



Potensi Buah Delima Merah (*Punica Granatum L.*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin pada Pewarnaan Papanicolaou

Rita Permatasari¹, Fuji Verdian Putra^{2*}, Silvia Maharani³

^{1,2*,3}Program Studi D III TLM, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Perintis Indonesia, Padang, Indonesia

Email: permatasaririta36@gmail.com

Abstract

Red Pomegranate (*Punica granatum L.*) belongs to the Punicaceae family which contains anthocyanins. The color of the pomegranate is caused by flavanoids, namely anthocyanins. Anthocyanins are pigments that can be used as natural dyes and can replace synthetic dyes. This study aims to measure the absorption optimization of red pomegranate (*Punica granatum L.*) on chicken oral epithelial smears as an alternative stain for eosin in Papanicolaou staining. This type of research is a laboratory study. This chicken mouth swab sample was carried out 7 treatments per five fields of view, with variations in concentration, namely, Pure/mother solution, dilutions of 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, and Papanicolaou's solution as a comparison. The results showed that dilutions of 1:3, 1:4, 1:5 with a mean rank value (14.00) obtained the lowest results, while the results that were closest to the reference solutions were dilutions of 1:1, 1:2 with a mean rank value (17.00) whereas the staining using the Papanicolaou solution/comparison obtained the mean rank value (33.00). The conclusion of the results of this study was that the staining of the preparations was stained but not the same as the control or significantly different $0.001 \leq 0.016$.

Keywords: Anthocyanins, Papanicolaou, Red Pomegranate (*Punica granatum L.*)

Abstrak

Buah Delima Merah (*Punica granatum L.*) termasuk famili Punicaceae yang mengandung antosianin. Warna dari buah delima disebabkan oleh flavanoid yaitu antosianin. Antosianin merupakan pigmen yang dapat digunakan sebagai pewarna alami dan dapat menggantikan pewarna sintesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur optimalisasi penyerapan buah delima merah (*Punica granatum L.*) terhadap sediaan apusan epitel mulut ayam sebagai pewarnaan alternatif pengganti eosin pada pewarnaan papanicolaou. Jenis penelitian ini adalah *study laboratoric*. Sampel apusan mulut ayam ini di lakukan 7 perlakuan perlima lapang pandang, dengan variasi konsentrasi yaitu, Larutan Murni/induk, pengenceran 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, dan larutan *papanicolaou* sebagai pembanding. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengenceran 1:3, 1:4, 1:5 dengan nilai mean rank (14.00) mendapatkan hasil yang paling rendah, sedangkan hasil yang paling

mendekati larutan pembanding adalah pengenceran 1:1, 1:2 dengan nilai mean rank (17.00) sedangkan pewarnaan yang menggunakan larutan *papanicolaou*/pembanding didapatkan nilai mean rank (33.00). Kesimpulan hasil penelitian ini adalah pewarnaan sediaan terwarnai tetapi tidak sama dengan kontrol atau berbeda signifikan $0,001 \leq 0,016$.

Kata Kunci: Antosianin, Buah Delima Merah (*Punica granatum L.*), *Papanicolaou*

PENDAHULUAN

Sitologi ialah salah satu aspek yang berhubungan dengan ilmu yang mempelajari tentang morfologi sel-sel secara individual atau sel yang berasal dari fragmen jaringan yang diamati secara mikroskopis. Sebaliknya sitopatologi ialah cabang sitologi yang khusus mempelajari tentang kelainan morfologi akibat faktor lainnya. Benar atau tidaknya suatu diagnosis tergantung dari kualitas hasil sediaan sitologik yang dihasilkan. Sebaliknya untuk menghasilkan sediaan sitologik yang bagus maka kualitas persiapan materi untuk dijadikan sediaan wajib diketahui dengan benar (Sabirin, 2015)

