

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Ekstrak Kuncup Daun Jati (*Tectona grandis*)

Daun Jati yang digunakan diambil dari Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur. Pada penelitian ini dilakukan maserasi kuncup daun jati dengan tambahan asam sitrat 10% yang bertujuan untuk memperjelas warna pigmen menjadi merah, sebagai pengawet, serta untuk menyamakan pH dengan eosin yang merupakan pewarna bersifat asam. Hal ini juga dilakukan pada penelitian Simanjuntak (2014) dan Surianti dkk., (2019) yang menggunakan asam sitrat dalam aquades sebagai pelarut untuk mengekstraksi pigmen antosianin.

Pada penelitian terdahulu oleh Surianti dkk., (2019) tentang uji stabilitas pigmen merah antosianin dari daun jati muda terhadap pH sebagai pewarna alami didapati hasil positif pada uji warna yang menunjukkan bahwa ekstrak kuncup daun jati mengandung pigmen antosianin. Didapati pula pada ekstrak dengan pH 5 antosianin berbentuk Pelargonidin 3,7-glukosida yang menghasilkan warna merah dengan nuansa oranye.

Antosianin merupakan golongan senyawa flavonoid yang memiliki kelarutan tinggi dalam air dan bertanggung jawab memberikan warna merah, ungu, biru, dan kuning pada berbagai bagian tanaman. Intensitas warna yang dihasilkan antosianin tergantung pada stabilitas antosianin. Terdapat banyak faktor yang dapat mempengaruhi stabilitas antosianin yaitu pH, suhu, dan oksigen, dan cahaya matahari (Fathinatullabibah dkk., 2014). Semakin asam pH

antosianin maka warna yang dihasilkan akan semakin merah, tetapi apabila pH-nya meningkat maka akan menghasilkan warna kuning, biru, dan tidak berwarna (Surianti dkk., 2019).

Selain pH, pigmen antosianin juga rentan terhadap suhu. Semakin tinggi suhu pemanasan maka total antosianin semakin menurun dan intensitas warna yang dihasilkan menurun karena terjadinya degradasi antosianin. Suhu optimal pemanasan antosianin yaitu 50-60°C, oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan suhu evaporator <60°C untuk mencegah terjadinya degradasi antosianin dalam ekstrak kuncup daun jati. Selanjutnya untuk mencegah kerusakan pigmen antosianin karena cahaya matahari dan oksigen maka saat proses maserasi ekstrak digunakan botol kaca yang ditutup rapat, diletakkan di tempat gelap, dan bagian luarnya dibungkus menggunakan *aluminium foil* untuk mencegah kontak langsung antara ekstrak dengan cahaya dan oksigen.

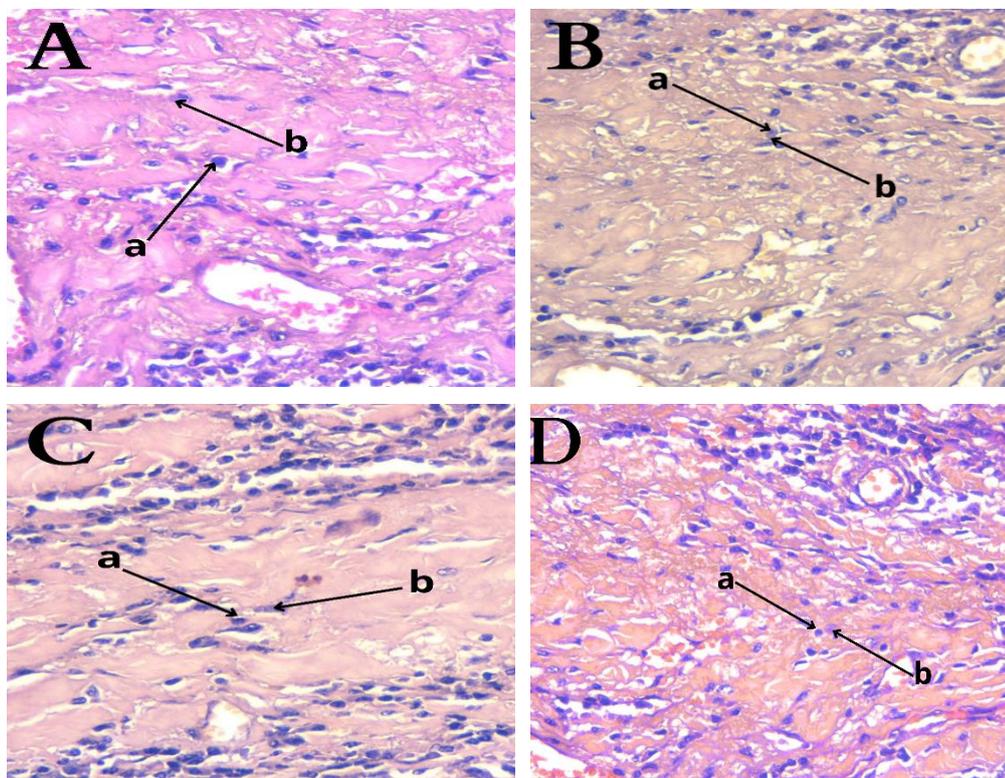
B. Karakteristik Sampel Jaringan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah blok parafin jaringan *Ca mammae* yang telah melewati proses pembuatan sediaan histologi yang dimulai dari pemilihan jaringan sampai dengan pembuatan blok (*blocking*). Kanker payudara (*Ca mammae*) adalah suatu istilah yang menggambarkan terjadinya pertumbuhan berlebihan atau perkembangan tidak terkontrol dari sel-sel yang sifatnya ganas di payudara. Sampel yang digunakan sebanyak 1 buah blok parafin yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Anatomi RSUD. Prof. W. Z. Johannes Kupang. Blok parafin pada penelitian ini dipotong dengan ketebalan 3,5 µm dan diperoleh sebanyak 10 sediaan yang terdiri dari 1 sediaan

