

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

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

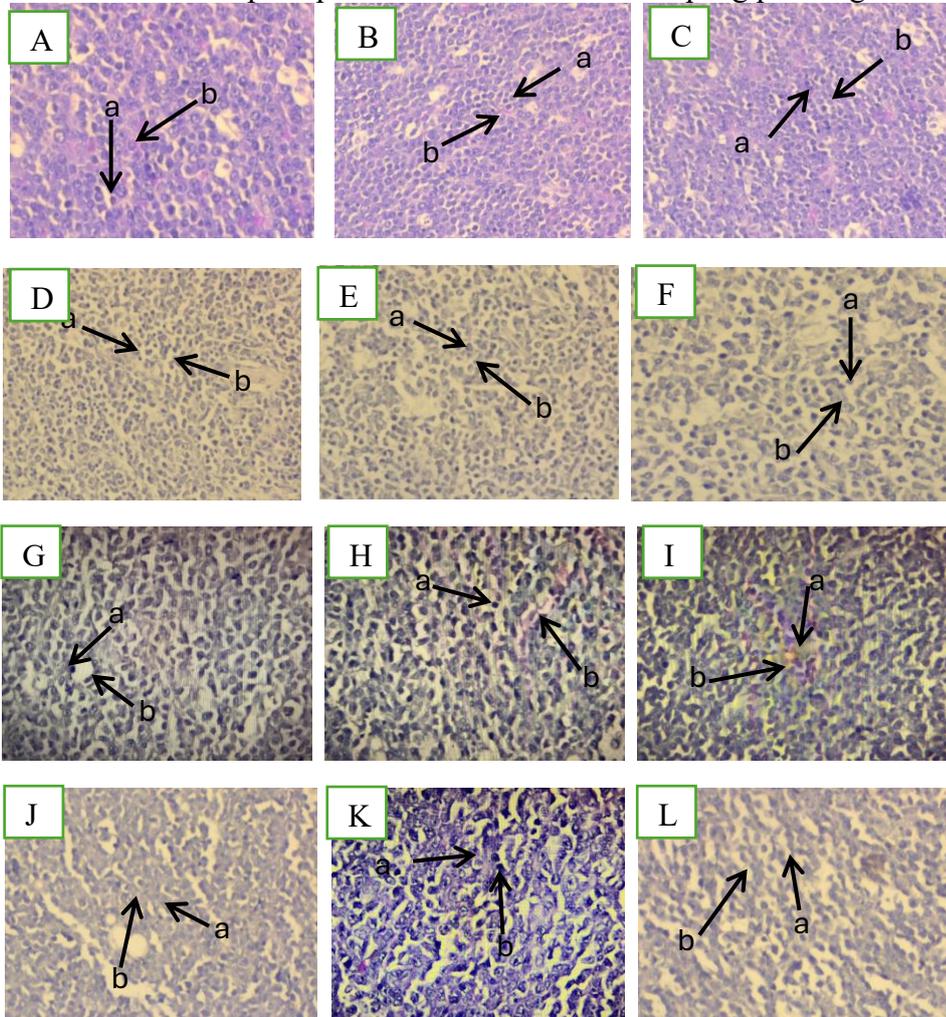
Kuncup daun jati diambil pada bulan April 2025 di Kelurahan Oeleta, Kecamatan Alak, Kota Kupang. Pada penelitian ini dilakukan maserasi kuncup daun jati dengan penambahan etanol 96% yang bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Etanol 96% mampu mengekstraksi senyawa dengan lebih cepat dan efektif dibandingkan pelarut yang lebih encer atau air saja, sehingga waktu maserasi bisa lebih optimal. Hal ini juga dilakukan pada penelitian Labai (2023) yang menggunakan etanol 96% sebagai pelarut untuk mengekstraksi kuncup daun jati.

B. Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa blok parafin jaringan kanker payudara (*Ca mammae*) yang telah melalui rangkaian proses pembuatan preparat histologi, mulai dari pemilihan jaringan hingga tahap embedding (pembuatan blok). Kanker payudara (*Ca mammae*) merupakan kondisi proliferasi sel ganas yang tumbuh secara tidak terkendali di jaringan payudara. Sampel berupa satu blok parafin diperoleh dari Laboratorium Patologi Anatomi RSUD S.K. Lerik Kota Kupang. Blok tersebut diproses untuk menghasilkan 30 preparat, yang terdiri dari 3 preparat kontrol dengan pewarnaan eosin dan 27 preparat perlakuan yang menggunakan ekstrak kuncup daun jati dengan 3 perlakuan dan variasi waktu masing-masing 3 slide, sebagai pengganti eosin dalam pewarnaan Hematoksilin Eosin.