Pengecatan jaringan menurut Prahanarendra, (2015) yaitu merupakan cara pemberian warna pada jaringan alhasil faktor jaringan menjadi kontras serta dapat diamati dengan mikroskop. Setiap bagian jaringan ataupun sel memiliki sifat yang khusus, sehingga afinitas atau daya serap terhadap zat warna berbeda-beda. Pewarna terbagi menjadi dua yaitu pewarna sintesis dan pewarna alami. Pewarna sintesis ialah pewarna yang terbuat dari bahan-bahan kimia (Prahanarendra, 2015)

Pewarna sintesis seperti, eosin bersifat asam yang akan memulas komponen *asidofilik* jaringan seperti *mitokondria*. Eosin mewarnai *sitoplasma* dan *kolagen* menjadi warna merah muda (Maretta, 2019)

Pewarna sintetis memiliki kelemahan antara lain ialah harga yang mahal sementara itu penggunaannya relatif sedikit dan bahan akan rusak dalam penyimpanan yang lama (Oktari & Mu'tamir, 2017) Penelitian dengan menggunakan bahan alam telah dikembangkan oleh Oktari dan ahmad tahun 2017 dari air perasan buah merah (*pandanus. sp*) sebagai pewarna alternatif

Indonesia ialah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman tumbuhan yang sangat luas. Di dalamnya terdapat jenis-jenis tumbuhan baik herbal, semak, maupun tumbuhan tahunan dengan ragam khasiat. Salah satunya merupakan tumbuhan yang sebagian organ atau keseluruhannya dapat menghasilkan zat warna yang bagus untuk pewarna makanan, minuman, tekstil maupun barang-barang kerajinan (Rostiana, 2012). Tumbuhan yang mengandung pigmen pewarna alami salah satunya adalah buah Delima merah (*Punica granatum L.*) yang memiliki Pigmen Antosianin bertanggung jawab atas pembentukan warna merah, ungu dan biru (Novera et al., 2019)(Kholisa et al., 2018)

Secara kimia *antosianin* ialah turunan struktur *aromatik* tunggal, ialah *sianidin*, serta keseluruhan nya terbentuk dari *pigmen sianidin* dengan penambahan atau pengurangan gugus *hidroksil*, *metilasi* dan *glikosilasi* (Sari et al., 2022). Antosianin merupakan senyawa yang bersifat *amfoter*, yaitu memiliki kemampuan untuk bereaksi baik dengan asam maupun dengan basa. Dalam media asam *antosianin* berwarna merah, dan pada media basa berubah menjadi ungu dan biru (Permatasari et al., 2021).

METODE

Jenis penelitian ini termasuk penelitian *Study Laboratoric*. Dalam penelitian ini variable yang diamati adalah Apusan *Epitel* Mulut Ayam dengan variasi konsentrasi pewarnaan dari perasan buah delima (*Punica granatum L.*) yaitu 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 dan Eosin sebagai kontrol atau pembanding. Konsep Riset ini memakai *Static Group Comparison*, ialah suatu golongan dikenakan perlakuan khusus, setelah itu diamati

pengaruh hasil dari masing-masing variasi konsentrasi pewarnaan. Penilaian kualitas sediaan pewarnaan *papanicolaou* pada pewarnaan alternatif pengganti Eosin pada perasan buah Delima Merah (*Punica granatum L.*)

Sediaan dilakukan per lima lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 40x10. Penilaian kualitas sediaan pewarnaan alternatif pengganti zat warna Eosin menggunakan perasan buah delima merah (*Punica granatum L.*) bisa dilihat pada Tabel 1 dibawah ini (Astuti,2017) :

Tabel. 1 Penilaian kualitas sediaan pada pewarnaan alternatif buah Delima Merah (*Punica granatum L.*)

No	Deskripsi	Skala Ordinal	Skala Interfal
1	Bentuk sel tidak jelas, intensitas warna sitoplasma tidak jelas, intensitas pada inti tidak jelas	Tidak baik	1
2	Bentuk sel kurang jelas, intensitas warna sitoplasma kurang jelas, intensitas warna inti kurang jelas	Kurang baik	2
3	Bentuk sel jelas, intensitas sitoplasma jelas, intensitas warna pada inti jelas	Baik	3
4	Bentuk sel pada sediaan sangat jelas, Intensitas warna pada sitoplasma sangat jelas	Sangat baik	4

