

Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) Konsentrasi 50% Sebagai Pengganti Eosin pada Pewarnaan Hematoksilin Sediaan Histomorfologi Ginjal Mencit (*Mus Musculus*)

Siti Nuryani¹, Sujono², Suyana³, Evi Fitriany⁴, Yunia Nafidhotul Lutviah⁵, Eni Kurniati⁶
^{1,2,3,4,5,6} Departement of Medical Laboratory Technology Polytechnic Ministry of Health Yogyakarta
Correspondent Author: Siti Nuryani, e-mail: siti.nuryani@poltekkesjogja.co.id

Published: August, 2025

ABSTRAK

Pewarnaan merupakan tahapan histoteknik yang bertujuan untuk membedakan morfologi dan warna pada jaringan. Eosin mengandung pikrat, potasium dikromat bersifat korosif, menyebabkan reaksi alergi, rasa terbakar pada hidung, kulit, mata dan tenggorokan. Penggunaan ekstrak tumbuhan kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) menjadi alternatif pewarnaan histologi karena ekstrak kayu secang lebih ramah lingkungan dan dapat terdegradasi secara alami sehingga aman digunakan jangka panjang. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) konsentrasi 50% dapat dijadikan sebagai pewarna pengganti eosin pada pewarnaan hematoksilin. Jenis penelitian ini menggunakan metode observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Penelitian ini menggunakan 2 kelompok perlakuan sehingga akan dibuat 12 sampel sediaan dan tiap sampel sediaan dibaca sebanyak 3 lapang pandang yang dinilai oleh 2 Dokter Spesialis Patologi Anatomi. Sehingga data yang didapatkan berjumlah 72 data. Data dianalisis secara deskriptif menggunakan tabel dan gambar. Hasil penelitian ini menunjukkan proses pewarnaan jaringan Ginjal menggunakan Hematoksilin Eosin dan Hematoksilin Ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) menghasilkan gambaran yang berbeda. Hematoksilin Eosin mendapatkan skor 7-9 yang dikategorikan Baik sedangkan Hematoksilin Ekstrak etanol kayu secang 4-6 yang dikategorikan Kurang baik. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) konsentrasi 50% tidak dapat dijadikan sebagai pengganti eosin pada pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) pada organ ginjal mencit (*Mus musculus*).

Kata Kunci: Pewarnaan Histologi, Jaringan Usus Mencit, Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*).

ABSTRACT

Staining is a histotechnical stage that aims to differentiate the morphology and color of the tissue. Eosin contains picrate, potassium dichromate is corrosive, causes allergic reactions, burning sensation in the nose, skin, eyes and throat. The use of sappan wood extract (*Caesalpinia sappan L.*) is an alternative histological staining because sappan wood extract is more environmentally friendly and can be degraded naturally so it is safe for long-term use. The purpose of this study was to determine whether ethanol extract of sappan wood (*Caesalpinia sappan L.*) with a concentration of 50% can be used as a substitute for eosin in hematoxylin staining. This study employed an observational method with a cross-sectional approach. Two treatment groups were used, resulting in 12 specimen samples, each with three visual fields assessed by two anatomical pathologists. A total of 72 data sets were obtained. The data were analyzed descriptively using tables and figures. The results showed that the kidney tissue staining process using hematoxylin and eosin and hematoxylin from sappan wood (*Caesalpinia sappan L.*) ethanol extract yielded different results. Hematoxylin and eosin obtained a score of 7-9, categorized as good, while hematoxylin and eosin obtained a score of 4-6, categorized as poor. The conclusion of this study is that ethanol extract of sappan wood (*Caesalpinia sappan L.*) at a concentration of 50% cannot be used as a substitute for eosin in hematoxylin and eosin (HE) staining of mouse (*Mus musculus*) kidneys.

Keywords: Histological Staining, Mouse Intestinal Tissue, Ethanol Extract of Secang Wood (*Caesalpinia sappan L.*).