C. Hasil Gambaran Mikroskopis Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop kamera konektor tipe CX- 31 Trinocular pada perbesaran 400x dalam 10 lapang pandang.



Gambar 2.4. Hasil pengamatan mikroskopis pada perbesaran 40X menggunakan mikroskop kamera konektor tipe CX-31 (A.) Kontrol 1; (B) Kontrol 2; (C) Kontrol 3; (D) Ekstrak kuncup daun jati 30% selama 10 menit; (E) Ekstrak kuncup daun jati 30% selama 15 menit; (F) Ekstrak kuncup daun jati 30% selama 20 menit. (G) Ekstrak kuncup daun jati 35% selama 10 menit. (H) Ekstrak kuncup daun jati 35% selama 15 menit. (I) Ekstrak kuncup daun jati 35% selama 20 menit. (J) Ekstrak kuncup daun jati 40% selama 10 menit. (K) Ekstrak kuncup daun jati 40% selama 15 menit. (L) Ekstrak kuncup daun jati 40% selama 20 menit.

Keterangan : a: Inti sel; b: Sitoplasma

Warna jaringan pada pewarnaan hematoksilin eosin tergantung pada sifat kimiawi komponen sel dan jaringan serta afinitasnya terhadap dua zat pewarna, yaitu hematoksilin dan eosin. Hematoksilin setelah dioksidasi menjadi hematin

dikombinasikan dengan mordant menjadi kompleks pewarna aktif yang bersifat basa (kationik). Kompleks ini memiliki afinitas tinggi terhadap komponen asam dalam sel, terutama asam nukleat seperti DNA dan RNA yang terdapat dalam inti sel (Bali, 2024). Eosin adalah pewarna asam (anionik) yang memiliki afinitas terhadap struktur basa dalam sel, seperti protein di sitoplasma dan matriks ekstraseluler. Eosin akan mewarnai sitoplasma dan komponen lainnya dengan warna merah muda hingga merah, tergantung pada konsentrasi dan waktu pewarnaan (Jumardi dkk., 2023).

Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 30% selama 10 menit inti sel dan sitoplasma berwarna biru serta hasil dari gambaran secara mikroskopis tidak terwarnai dengan baik sehingga sulit dibedakan antara inti sel dan sitoplasma. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 30% selama 15 menit inti sel berwarna biru dan sitoplasma berwarna merah kebiruan serta hasil gambaran secara mikroskopis tidak terwarnai dengan baik namun masih dapat membedakan antara inti sel dan sitoplasma. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 30% selama 20 menit inti sel dan sitoplasma berwarna biru serta hasil dari gambaran secara mikroskopis tidak terwarnai dengan baik sehingga sulit dibedakan antara inti sel dan sitoplasma.

Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 35% selama 10 menit inti sel dan sitoplasma berwarna biru serta hasil dari gambaran secara mikroskopis tidak terwarnai dengan baik, sehingga sulit

dibedakan antara inti sel dan sitoplasma. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 35% selama 15 menit inti sel berwarna biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah keunguan serta hasil dari gambaran secara mikroskopis terwarnai dengan jelas sehingga dapat dibedakan antara inti sel dan sitoplasma. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 35% selama 20 menit inti sel berwarna biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah kebiruan serta hasil dari gambaran secara mikroskopis terwarnai dengan jelas dan dapat dibedakan antara inti sel dan sitoplasma.

Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 40% selama 10 menit inti sel dan sitoplasma berwarna biru keabuan serta hasil dari gambaran secara mikroskopis terwarnai kurang jelas sehingga inti sel dan sitoplasma tidak dapat dibedakan. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 40% selama 15 menit inti sel berwarna biru dan sitoplasma berwarna merah keunguan serta hasil gambaran secara mikroskopis terwarnai dengan jelas dan dapat dibedakan antara inti sel dan sitoplasma. Pada kelompok sediaan yang diwarnai menggunakan ekstrak kuncup daun jati 40% selama 20 menit inti sel dan sitoplasma berwarna biru sehingga inti sel dan sitoplasma serta hasil gambaran secara mikroskopis terwarnai kurang jelas namun masih dapat dibedakan antara inti sel dan sitoplasma.