Penelitian ini di lakukan di laboratorium Biomedik di Fakultas Kesehatan Universitas Perintis Indonesia. Pada bulan Maret-Juni 2021. Sampel yang di gunakan dalam penelitian ini adalah Apusan Epitel Mulut Ayam dengan perlakuan pewarnaan uji

Peralatan yang diperlukan untuk penelitian ini, yaitu : mikroskop cahaya dengan perbesaran 40 x 10, pipet tetes, *beaker glass* 50 ml, *beaker glass* 100 ml, spatula, gelas ukur 100 ml, botol semprot timbangan analitik, pisau, saringan teh.

Sampel apusan epitel mulut ayam, aquadest, lidi, *deck glass*, *object glass*, kertas saring, tissue, alkohol 70%, label, larutan *Haris hematoxylin* (HE), *Orange G*, *Polychrome* (EA 50), air perasan buah delima konsentrasi (1:1) yaitu air larutan uji 25 ml : Alkohol 70% 25 ml, konsentrasi (1:2) yaitu air perasan buah delima 25 ml : alkohol 70% 50 ml, konsentrasi (1:3) yaitu air perasan buah delima 25ml : alkohol 70% 75 ml, konsentrasi (1:4) yaitu air perasan buah delima 25 ml : alkohol 70% 100 ml, konsentrasi (1:5) yaitu air perasan buah delima 25ml : alkohol 70% 125 ml.

Apusan sediaan apusan epitel mulut ayam yang telah difiksasi selanjutnya dilakukan pewarnaan. Preparat dehidrasi dengan cara merendam gelas objek dalam alkohol 90%, 80%, 70%, dan terakhir dalam aquades, dilakukan selama 1 menit dalam tiap-tiap larutan. Selanjutnya preparat direndam dalam larutan harri's haematoxylin selama 5 menit kemudian dicuci dibawah air mengalir selama 5 menit. Preparat kemudian didehidrasi dengan cara merendam gelas obyek dalam alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96%, masing-masing selama 1 menit. Kemudian preparat ditetesi zat warna orange OG-6, dibiarkan selama 3 menit, dan dibilas alkohol 96% sebanyak 3 kali. Preparat kemudian dipulas dengan zat warna buah delima merah dengan larutan uji konsentrasi (1:1), (1:2), (1:3), (1:4), (1:5) dan air perasan buah delima murni selama 30 menit, lalu dimasukkan ke dalam alkohol absolut tiga kali berturut-turut, masing-masing selama 3 menit kemudian dikeringkan. Kemudian preparat dimasukkan ke dalam larutan Xylol selama 3 menit. Terakhir preparat dimounting dengan entelan dan diamati dengan mikroskop cahaya.

Pengolahan data penelitian ini menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 18 dan 25 dengan analisa data menggunakan pengujian hipotesa *Kruskal-Wallis* dan *Mann-U Whitney*.

HASIL

Pada penelitian tentang optimalisasi perasan buah delima merah (*Punica granatum L.*) sebagai pengganti Eosin pada pewarnaan papanicolaou hematoksin eosin, sampel sediaan apusan epitel mulut ayam dengan perlakuan perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, larutan murni dan larutan pembanding dengan menggunakan 5 lapang pandang yang dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Perintis Indonesia, maka didapatkan hasil pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Data Hasil Penelitian Setiap Perlakuan Sampel Apusan Epitel Mulut Ayam

No	Lapang Pandang	Pengenceran						Pembanding/ Larutan Papanicolaou
		Larutan Induk/Murni	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5	
1	1	3	3	3	3	3	3	4
2	2	3	3	3	2	2	3	4
3	3	3	3	3	3	3	2	4
4	4	3	3	3	3	3	3	4
5	5	3	3	3	3	3	3	4

Keterangan Kriteria Penilaian :