© The Author(s). 2021 Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

PENDAHULUAN

Histoteknik merupakan metode atau cara pembuatan sajian histologi dari spesimen tertentu, yang akan melalui rangkaian proses sehingga dapat menjadi sajian yang siap untuk diamati maupun dianalisa. Kualitas sediaan histomorfologi termasuk aspek penting yang mempengaruhi hasil analisis dan interpretasi jaringan. Hasil yang baik dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan pada waktu masih hidup.

Hematoksilin-Eosin (HE) adalah salah satu pewarna jaringan yang umum digunakan dan memiliki prinsip sederhana. Pada dasarnya, komponen hematoksilin mewarnai inti sel menjadi biru-hitam, menunjukkan detail intranuklear yang baik, sedangkan eosin mewarnai sitoplasma sel dan sebagian besar serat jaringan ikat dalam berbagai corak dan intensitas merah muda, jingga, dan merah. Eosin memiliki kandungan fluorescein yang memberikan warna pink-kemerahan pada sitoplasma. Pewarna sintetis memiliki kelemahan antara lain harga yang mahal sementara itu penggunaannya relatif sedikit dan bahan akan rusak dalam waktu penyimpanan yang lama.

Pewarna sintetis mengandung bahan kimia seperti klorat hidrat, asam pikrat, potasium dikromat bersifat korosif, menyebabkan reaksi alergi, rasa terbakar pada hidung, kulit, mata dan tenggorokan. Eosin merupakan bahan kimia yang terdaftar sebagai zat kimia yang bersifat karsinogenik IARC kelas- 3, dimana kurang adekuat untuk bersifat karsinogen terhadap manusia tapi ada kemungkinan terhadap hewan sehingga zat warna eosin dapat merusak lingkungan. Paparan bahan kimia secara terus menerus juga tidak baik untuk kesehatan. Upaya mengurangi hal tersebut pengembangan pewarna alternatif, ramah lingkungan dan dapat terdegradasi secara alami sebagai pewarna histologi penting untuk dikembangkan.

Kayu secang mengandung senyawa brazilin berwarna merah pada pH 5- 6 sesuai dengan pH eosin yaitu asam. Pengambilan zat warna brazilin pada kayu secang diperoleh 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 di ekstrak 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.

Berdasarkan pada uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan pengamatan yang bertujuan untuk mengetahui penggunaan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) konsentrasi 50% dapat dijadikan sebagai pewarna pengganti eosin pada pewarnaan hematoksilin. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan ilmu pengetahuan, khususnya bidang Histoteknologi terutama dalam konteks pembelajaran praktik histoteknologi pada pemeriksaan mikroskopis jaringan ginjal.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini menggunakan metode observasional dengan pendekatan cross sectional. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu berupa 6 sampel sediaan per kelompok perlakuan, pada penelitian ini menggunakan 2 kelompok perlakuan sehingga akan dibuat 12 sampel sediaan dan tiap sampel sediaan dibaca sebanyak 3 lapang pandang yang dinilai oleh 2 Dokter Spesialis Patologi Anatomi. Sehingga data yang didapatkan berjumlah 72 data.

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer yaitu data yang dikumpulkan langsung oleh peneliti. Data ini diperoleh dari skor histomorfologi organ ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diwarnai menggunakan ekstrak etanol kayu secang 50% sebagai pengganti pewarna eosin 1% pada pewarnaan hematoxilin eosin. Semua data yang terkumpul akan disajikan dalam bentuk gambar dan tabel kemudian dianalisis secara deskriptif

Tabel 1. Kriteria Skor Pewarnaan Preparat Jaringan

No	Struktur	Kriteria Spesifik	Deskripsi	Skor		Sumber
				Skala Ordinal	Skala Interval	
1	Warna Inti sel	<i>Under/overstaining</i> pada HE	Warna inti sel tidak jelas atau pucat terdapat background standing	Tidak baik	1	Aryadi dan Suryono (2017)
			Inti sel berwarna biru-keunguan terlihat jelas	Baik	2	
2	Warna Sitoplasma	<i>Under/overstaining</i> pada HE	Warna sitoplasma merah pudar pucat, terdapat background standing	Tidak	1	Aryadi dan Suryono (2017)
			Warna sitoplasma merah muda terang	Baik	2	