Berikut ini rekapitulasi data hasil penilaian pada pewarnaan Hematoksin Eosin menggunakan eosin dan ekstrak kuncup daun jati sebagai pengganti eosin disajikan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rekapitulasi data hasil penilaian pada pewarnaan Hematoksin Eosin sediaan histologi menggunakan eosin dan ekstrak kuncup daun jati

Perlakuan	Hasil Penilaian						Total	
	Skor 1		Skor 2		Skor 3		n	%
	n	%	N	%	n	%		
Kontrol	0	0	0	0	3	100	3	100
Ekstrak 30 % - 10 menit	3	100	0	0	0	0	3	100
Ekstrak 30 % - 15 menit	1	11,1	2	88,9	0	0	3	100
Ekstrak 30 % - 20 menit	2	88,9	1	11,1	0	0	3	100
Ekstrak 35 % - 10 menit	2	88,9	1	11,1	0	0	3	100
Ekstrak 35 % - 15 menit	1	11,1	0	0	2	88,9	3	100
Ekstrak 35 % - 20 menit	0	0	1	11,1	2	88,9	3	100
Ekstrak 40 % - 10 menit	3	100	0	0	0	0	3	100
Ekstrak 40 % - 15 menit	0	0	0	0	3	100	3	100
Ekstrak 40 % - 20 menit	2	88,9	1	11,1	0	0	3	100

Keterangan : n = jumlah sediaan

Hasil penilaian kualitas sediaan histologi pada pewarnaan Hematoksin Eosin menunjukkan hasil pada 3 slide kontrol mendapatkan skor 3 (100%).

Pada kelompok sediaan ekstrak kuncup daun jati 30% dan 40% dengan waktu pewarnaan selama 10 menit menunjukkan hasil skor 1 pada semua slide (100%). Pada kelompok sediaan ekstrak kuncup daun jati 30% selama 20 menit, 35% selama 10 menit, dan 40% selama 20 menit menunjukkan hasil sediaan sebanyak 2 slide mendapatkan skor 1 (88,9%) dan 1 slide mendapatkan skor 2 (11,1%). Pada kelompok sediaan ekstrak kuncup daun jati 30% selama 15 menit menunjukkan hasil sediaan pada 2 slide mendapatkan skor 2 (88,9%) dan 1 slide mendapatkan skor 1 (11,1%).

Pada kelompok sediaan ekstrak kuncup daun jati 35% selama 15 menit menunjukkan hasil sediaan sebanyak 2 slide mendapatkan skor 3 (88,9%) dan

sediaan 1 slide mendapatkan skor 1 (11,1%). Pada kelompok sediaan ekstrak kuncup daun jati 35% selama 20 menit menunjukkan hasil sediaan sebanyak 2 slide mendapatkan skor 3 (88,9%) dan sediaan 1 slide mendapatkan skor 2 (11,1%). Pada kelompok sediaan ekstrak kuncup daun jati 40% selama 15 menit menunjukkan hasil skor 3 pada semua slide (100%).

Berdasarkan data penelitian yang diperoleh, dilanjutkan dengan uji statistik untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna dari hasil pewarnaan hematoksilin dengan eosin dan ekstrak kuncup daun jati sebagai pewarna alternatif. Pada penelitian ini digunakan uji Kruskal-Wallis dengan tujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara seluruh kelompok perlakuan. Uji ini dipilih karena data yang diperoleh berskala ordinal dan jumlah sampel per kelompok relatif kecil. Interpretasi hasil didasarkan pada nilai signifikansi (p), di mana apabila nilai $p > 0,05$ maka disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok, sedangkan apabila nilai $p \leq 0,05$ maka dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan di antara kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikan dari data perlakuan eosin dan ekstrak kuncup daun jati $p=0,005$ ($p<0,05$) sehingga data dinyatakan ada perbedaan, maka dilanjutkan dengan uji beda non parametrik *Man Whitney U*. Uji *Man Whitney U* bertujuan untuk melihat kelompok mana yang terdapat ada tidaknya perbedaan bermakna antar masing-masing kelompok. Jika nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* $< 0,05$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan, artinya kualitas pewarnaan antar kelompok tersebut

relatif tidak sama, sedangkan jika nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* >0,05 menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan, artinya kualitas pewarnaan antar kelompok tersebut relatif sama secara statistik.