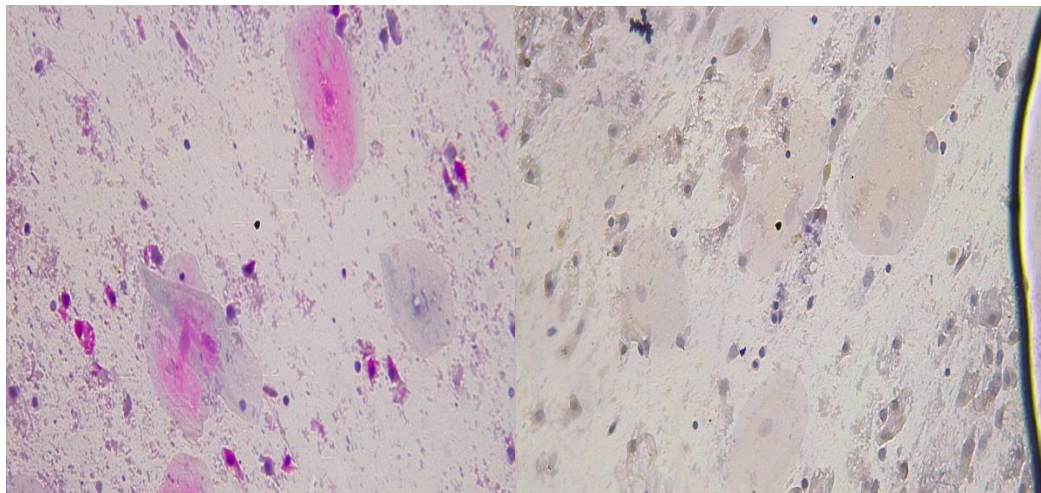
1. Tidak baik
2. Kurang Baik
3. Baik
4. Sangat Baik

Berdasarkan Tabel 2 hasil pengamatan mikroskopis yang dilakukan sesuai dengan table penilaian kualitas sediaan pada pewarnaan alternatif buah delima merah (*Punica granatum L.*) Menurut Astuti (2017), data hasil penelitian pada setiap perlakuan sampel perlapang pandang didapatkan nilai berdasarkan bentuk sel, pada pengenceran 1:3, 1:4, 1:5 yaitu kurang baik sesuai dengan skala ordinal, dimana intensitas warna inti kurang jelas dan kromatin kurang jelas. Nilai skala interval yaitu (2) pada lapang pandang 2 dan 3. Selain itu, nilai perlakuan pada pengenceran dan lapang pandang 1:1, 1:2 dan larutan murni, berdasarkan skala ordinal yaitu baik dengan bentuk intensitas warna pada inti jelas, kromatin jelas dan bentuk sel sangat jelas dengan nilai skala interval yaitu (3).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian pewarnaan sediaan apusan epitel mulut ayam perlima lapang pandang menggunakan pewarnaan alternatif delima merah (*Punica granatum L.*) dengan pembanding pewarnaan *Papanicolaou* menggunakan uji SPSS versi 18 metode *Kruskal-wallis* di dapatkan hasil berdasarkan nilai *mean rank* yaitu, larutan induk atau murni (17.00), pengenceran 1:1 (17.00), pengenceran 1:2 (17.00), pengenceran 1:3 (14.00), pengenceran 1:4 (14.00), pengenceran 1:5 (14.00), larutan pembanding atau papanicolaou (33.00). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan tidak berbeda signifikan atau sama terhadap larutan pembanding. Namun berdasarkan nilai *mean rank*, kualitas pewarnaan yang paling mendekati kualitas pembanding/*papanicolaou* adalah larutan induk/murni, pengenceran 1:1, pengenceran 1:2. Menurut Anita, *et all* (2017) Nilai *mean*