Tabel 2. Kriteria Skor Histomorfologi Ginjal Mencit

No	Deskripsi	Skala Ordinal	Skor
1	Kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel tidak jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma tidak jelas, serta warna preparat tidak seragam dan semua sel tidak utuh sehingga tidak dapat didiagnosis.	Tidak baik	1
2	Kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel terlihat kurang jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma kurang jelas, serta warna preparat kurang seragam dan pada sebagian preparat sel tidak jelas tetapi masih dapat didiagnosis.	Kurang baik	2
3	Kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel terlihat sangat jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma sangat jelas, serta warna pada preparat seragam dan semua sel jelas sehingga dapat didiagnosis dengan jelas.	Baik	3

Sumber: Aryadi dan Suryono, 2017 dan Fadita, 2020

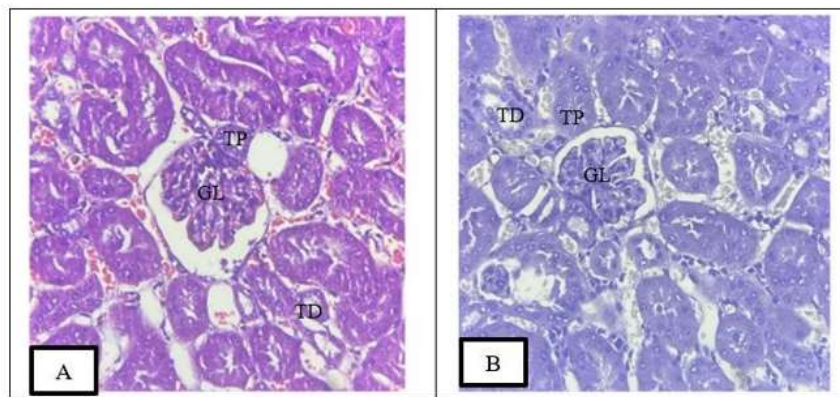
Tabel 1. Total Skor Histomorfologi Ginjal Mencit

NO	Deskripsi	Skor Total
1	Tidak baik	1-3
2	Kurang baik	4-6
3	Baik	7-9

Sumber: Prasetiawan dkk., 2012

HASIL DAN PEMBAHASAN

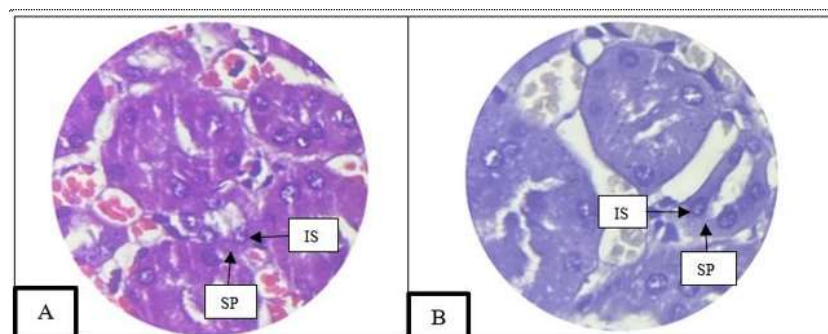
Pengamatan mikroskopis kualitas sediaan meliputi warna inti sel, warna sitoplasma. Beberapa gambaran mikroskopis Ginjal yang dilakukan proses pewarna Hematoksilin Eosin dan Hematoksilin Ekstrak etanol kayu secang konsentrasi 50%.



Gambar 1. (A) Hasil Pewarnaan Menggunakan Hematoksilin dan Eosin ;(B) Hasil Pewarnaan

Menggunakan Hematoksilin dan Ekstrak Etanol Kayu Secang dengan Perbesaran 400x.