Berikut ini data hasil uji Man Whitney U antara kontrol menggunakan eosin dengan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak kuncup daun jati pada pewarnaan Hematoksin Eosin disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Rekapitulasi data hasil uji Mann Whitney U antara kontrol menggunakan eosin dengan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak kuncup daun jati pada pewarnaan Hematoksin Eosin

NO	KELOMPOK	NILAI	KETERANGAN
1	Kontrol dan ekstrak 30% selama 10 menit	0,025	Ada perbedaan
2	Kontrol dan ekstrak 30% selama 15 menit	0,034	Ada perbedaan
3	Kontrol dan ekstrak 30% selama 20 menit	0,034	Ada perbedaan
4	Kontrol dan ekstrak 35% selama 10 menit	0,034	Ada perbedaan
5	Kontrol dan ekstrak 35% selama 15 menit	0,317*	Tidak ada perbedaan
6	Kontrol dan ekstrak 35% selama 20 menit	0,317*	Tidak ada perbedaan
7	Kontrol dan ekstrak 40% selama 10 menit	0,025	Ada perbedaan
8	Kontrol dan ekstrak 40% selama 15 menit	1*	Tidak ada perbedaan
9	Kontrol dan ekstrak 40% selama 10 menit	0,034	Ada perbedaan

Keterangan : Tanda * artinya tidak ada perbedaan bermakna

Berdasarkan data hasil uji Man Whitney U yang telah dilakukan menggunakan ekstrak kuncup daun jati menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada konsentrasi 35% selama 15 menit dan 20 menit ($p=0,317$) serta pada konsentrasi 40% selama 15 menit ($p=1$) dengan kontrol. Untuk melihat apakah terdapat perbedaan antara kelompok yang tidak berbeda dengan kontrol, maka dilanjutkan dengan uji Man Whitney U antar kelompok

perlakuan tersebut. Hasil uji Man Whitney U menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada konsentrasi 35% selama 15 menit dengan konsentrasi 40% selama 15 menit ($p=0,034$), sedangkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada konsentrasi 35% selama 15 menit dengan 35% selama 20 menit ($p=1,000$), serta konsentrasi 35% selama 20 menit dengan konsentrasi 40% selama 15 menit ($p=0,317$).

Pada variasi konsentrasi dan waktu ekstrak memengaruhi kualitas pewarnaan, dengan durasi 15 menit terbukti paling optimal karena menghasilkan warna jelas tanpa terlalu pekat. Secara mikroskopis, sitoplasma tampak berwarna merah muda, biru, ungu, hingga keabu-abuan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin pekat warna merah dalam pelarut, sehingga semakin banyak juga kandungan antosianin dan asam yang ada pada ekstrak tersebut. Senyawa antosianin pada pH 5 yang diidentifikasi ialah Pelargonidin 3,7-glukosida, yang akan memberikan warna merah dengan nuansa orange. Antosianin akan menunjukkan warna merah pada pH asam, namun seiring peningkatan pH, warnanya berubah menjadi kuning, biru, hingga tidak berwarna (Surianti dkk., 2019).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pewarnaan antara lain perbedaan lokasi pengambilan kuncup daun jati, kadar antosianin, jenis pelarut yang digunakan, lamanya maserasi, larutan pengenceran, serta jenis sampel yang digunakan. Perbedaan musim juga dapat mempengaruhi kadar pigmen dan intensitasnya warna karena faktor lingkungan, seperti pada musim hujan kandungan air dalam daun jati lebih tinggi dan daun jati lebih besar sehingga

ekstrak menjadi lebih encer dan kurang tepat yang dapat menurunkan kualitas dan intensitas warna, sedangkan konsentrasi pigmen antosianin lebih pekat pada musim kemarau saat daun mengandung lebih banyak metabolit sekunder (Badruttamam, 2022).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kuncup daun jati 35% selama 15 menit menjadi pilihan awal yang paling efisien dan dapat direkomendasikan sebagai pengganti eosin karena apabila dipertimbangkan kualitas, efisiensi bahan/waktu, dan kemudahan standarisasi, serta penggunaan ekstrak dengan konsentrasi yang lebih sedikit yang dapat menghasilkan warna pada jaringan tidak terlalu pekat sekaligus efektif. Meskipun begitu konsentrasi 35% selama 20 menit dan konsentrasi 40% selama 15 menit tetap layak dipertimbangkan sebagai alternatif efisien.