untuk kontrol menggunakan eosin dan 9 sediaan untuk perlakuan menggunakan ekstrak kuncup daun jati dengan konsentrasi 20%, 30%, dan 40% sebagai pengganti eosin pada pewarnaan HE.

C. Gambaran Mikroskopis Pewarnaan Hematoxylin Eosin

Gambaran mikroskopis sediaan *Ca mammae* dinilai dari hasil kejelasan warna pada inti dan sitoplasma serta dapat dibedakan dan diidentifikasi atau tidak. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop kamera konektor tipe Cx-31 Trinocular pada perbesaran 400X. Hasil pengamatan secara mikroskopis disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil pewarnaan HE sediaan *Ca mammae* pada perbesaran 400X menggunakan mikroskop kamera konektor tipe CX-31 (A.) kontrol; (B) Ekstrak kuncup daun jati 20%; (C) Ekstrak kuncup daun jati 30%; D) Ekstrak kuncup daun jati 40%.

Keterangan : a: Inti sel; b: Sitoplasma

Rekapitulasi data hasil penilaian pada pewarnaan HE menggunakan eosin dan ekstrak kuncup daun jati sebagai pengganti eosin disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Penilaian Skor Terhadap Hasil Pewarnaan HE pada Jaringan *Ca mammae* Menggunakan Eosin dan Ekstrak Kuncup Daun Jati

Perlakuan	Hasil Penilaian						Total	
	Skor 1 (Tidak Baik)		Skor 2 (Kurang Baik)		Skor 3 (Baik)			
	n	%	n	%	n	%	n	%
Eosin	0	0	0	0	1	100	1	100
Ekstrak Kuncup Daun Jati 20%	0	0	3	100	0	0	3	100
Ekstrak Kuncup Daun Jati 30%	0	0	1	33,3	2	66,7	3	100
Ekstrak Kuncup Daun Jati 40%	0	0	0	0	3	100	3	100

Keterangan :

n : Jumlah sediaan

Pada penelitian ini dilakukan penilaian secara mikroskopis pada setiap sediaan yang masing-masing diamati pada 10 lapang pandang (LP) dengan perbesaran 400X. Penilaian ini dilakukan dengan didampingi oleh dokter Spesialis Patologi Anatomi. Hasil pewarnaan HE sediaan jaringan *Ca mammae* menggunakan eosin diperoleh skor 3 (baik) pada slide dengan presentase 100%. Hasil pewarnaan HE sediaan jaringan *Ca mammae* menggunakan ekstrak kuncup daun jati sebagai pengganti eosin pada konsentrasi 20% diperoleh hasil skor 2 (kurang baik) pada semua slide yaitu 3 slide dengan presentase 100%, konsentrasi 30% diperoleh hasil skor 2 (kurang baik) pada 1 slide dengan presentase 33,3% dan

skor 3 (baik) pada 2 slide dengan presentase 66,7%, dan pada konsentrasi 40% diperoleh hasil skor 3 (baik) pada semua slide yaitu 3 slide dengan presentase 100%.