Pengamatan secara mikroskopis pada gambar 9 menunjukkan tubulus proksimal (TP), tubulus distal (TD) dan glomerulus (GL) yang terlihat jelas dan dapat dikenali.



Gambar 2. (A) Hasil Pewarnaan Menggunakan Hematoksilin dan Eosin yang Menunjukkan Inti dan Sitoplasma; (B) Hasil Pewarnaan Menggunakan Hematoksilin dan Ekstrak Etanol Kayu Secang yang Menunjukkan Inti dan Sitoplasma.

Pengamatan secara mikroskopis pada gambar 10 menunjukkan Inti sel (IS) berwarna biru keunguan dan sitoplasma (SP) berwarna merah muda terang juga memiliki kontras yang jelas (A). Preparat ginjal

mencit (B) memiliki warna inti sel (IS) yang baik. Namun ditemukan daerah inti sel yang kurang baik pada beberapa lapang pandang. Pada sitoplasma (SP) didapati warna yang tidak baik terlihat sitoplasma tampak lebih pucat dan samar sehingga batas antar sel yang tidak terlalu jelas.

Tabel 4. Hasil Skor Histomorfologi Ginjal Mencit yang dilakukan Pewarnaan dengan Hematoksilin Eosin (HE) dan Hematoksilin Ekstrak Etanol Kayu Secang Konsentrasi 50% (HS).

Penilai	Total jaringan	Hasil
Observer 1 (HE)	6	Baik
Observer 2 (HE)	6	Baik
Observer 1 (HS)	6	Kurang baik
Observer 2 (HS)	6	Kurang baik

Penelitian oleh kedua observer dinilai dari kualitas warna inti dan warna sitoplasma. Masing-masing observer menilai sebanyak 6 sediaan. Total skor didapatkan dari penilaian 3 lapang pandang pada masing-masing sediaan. Penilaian Observer 1 pada pewarnaan Hematoksilin Eosin didapatkan 6 sediaan yang memiliki total skor 9 (baik). Penilaian Observer 2 pada pewarnaan yang sama didapatkan 6 sediaan yang memiliki skor 9 (baik).

Pewarnaan dengan Hematoksilin dan Ekstrak etanol kayu secang konsentrasi 50%. Penilaian Observer 1 didapatkan total skor 6 sebanyak 4 sediaan dan didapatkan total skor 5 sebanyak 2 sediaan kedua hasil tersebut masuk dalam kategori kurang baik. Penilaian Observer 2 didapatkan total skor 6 sebanyak 4 sediaan dan didapatkan total skor 4 sebanyak 2 sediaan kedua hasil tersebut masuk dalam kategori kurang baik.

Hasil pengamatan pewarnaan inti sel pada sediaan jaringan ginjal mencit dalam penelitian ini terdapat beberapa lapang pandang sediaan jaringan ginjal mencit yang diwarnai dengan hemtoksilin dan ekstrak etanol kayu secang terlihat kurang baik terlihat sitoplasma berwarna merah pucat. Hal ini dapat disebabkan karena pH larutan pewarna yang tidak sesuai sehingga menyebabkan denaturasi asam nukleat dan dinding sel yang mengalami penebalan juga dapat mempengaruhi kemampuan penyerapan zat warna, sehingga jaringan mempunyai kemampuan penyerapan pewarna yang berbeda-beda.

Sitoplasma yang tidak terwarnai dengan baik oleh ekstrak etanol kayu secang juga bisa disebabkan karena senyawa brazilin pada secang kemungkinan tidak dapat berinteraksi secara optimal dengan komponen sitoplasma pada ginjal mencit. Senyawa pewarna alami dapat bervariasi tergantung pada struktur dan interaksinya dengan komponen sel ^[10]. Sehingga bukan hanya pH yang mempengaruhi keberhasilan pewarnaan namun penting juga memperhatikan sifat dari senyawa pewarna alami.