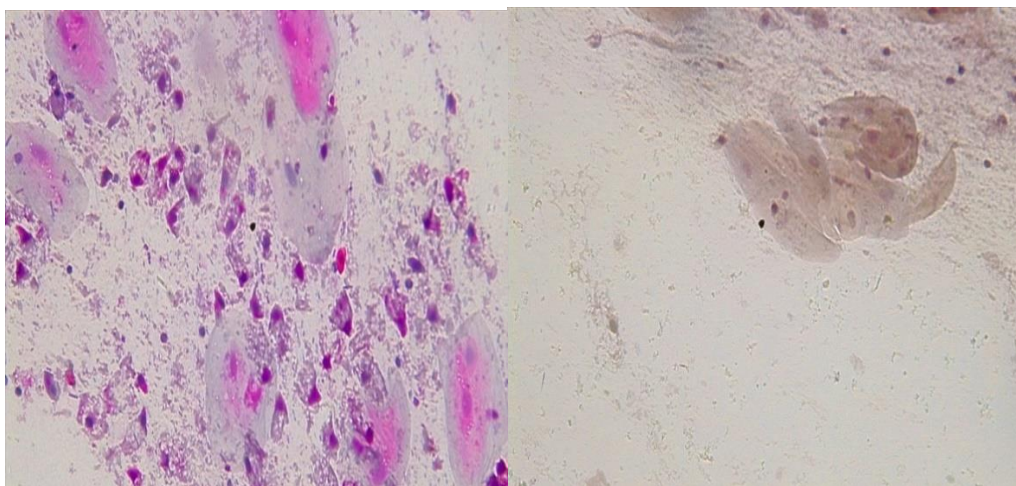
ranks yang semakin tinggi menunjukkan kualitas pewarnaan yang semakin baik yaitu mendekati kategori sediaan pewarnaan yang sangat baik, yaitu konsentrasi larutan murni, 1:1, dan 1:2. Hasil perbandingan kualitas sediaan dapat dilihat pada gambar 1 seperti dibawah ini.



(a) *Papanicolaou*

(b) *Larutan Murni*

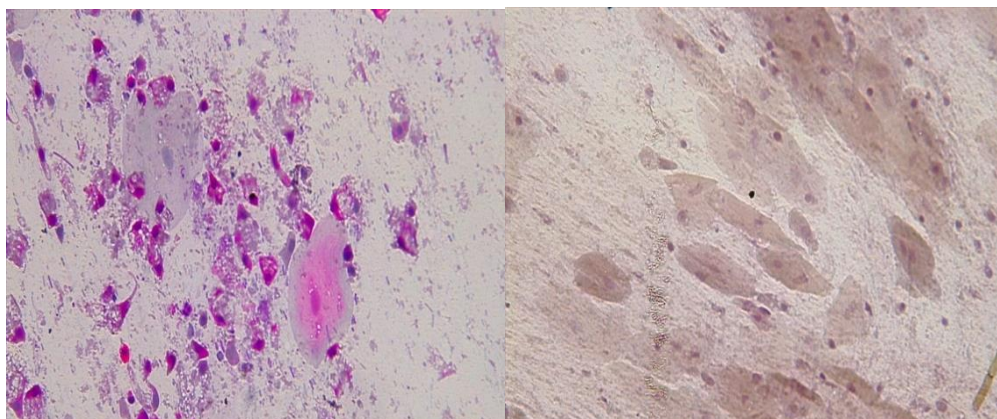
Gambar 1. Konsentrasi Pewarnaan *Papanicolaou* dan larutan murni