Pewarnaan HE dapat memperlihatkan struktur serta morfologi jaringan, keberadaan dan prevalensi sel-sel jaringan tertentu (Khristian & Inderiati, 2017). Hematoxylin adalah pewarna basa yang secara selektif mewarnai komponen asam di dalam sel, sehingga menghasilkan tampilan kebiruan. Sedangkan eosin adalah pewarna asam yang mewarnai sitoplasma sel, sehingga menghasilkan warna merah muda (Setiawan, 2016).

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis menggunakan perbesaran 400X pada sediaan kontrol yang diwarnai menggunakan eosin terlihat inti sel berwarna biru keunguan dan sitoplasma yang terwarnai merah muda cerah dengan sempurna, warnanya jelas, serta dapat dibedakan dan dapat diidentifikasi. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 20% didapati warna kurang baik, inti sel berwarna ungu pucat dan sitoplasma berwarna merah muda kecoklatan, namun masih dapat dibedakan dan diidentifikasi. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 30% didapati mayoritas sediaan terwarnai dengan hampir sempurna, inti sel berwarna biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah muda, dapat dibedakan dan diidentifikasi namun warna sediaan masih kurang kontras. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak daun jati 40% didapati inti dan sitoplasma terwarnai dengan baik, inti sel berwarna biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah muda cerah, warnanya jelas, serta dapat dibedakan dan dapat diidentifikasi.

Hasil pewarnaan yang baik yaitu pada pengenceran 30% dan 40% sitoplasma berwarna merah muda cerah sedangkan pada pengenceran 20% menunjukkan hasil kurang baik dengan sitoplasma yang terwarnai merah muda kecoklatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, intensitas warna yang dihasilkan sangat bergantung dari kepekatan konsentrasi ekstrak kuncup daun jati. Hal ini disebabkan oleh perbedaan jumlah ekstrak kental yang ada dalam pelarut. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak jumlah ekstrak kental dalam pelarut, dan semakin banyak juga kandungan antosianin dan asam yang ada pada ekstrak tersebut. Antosianin merupakan senyawa alami yang dapat mewarnai jaringan sebagai pengganti eosin. Semakin asam pH antosianin maka semakin merah warna yang dihasilkan. Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin pekat warna merah yang dihasilkan.

Setelah dilakukan penilaian sediaan secara mikroskopis, selanjutnya data diuji secara statistik dengan Uji Non Parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menilai seberapa mendekatinya warna sediaan masing-masing konsentrasi ekstrak kuncup daun jati dengan sediaan kontrol. Warna dikatakan mendekati kontrol atau tidak ada perbedaan bermakna (H_0) apabila nilai signifikansi (p) $>0,05$ dan tidak mendekati kontrol atau ada perbedaan bermakna (H_1) apabila nilai signifikansi (p) $<0,05$. Berdasarkan hasil Uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikan data perlakuan eosin dan ekstrak kuncup daun jati 20% $p=0,083$, eosin dan ekstrak kuncup daun jati 30% $p=0,564$, eosin dan ekstrak kuncup daun jati 40% $p=1,000$. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikan ketiganya $p>0,05$ sehingga dapat

dinyatakan warna sediaan dari ketiga konsentrasi mendekati kontrol atau tidak ada perbedaan bermakna antara kontrol dengan ketiga konsentrasi ekstrak.

Hasil Penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan Labai (2023) yang menggunakan ekstrak kuncup daun jati sebagai pengganti eosin dalam pewarnaan *diff quick*. Terdapat perbedaan bermakna antar slide kontrol dengan slide perlakuan dengan nilai $p < 0,05$ pada Uji *Kruskal-Wallis* sehingga dilanjutkan dengan Uji *Mann Whitney* dan didapat konsentrasi hasil yang baik pada konsentrasi 30% dengan nilai $p > 0,05$ (tidak ada perbedaan), sedangkan mendapatkan hasil tidak baik pada konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70% dengan nilai $p < 0,05$ (ada perbedaan). Didapatinya hasil yang berbeda dapat disebabkan oleh perbedaan tempat pengambilan kuncup daun jati, kadar antosianin ekstrak, pelarut dan waktu maserasi yang digunakan, penambahan asam sitrat 10%, perbedaan larutan pengencer, serta jenis sampel yang digunakan.

Dari nilai Uji *Kruskal-Wallis* antara eosin dengan ketiga ekstrak, didapati nilai signifikansi terbesar pada ekstrak 40% dengan nilai $p = 1,000$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kuncup daun jati 40% merupakan konsentrasi terbaik yang dapat digunakan sebagai pengganti eosin dalam pewarnaan HE.