

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Karakteristik Sampel**

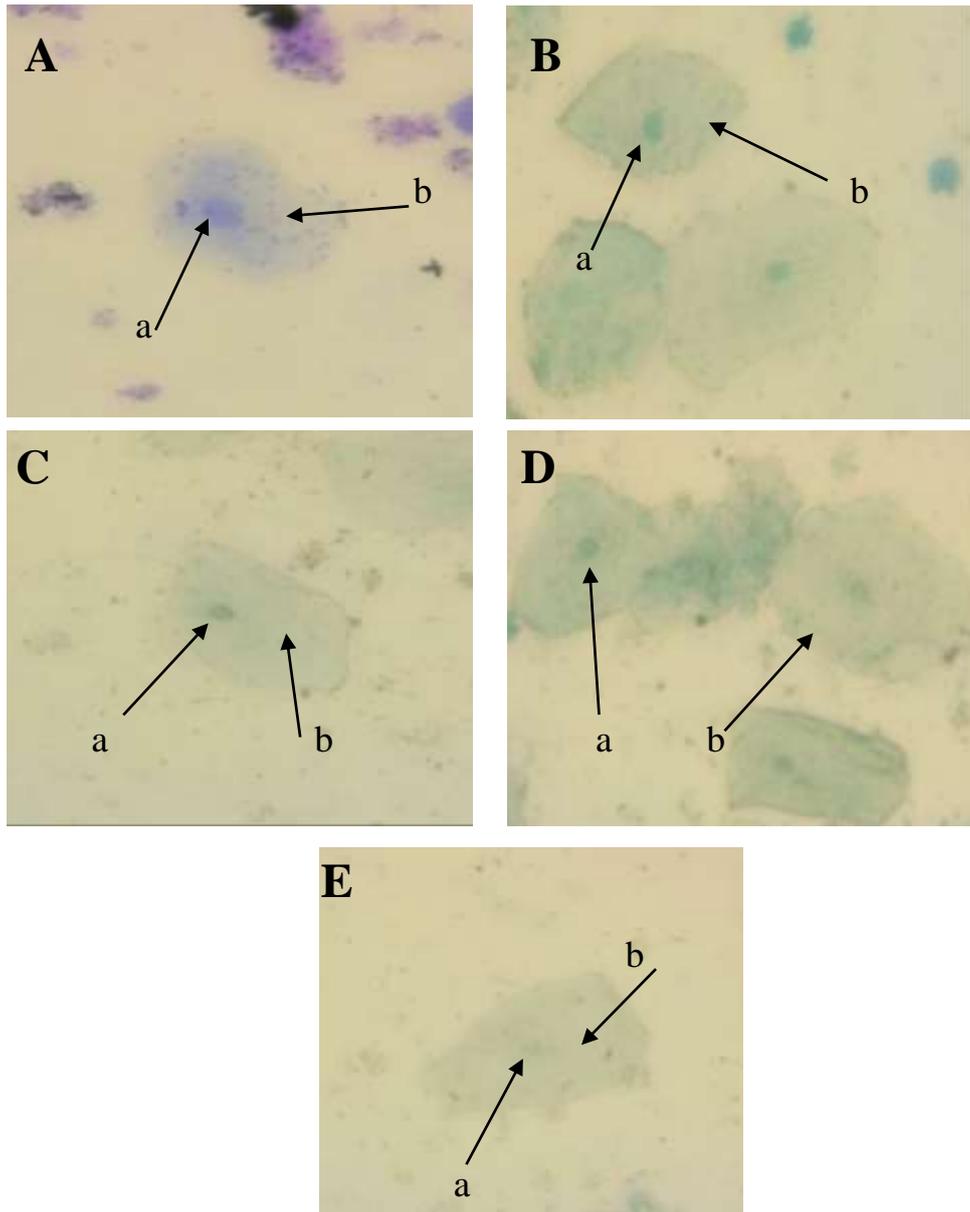
Sampel yang digunakan berupa epitel mukosa mulut yaitu lapisan selaput lendir yang diperoleh dari hasil kerokan mulut. Epitel rongga mulut terdiri atas sel berlapis pipih tanpa lapisan tanduk sebagai pelindung. Rongga mulut dilapisi oleh mukosa yang terdiri atas epitel dan lamina propria, serta jaringan ikat pada submukosa (Mizan, dkk., 2021). Epitel yang dilihat dalam penelitian ini yaitu epitel pipih.