(a) *Papanicolaou*

(b) *Pengenceran 1:1*

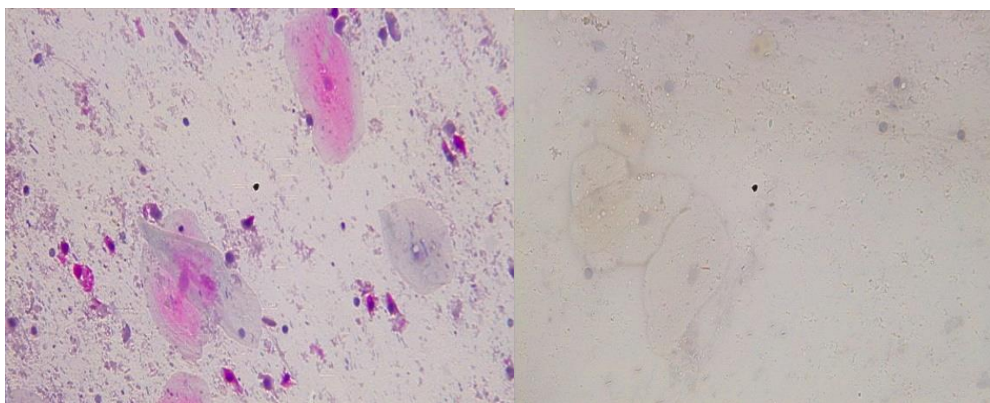
Gambar 2. Konsentrasi Pewarnaan *Papanicolaou* dan Pengenceran 1:1



(a) *Papanicolaou*

(b) *Pengenceran 1:2*

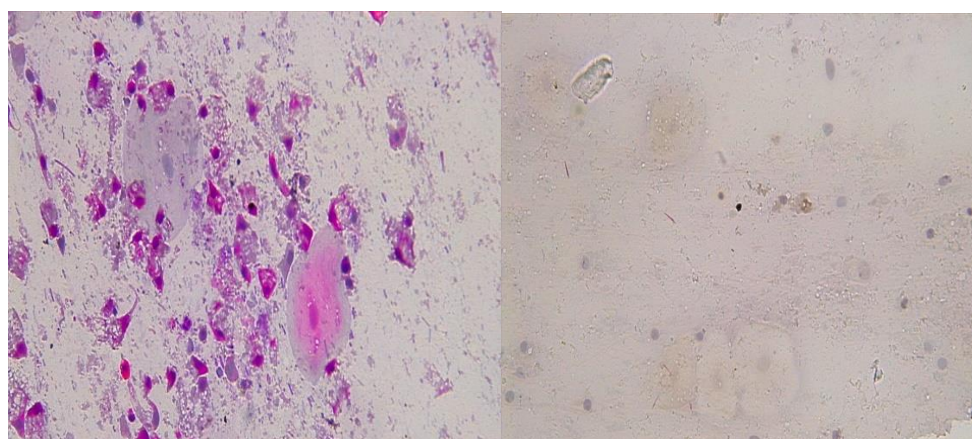
Gambar 3. Konsentrasi Pewarnaan *Papanicolaou* dan Pengenceran 1:2



(a) Papanicolaou

(b) Pengenceran 1:3

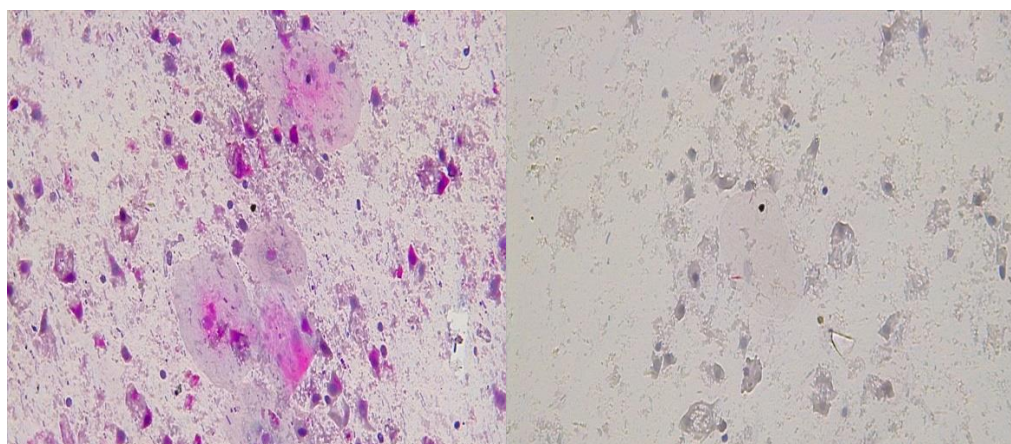
Gambar 4. Konsentrasi Pewarnaan Papanicolaou dan Pengenceran 1:3