Hasil ekstrak pada penelitian ini menunjukkan kekentalan yang tinggi dan padat, kemungkinan disebabkan karena semua senyawa dalam kayu terlarut, sehingga menghasilkan ekstrak yang lebih pekat. Kondisi ini menunjukkan bahwa penggunaan etanol pada saat ekstraksi serbuk kayu secang dapat menyebabkan pengendapan senyawa yang tidak diinginkan. Penggunaan air sebagai pelarut sesuai dengan

metode pewarnaan eosin dapat memberikan hasil yang lebih baik, karena air mampu melarutkan senyawa yang tanpa menyebabkan pengendapan.

Variabilitas dalam komposisi jaringan yang diwarnai juga dapat mempengaruhi hasil pewarnaan. Setiap jenis jaringan memiliki karakteristik unik yang dapat mempengaruhi interaksi dengan pewarna. Perbedaan dalam kandungan lipid, protein, dan asam nukleat dapat menyebabkan variasi dalam respons terhadap pewarnaan^[11]. Jika ekstrak kayu secang tidak dapat menyesuaikan dengan variasi ini, maka hasil pewarnaannya akan kurang memuaskan dibandingkan dengan eosin.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) konsentrasi 50% tidak dapat dijadikan sebagai pewarna pengganti Eosin pada pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) pada organ ginjal mencit (*Mus musculus*).

Saran :

1. Bagi petugas laboratorium

Tidak disarankan mengganti pewarna Eosin dengan Ekstrak etanol kayu secang pada pewarnaan histologi.

2. Bagi peneliti selanjutnya

- a. Mencari waktu aplikasi ekstrak kayu secang yang tepat untuk menghasilkan kualitas histomorfologi yang baik
- b. Mencari metode ekstraksi yang tepat supaya ekstraksi efisien

DAFTAR PUSTAKA

- Khristian, Erick, & Inderiati, Dewi. (2017). *Sitohistoteknologi*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Ariyadi, T., & Suryono, H. (2017). Kualitas sediaan jaringan kulit metode microwave dan conventional histoprocesing pewarnaan hematoksilin eosin. *Jurnal Labora Medika*, 1, 7-11.
- Bancroft, J., & Gamble, M. (2008). *Theory and Practice of Histological Techniques*. 6th edition. Churchill Livingstone, Cina: Elsevier.
- Oktari, A., & Mu'tamir, A. (2017). Optimasi Air Perasan Buah Merah (*Pandanus* sp.) Pada Pemeriksaan Telur Cacing. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6(1), 8-17.
<https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v6i1.85>
- Saraswati, & Rahmawati, Y. (2023). Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*) Sebagai Alternatif Bahan Pewarna Histologi. *Jurnal Sains Dan Teknologi Laboratorium Medis*, 9(1), 22–26.

- Wild, C. P., Weiderpass, E., & Stewart, B. W. (Eds.). (2020). World cancer report: Cancer research for cancer prevention. International Agency for Research on Cancer.
- Sukeksi, A., Isworo, J. T., Alvionita, D., & Putri, T. (2022). Pengaruh Waktu Pengecatan Menggunakan Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Terhadap Warna Sel Eritrosit Pada Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT). Prosiding Seminar Nasional UNIMUS, 1482–1489.
- Maulida, D., & Naufal, L. C. (2014). Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, n-heksana, aseton, dan etanol. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, 1(3), 1–8.
- Apriani, I. (2016). Pengembangan media belajar angkak beras merah dan teh (*Camellia sinensis*) sebagai pewarna alternatif preparat basah jaringan tumbuhan. Jurnal Bioilmi, 2(1), 1-10.
- Smith, J., Johnson, L., & Brown, A. (2019). Reactivity of natural dye compounds: Structural influences and cellular interactions. Journal of Natural Products, 82(4), 123-135.
- Rahmawati, N. D., Sari, K. N., & Astuti, P. (2021). Karakterisasi senyawa aktif brazilein dari kayu secang sebagai zat warna alami. Jurnal Kimia dan Farmasi Indonesia, 9(1), 22–29.