Pada penelitian ini sampel epitel mukosa mulut diwarnai dengan Pewarnaan Giemsa modifikasi (eosin diganti dengan EBKS 100%, 90%, 80%, dan 70%) sebagai perlakuan dan Giemsa tanpa modifikasi sebagai kontrol. Masing-masing perlakuan dan kontrol dibuat sebanyak 6 preparat.

#### **B. Gambaran Mikroskopis**

Preparat yang sudah diwarnai dengan pewarna Giemsa dan pewarna Giemsa Modifikasi menggunakan EBKS dinilai hasil warna pada inti dan sitoplasma. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis menggunakan perbesaran 400X pada sediaan kontrol yang diwarnai menggunakan pewarna Giemsa terlihat sel terwarnai dengan baik. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan EBKS 70% inti berwarna biru kehijauan dengan jelas dan sitoplasma berwarna kehijauan serta dapat dibedakan antara inti dan sitoplasma. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan EBKS 80% inti berwarna biru kehijauan dan sitoplasma berwarna kehijauan serta inti dan sitoplasma dapat dibedakan. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan EBKS 90% inti dan sitoplasma

masih dapat dibedakan. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan EBKS 100% mayoritas inti dan sitoplasma kurang jelas dan susah untuk dibedakan. Hasil pengamatan secara mikroskopis disajikan pada Gambar 1 dan rincian masing-masing penilaian skor preparat pada Tabel 4.1.



**Gambar 1.** Hasil Pewarnaan Giemsa sediaan sitologi pada perbesaran 400X menggunakan mikroskop kamera konektor tipe Cx-31 (A. Kontrol; B. EBKS 70%; C. EBKS 80%; D. EBKS 90%; E. EBKS 100%). Ket: (a) inti sel, (b) sitoplasma

**Tabel 4.1. Rekapitulasi data hasil penilaian pada pewarnaan Giemsa menggunakan pewarna Giemsa sebagai Kontrol dan pewarna Giemsa modifikasi ekstrak bunga kembang sepatu**

Perlakuan	Hasil Penelitian						Total	
	Skor 1 (Tidak Baik)		Skor 2 (Kurang Baik)		Skor 3 (Baik)		n	%
	n	%	n	%	n	%		
Kontrol	0	0 %	0	0 %	6	100 %	6	100 %
EBKS 70%	0	0 %	0	0%	6	100%	6	100%
EBKS 80%	0	0 %	2	20%	4	80%	6	100%
EBKS 90%	0	0%	4	80%	2	20%	6	100%
EBKS 100%	2	20%	4	80%	0	0%	6	100%

Keterangan: n (Jumlah sediaan)

Hasil penilaian kualitas sediaan epitel mukosa mulut pada pewarnaan Giemsa kontrol menunjukkan hasil mikroskopis yang baik sebesar 100%, dengan warna biru-ungu pada inti sel, warna biru muda pada sitoplasma. Hasil penilaian sediaan epitel mukosa mulut menggunakan EBKS 70% pada pewarnaan Giemsa menunjukkan hasil mikroskopis yang baik pada semua preparat (100%), sedangkan pada hasil penilaian sediaan epitel mukosa mulut menggunakan EBKS 80% pada pewarnaan Giemsa menunjukkan hasil kurang baik sebanyak 2 slide (20%) dan baik sebanyak 4 slide (80%). Untuk hasil penilaian sediaan mukosa mulut menggunakan EBKS 90% menunjukkan hasil kurang baik sebanyak 4 slide (80%) dan baik sebanyak 2 slide (20%). Untuk hasil penilaian sediaan epitel mukosa mulut menggunakan EBKS 100% menunjukkan hasil kurang baik sebanyak 4 slide (80%) dan tidak baik sebanyak 2 slide (20%).