(a) Papanicolaou

(b) Pengenceran 1:4

Gambar 5. Konsentrasi Pewarnaan Papanicolaou dan Pengenceran 1:4



(a) Papanicolaou

(b) Pengenceran 1:5

Gambar 6. Konsentrasi Pewarnaan Papanicolaou dan Pengenceran 1:5

Variasi konsentrasi perasan buah delima merah (*Punica granatum L.*) memberikan kualitas pewarnaan yang berbeda signifikan (0.016) terhadap larutan pembanding, dengan demikian dapat di katakan bahwa perasan buah delima merah (*Punica granatum L.*) memiliki pengaruh terhadap larutan pembanding/ papanicolaou.

Antosianin akan mewarnai sitoplasma yang akan berwarna merah pada media basa dan berubah menjadi warna merah menjadi ungu serta biru pada media asam. Pada penelitian ini kandungan antosianin pada buah delima bersifat basah karena larutannya

berwarna merah.(Permatasari et al., 2021) Hasil penelitian didapatkan bahwa pewarnaan *papanicolaou* sintesis (komersil) terdapat sitoplasma berwarna merah muda yang berarti media bersifat basa, inti sel berwarna ungu muda dan pada pewarnaan alternatif *papanicolaou* buah delima merah pengganti eosin yang mengandung *antosianin* sehingga sitoplasma akan terwarnai menjadi warna merah pada epitel mulut ayam. Pada penelitian ini, peneliti mendapatkan hasil sitoplasma terwarnai dengan warna ungu pucat dan inti sel tetap terwarnai dengan jelas dengan warna ungu pekat, hal ini disebabkan karena peneliti hanya mengganti warna EA-50 (eosin) dengan pewarnaan alternatif buah delima merah (*Punica granatum L.*) yang menggunakan pelarut alkohol 70%, yang mewarnai sitoplasma sedangkan inti sel tetap memakai *Harris Hematoksilin*) yang fungsinya mewarnai inti sel (Aini, 2015). Faktor lain yang mempengaruhi kualitas pewarnaan pada sediaan ini yaitu berdasarkan jurnal tentang Ekstrak buah delima (*Punica granatum L.*) sebagai formulasi lipstik yang dilakukan oleh Yanty, Y., Hepiyansori, H., & Niarisesa, L. (2018) menyatakan bahwa pH mempengaruhi stabilitas antosianin dan dapat merubah warna antosianin, pada pH tinggi berwarna biru setelah itu violet serta akhirnya merah pada pH rendah. Kemudian faktor lain yang mempengaruhi pigmen antosianin yaitu pada jenis pelarut antosianin dan pH dari antosianin, dijelaskan bahwa antosianin lebih stabil pada larutan asam dibandingkan larutan netral atau alkali. Hasil penelitian Sukarti *et.al* pada tahun 2008 tentang ekstraksi antosianin dari kulit manggis menunjukkan bahwa pelarut yang paling baik dalam mengekstrak adalah menggunakan aquadest yang ditambah dengan Asam sitrat 3%. Sedangkan pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah aquadest yang mana memiliki pH netral (Noviyanty et al., 2018)

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan dapat dikatakan bahwa faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin pada penelitian ini adalah metode pengambilan antosianin, suhu pada saat penelitian, jenis pelarut yang digunakan serta pH antosianin pada saat pewarnaan menyebabkan kurang terserapnya zat warna antosianin, sehingga mempengaruhi kualitas sediaan yang diujikan.

