amaranthus gangeticus*) Pada pemeriksaan Telur Cacing Nematoda Usus Sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Eosin. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 10(2), 90–96.
- Hasanuddin, A. R. P., Aryandi, R., Suswani, A., & Harmawati, A. (2022). Optimasi Antosianin Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Sebagi Zat Warna Pada Pemeriksaan *Soil-Transmitted Helminth*. 226–238.
- Hidayati, F., Rifqoh, & Nurmansyah, D. (2016). Cemaran Telur Cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH) Pada Sayur Bayam, Kangkung, dan Sawi Yang Dijual Di Pasar Banjarbaru Tahun 2015. *Jurnal ERGASTERIO*, 04(01), 25 33.
- Irukawa, T., & Hanifa, K. (2020). Pengembangan pewarna alami dari ekstrak tumbuhan: Optimasi konsentrasi dan stabilitas untuk aplikasi histologi. *Jurnal Ilmu Biomedis*, 10(1), 33-41.
- Khairuddin, Baciang, J. N., Indriani, & Inda, N. I. (2020). Ekstraksi Dan Uji Stabilitas Zat Warna Alami Dari Bayam Merah (*Alternanthera amoena Voss.*). Kovalen: *Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 212-217.
- Mellers, A. (2015). Pengaruh kondisi penyimpanan terhadap stabilitas warna antosianin dalam ekstrak buah lipote. *Jurnal Kimia Terapan*, 9(4), 215-223.
- Nadhira, F., Rahmat, M., Sundara Mulia, Y., & Rismiarti, Z. (2023). Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis*) Sebagai Alternatif Pengganti Eosin Dalam Pemeriksaan Telur Cacing Golongan *Soil Transmitted Helminths*. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1), 165–171.
- Nasir, M., Rafika., Cleverine, Q., Hasan, Z. A., Nurdin., Askar, M., Herman. (2024). Analisis Hasil Pewarnaan Telur Cacing Menggunakan Pewarna Alternatif Filtrat Variasi Buah. *jurnal Medis Analis Kesehatan*. 15(1), 58-70.

- Ni'mah, N., Prasetyo, E., & Hartono, T. (2023). Aktivitas antioksidan antosianin dalam ekstrak bayam merah dan implikasinya terhadap stabilitas pewarna. *Jurnal Fitokimia dan Kesehatan*, 11(1), 85-92.
- Nisa, A. K., Solikah, M. P., & Astuti, T. D. (2024). Kualitas Pemeriksaan Telur Cacing *Soil Transmitted Helminth* Menggunakan Pewarna Alternatif Kunyit (*Curcuma Longa*). *Jurnal Kesehatan Tambusai*. 5(3), 8991–8997
- Oktari, A., & Mu'tamir, A. (2017). Optimasi air perasan buah merah (*Pandanus sp.*) pada pemeriksaan telur cacing. *Jurnal teknologi laboratorium*, 6(1), 8-17.
- Rahmad, Y. (2020). Ekstrak kulit manggis sebagai pewarna alternatif eosin yang aman dan ramah lingkungan di laboratorium. *Jurnal Diagnostik Medis*, 7(2), 58-66.
- Saati, E. A., Wachid, M., Nurhakim, M., Winarsih, S., & Abd. Rohman, M. L. (2019). Pigmen sebagai zat pewarna dan antioksidan alami: Identifikasi pigmen bunga. UMMPress.
- Salnus, S., Dzikra, A. and Zulfian, A. 2021. ‘Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) Sebagai Pewarna Alami Pada Pemeriksaan *Soil Transmitted Helminths* (STH) Metode Natif (*Direct Slide*). *Jurnal Kesehatan Panrita Husada*, 6(2), pp. 188–194.
- Sofia R. (2017). Perbandingan Akurasi Pemeriksaan Metode Direct Slide dengan Metode Kato-KATZ Pada Infeksi Kecacingan. *Jurnal Avverous*, 3(1), 1–14.
- Suoth, E. J., Sumantri, S., Rumondor, E., Margaretha, P., Saerang, M., & Tifani. (2021). Stabilitas Warna Ekstrak Daun Bayam Merah dan Aplikasinya dalam Sediaan Krim Tabir Surya. *Chemical Progress*, 14(2), 93–100.
- Suraini, & Sophia, A. (2022). Optimasi Air Perasan Ubi Jalar Ungu *Ipomea Batatas L.* Pada Pemeriksaan Telur Cacing. *Bioma : Jurnal Biologi Makasar*, 7(2), 8–13.