Berdasarkan data penelitian, dilakukan uji secara statistik untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil pewarnaan Giemsa dan pewarnaan Giemsa modifikasi menggunakan ekstrak bunga kembang sepatu sebagai agen pewarna alternatif. Uji

*Kruskal-Wallis* dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna yang dilakukan untuk membuat perbandingan antara dua atau lebih perlakuan. Data dikatakan tidak ada perbedaan apabila nilai signifikansi ( $p$ )  $>0,05$  dan ada perbedaan apabila  $p < 0,05$ .

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikan data perlakuan eosin dan ekstrak bunga kembang sepatu  $p=0,001$  ( $p < 0,05$ ) sehingga data dinyatakan ada perbedaan, maka dilanjutkan dengan uji beda non parametrik *Mann Whitney U*. Uji statistik *Mann Whitney U* dilakukan untuk melihat ada tidaknya perbedaan bermakna antara hasil pewarnaan Giemsa menggunakan pewarna eosin dibandingkan dengan ekstrak bunga kembang sepatu.

**Tabel 4.2. Rekapitulasi data hasil uji *Mann Whitney U* antara kontrol menggunakan eosin dengan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak bunga kembang sepatu pada pewarnaan Giemsa**

No	Kelompok	Nilai Sig	Keterangan
1	Kontrol dan Ekstrak 70%	1,000*	Tidak ada perbedaan
2	Kontrol dan Ekstrak 80%	0,138*	Tidak ada perbedaan
3	Kontrol dan Ekstrak 90%	0,019	Ada perbedaan
4	Kontrol dan Ekstrak 100%	0,002	Ada perbedaan
5	Ekstrak 100% dan Ekstrak 90%	0,056*	Tidak ada perbedaan
6	Ekstrak 100% dan Ekstrak 80%	0,014	Ada perbedaan
7	Ekstrak 100% dan Ekstrak 70%	0,002	Ada perbedaan
8	Ekstrak 90% dan Ekstrak 80%	0,269*	Tidak ada perbedaan
9	Ekstrak 90% dan Ekstrak 70%	0,019	Ada perbedaan
10	Ekstrak 80% dan Ekstrak 70%	0,138*	Tidak ada perbedaan

\* Signifikansi  $p > 0,05$

Berdasarkan hasil uji *Mann Whitney U* dapat diketahui bahwa kontrol dan perlakuan EBKS 70% dan 80% menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan signifikansi masing-masing sebesar  $p= 1,000$  dan  $p= 0,138$  ( $p > 0,05$ ).

Pada penelitian ini EBKS digunakan sebagai pengganti eosin dalam pewarnaan Giemsa. Terdapat perbedaan hasil pewarnaan menggunakan Giemsa

dengan EBKS dimana menggunakan Giemsa warnanya biru-ungu sedangkan pada EBKS yang dilihat adalah hijau-biru.

Pada konsentrasi 70% menghasilkan warna biru kehijauan. Pada inti terlihat biru lebih pekat dibandingkan dengan sitoplasma dan dapat dibedakan antara inti dan sitoplasma. Pada konsentrasi 80% menghasilkan warna biru kehijauan dan mayoritas inti dan sitoplasma dapat terlihat jelas. Pada konsentrasi 90% mayoritas inti dan sitoplasma kurang jelas dan menghasilkan warna kehijauan pada sitoplasma. Pada konsentrasi 100% inti dan sitoplasma kurang baik karena konsentrasi ekstrak lebih pekat sehingga tidak dapat memaksimalkan proses penyerapan warna antosianin pada jaringan dan menyebabkan hasil pewarnaan kurang baik.

Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Mutoharoh, dkk. (2020) yang menggunakan ekstrak bunga kembang sepatu sebagai pengganti eosin pada pewarnaan *diff-quick*, pada konsentrasi 0,5 gr/ml memperoleh hasil tidak baik, dan 0,7 gr/ml memperoleh hasil kurang baik. Pada hasil tersebut diketahui bahwa 0,7 gr/ml lebih baik dari 0,5 gr/ml.

Pada penelitian tersebut dilakukan penambahan HCl 1% untuk mempertajam pewarnaan serta menarik keluar kelebihan warna yang ada pada sitoplasma dan inti sel. Penambahan HCl menyebabkan terjadinya penurunan pH serta dapat merubah struktur antosianin. Larutan yang lebih kental atau pekat menyebabkan proses masuknya warna ke dalam sel akan lebih sulit, sehingga sel tidak diwarnai dengan baik.

Penelitian serupa yang dilakukan oleh Mizan, dkk. (2021) menggunakan ekstrak bunga kembang sepatu dengan konsentrasi 50% dan ekstrak bunga kembang sepatu dengan konsentrasi 70% pada pewarnaan Giemsa dengan lama waktu perendaman masing-masing konsentrasi selama 15 menit mendapatkan hasil tidak baik pada konsentrasi 50% dan kurang baik pada konsentrasi 70%. Hal ini menegaskan bahwa konsentrasi yang lebih pekat menyebabkan hasil kurang maksimal, karena zat warna sulit masuk ke dalam sel. Pada penelitian ini lama waktu perendaman yang digunakan yaitu selama 45 menit. Hal ini dimaksudkan agar zat warna memiliki kesempatan lebih lama untuk terserap oleh bagian-bagian sel.

Antosianin adalah pigmen yang larut di air yang secara alami terdapat pada berbagai jenis tumbuhan. Sesuai namanya, pigmen ini memberikan warna pada bunga, buah, dan daun. Antosianin telah banyak digunakan pada berbagai produk pangan dan juga tekstil. Pada bunga kembang sepatu tidak hanya terkandung antosianin tetapi terdapat beberapa senyawa lain seperti senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin (Efendi, dkk., 2021)

Warna antosianin tergantung pada pH larutan. Hal ini disebabkan struktur molekul antosianin mempunyai sifat ionik. Dalam keadaan asam, sebagian antosianin tampak berwarna merah. Antosianin mempunyai rona ungu pada pH netral sedangkan warnanya berubah menjadi biru pada kondisi pH meningkat. Pigmen antosianin berwarna merah sebagian besar berupa kation flavylium. Antosianin ini lebih stabil pada pH larutan yang lebih rendah (Khoo, dkk., 2017).

Antosianin termasuk dalam senyawa golongan flavonoid yang mengakibatkan warna merah, ungu, biru pada tanaman. Antosianin memiliki ciri khas yang mengalami perubahan warna pada pH tertentu. Antosianin pada kondisi pH yang sangat asam (pH 1-2) cenderung berwarna (jingga-ungu) yaitu ketika berada dalam bentuk kation flavilium. Pada pH di atas 4, antosianin berada pada bentuk kalkon yang berwarna kuning, basa quinoid yang berwarna biru, atau basa karbinol tidak berwarna (Meganingtyas & Alauhdin, 2020).

Pada penelitian yang dilakukan Adah, dkk. (2014) mengenai karakteristik warna dan aktivitas antioksidan antosianin ubi jalar ungu mendapatkan hasil warna ekstrak antosianin cenderung berubah seiring dengan kenaikan pH 1-14 dari warna merah, ungu, biru, hijau dan kuning.

Pada penelitian yang dilakukan, hasil pewarnaan menggunakan pewarna Giemsa modifikasi mendapatkan hasil slide berwarna biru yang kemungkinan dikarenakan dari kondisi pH antosianin dalam rentang pH basa.