Pewarnaan *papanicolaou* merupakan metode pengecatan polikromatis yang merupakan kombinasi pengecatan hematoxilin untuk mewarnai kromatin dan inti sel, sehingga berwarna ungu dan pada penelitian ini inti sel berwarna ungu pada konsentrasi 1:1, 1:2 dan larutan induk dengan bentuk sel jelas, intensitas warna jelas berwarna ungu. Pengecatan warna orange G (EA-50) untuk memberi warna pada sitoplasma sehingga berwarna merah pada pewarnaan sintesis *papanicolaou* dan pada pewarna alternatif buah delima merah (*punica granatum L.*) pengganti EA-50 (Eosin) di dapatkan hasil sitoplasma berwarna ungu pudar, sehingga dapat disimpulkan pada penelitian ini bahwa buah delima merah bisa berpotensi sebagai pewarna alternatif tetapi tidak sama dengan pewarnaan *papanicolaou* (komersil) sehingga perlu penelitian lebih lanjut mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi pewarnaan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian tentang Potensi Buah Delima Merah (*Punica Granatum L.*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan *Papanicolaou*, didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Didapatkan hasil sediaan apusan epitel mulut ayam terwarnai tetapi tidak sama seperti kontrol, dengan nilai signifikan metode uji *Kruskal Wallis* adalah $0,001 \leq 0,016$ yang artinya berbeda signifikan.
2. Didapatkan konsentrasi hasil yang baik pada pengenceran konsentrasi 1:1, 1:2, dan larutan induk/murni dengan nilai (*mean rank* = 17.00) yang kualitas warna yang paling mendekati kualitas pembanding/*papanicolaou* dengan nilai (*mean rank* = 33.00)

Bagi peneliti selanjutnya harus dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai Potensi Buah Delima Merah (*Punica Granatum L.*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan *Papanicolaou* sebagai pewarnaan alternatif pengganti eosin pada pewarnaan *papanicolaou* dengan memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pewarnaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, Q. (2015). Viabilitas Dan Profil Protein Isolat *Staphylococcus*. *Skripsi*.
- Kholisa, K., Purwanto, P., & Hernawati, S. (2018). Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Penurunan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans*. *Pustaka Kesehatan*, 6(2), 351. <https://doi.org/10.19184/pk.v6i2.8655>
- Maretta, N. P. (2019). *Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak umbi bit (Beta vulgaris L.) sebagai pewarna alami terhadap kualitas preparat section batang tumbuhan krokot (Portulaca oleraceae L.) (Skripsi)*. <http://eprints.umm.ac.id>
- Novera, Y., Busman, & Edrizal. (2019). Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Delima (PUNICAGRANATUM) Secara Topikal Terhadap Proses Pembentukan Kembali (REMODELLING) Pada Fraktur Tulang Paha Tikus Putih Galur Wistar Betina (RATTUS NOVERGICUS). *Menara Ilmu*, XIII(10), 1–9.
- Noviyanty, Y., Hepiyansori, & Niarisessa, L. (2018). Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum L*) Sebagai Formulasi Lipstik. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 45–54.
- Oktari, A., & Mu'tamir, A. (2017). Optimasi Air Perasan Buah Merah (*Pandanus sp.*) Pada Pemeriksaan Telur Cacing. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6(1), 8. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v6i1.85>
- Permatasari, R., Suriani, E., & Chania, P. (2021). *Potensi Daun Miana (Plectranthus scutellaroides) sebagai Pewarna Alternatif Pengganti Eosin dalam Pemeriksaan Telur Cacing Soil Transmitted Helminth (STH)*. 4(2), 30–36.
- Prahanarendra, G. (2015). Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, Dan Pankreas Tikus Sprague Dawley Dengan Pewarnaan He Dengan Fiksasi 3 Minggu. *Studi Awal Histoteknik*, 1–69.
- Sabirin, I. P. R. (2015). Sitopatologi Eksfoliatif Mukosa Oral sebagai Pemeriksaan Penunjang di Kedokteran Gigi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 2(1), 157–161.
- Sari, R. P., Endang Suriani, & Hikmah Adinda. (2022). Potensi Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan *Papanicolaou* Terhadap Sediaan Apusan Epitel Mulut Ayam. *JUKEJ : Jurnal Kesehatan Jompa*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.55784/jkj.vol1.iss1.103>