

Efektivitas Ekstrak Buah Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) sebagai Pewarna Inti Sel Alternatif Hematoksilin pada Preparat Histologi Hepar Mencit (*Mus musculus*)

Candra Widyasmara¹, Yuyun Nailufar², Yeni Rahmawati³

^{1,2,3}Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia
Email Korespondensi: ccandrawa@gmail.com

ABSTRAK

Pewarnaan inti sel merupakan tahapan penting dalam pemeriksaan histologi untuk memperjelas struktur sel dan jaringan. Hematoksilin merupakan pewarna inti sel yang digunakan secara luas, namun penggunaannya masih memiliki beberapa keterbatasan, antara lain ketergantungan terhadap bahan impor serta penggunaan bahan kimia sintetis. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan pewarna alami yang lebih ramah lingkungan sebagai alternatif pewarna histologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi ekstrak buah senggani (*Melastoma malabathricum* L.) sebagai alternatif pewarna inti sel dibandingkan hematoksilin pada preparat histologi hepar mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium eksperimental (*experimental laboratory study*) yang menggunakan dua kelompok, yaitu kelompok kontrol (hematoksilin) dan kelompok perlakuan (ekstrak buah senggani). Sampel penelitian terdiri atas 32 preparat histologi hepar mencit yang dibagi menjadi 16 preparat kontrol dan 16 preparat perlakuan. Penilaian kualitas pewarnaan dilakukan berdasarkan intensitas dan ketajaman warna inti sel, kemudian dianalisis secara deskriptif dan menggunakan uji Mann–Whitney. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh preparat pada kelompok kontrol memperoleh skor kualitas pewarnaan yang lebih tinggi (rerata = 6), sedangkan seluruh preparat pada kelompok perlakuan memperoleh rerata skor 2, yang menunjukkan kualitas pewarnaan inti sel lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hasil uji Mann–Whitney menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok ($p < 0,001$). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah senggani belum mampu menghasilkan kualitas pewarnaan inti sel yang setara dengan hematoksilin pada kondisi penelitian ini. Meskipun demikian, ekstrak buah senggani masih berpotensi untuk dikembangkan sebagai pewarna alami histologi melalui optimasi konsentrasi, metode ekstraksi, penggunaan mordant, dan kondisi pewarnaan.

Kata Kunci: Buah Senggani; Hematoksilin; Histologi; Inti Sel; Pewarna Alami

ABSTRACT

Effectiveness of Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Fruit Extract as an Alternative Hematoxylin Nuclear Stain for Mouse (*Mus musculus*) Liver Histological Preparations

Nuclear staining is an important step in histological examination to clarify cell and tissue structure. Hematoxylin is a widely used nuclear stain, but its use still has several limitations, including dependence on imported materials and the use of synthetic chemicals. Therefore, it is necessary to develop more environmentally friendly natural dyes as an alternative histological stain. This study aims to

evaluate the potential of senggani fruit extract (Melastoma malabathricum L.) as an alternative nuclear stain compared to hematoxylin in liver histology preparations of mice (Mus musculus). This study is an experimental laboratory study using two groups, namely the control group (hematoxylin) and the treatment group (senggani fruit extract). The study sample consisted of 32 liver histology preparations of mice divided into 16 control preparations and 16 treatment preparations. Assessment of staining quality was carried out based on the intensity and sharpness of the nuclear color, then analyzed descriptively and using the Mann–Whitney test. The results showed that all preparations in the control group obtained a higher staining quality score (mean = 6), while all preparations in the treatment group obtained a mean score of 2, indicating a lower quality of cell nucleus staining compared to the control group. The results of the Mann–Whitney test showed a significant difference between the two groups ($p < 0.001$). Based on these results, it can be concluded that senggani fruit extract has not been able to produce a quality of cell nucleus staining that is equivalent to hematoxylin under the conditions of this study. However, senggani fruit extract still has the potential to be developed as a natural histological dye through optimization of concentration, extraction method, use of mordant, and staining conditions.

Kata Kunci: *Senggani Fruit; Hematoxylin ; Histology; Cell Nucleus; Natural Dye*

PENDAHULUAN

Histologi merupakan cabang ilmu yang mempelajari struktur jaringan secara mikroskopis dan menjadi bagian penting dalam pemeriksaan patologi anatomi. Pemeriksaan histologi digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit melalui pengamatan perubahan morfologi sel dan jaringan. Proses pembuatan preparat histologi, tahapan pewarnaan memiliki peranan penting karena bertujuan memberikan kontras warna pada jaringan sehingga struktur sel dapat diamati dengan jelas menggunakan mikroskop (Rahmawati et al., 2023).

Pewarnaan yang paling umum digunakan dalam pemeriksaan histologi adalah pewarnaan *Hematoksilin Eosin* (HE). Pewarnaan ini mampu memberikan gambaran morfologi jaringan dengan jelas karena hematoksilin akan mewarnai inti sel menjadi biru keunguan, sedangkan eosin memberikan warna merah muda pada sitoplasma dan jaringan ikat. Kombinasi kedua pewarna tersebut menghasilkan kontras yang baik sehingga memudahkan identifikasi struktur jaringan normal maupun patologis (Mescher, 2016). Selain itu, pewarnaan HE juga dianggap sebagai standar rutin dalam pemeriksaan histopatologi karena metode ini relatif sederhana, efektif, dan memberikan hasil yang konsisten (Ortiz-Hidalgo & Pina-Oviedo, 2019).

Hematoksilin-eosin memiliki kualitas pewarnaan yang baik dan tetap menjadi standar rutin dalam histologi, tetapi penggunaannya juga memiliki keterbatasan. Hematoksilin merupakan pewarna alami yang berasal dari kayu *Haematoxylum campechianum*, dan beberapa laporan menyebutkan adanya kendala biaya, umur simpan, serta suplai reagen (Karlina et al., 2025; Pradeepthi et al., 2023). Di sisi lain, komponen sintesis dalam pewarnaan H&E, terutama eosin, dikaitkan dengan bahaya kesehatan dan lingkungan, termasuk potensi iritasi serta masalah pembuangan limbah, sehingga mendorong pengembangan alternatif pewarna alami yang lebih aman dan ramah lingkungan (Nadifah et al., 2024).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah memanfaatkan bahan alami yang mengandung pigmen sebagai alternatif pewarna histologi. Tanaman senggani (*Melastoma malabathricum L.*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis, termasuk Indonesia, dan diketahui mengandung pigmen antosianin yang tinggi (Purwaningsih et al., 2023). Antosianin merupakan pigmen alami golongan flavonoid yang mampu menghasilkan warna merah, ungu, hingga biru bergantung pada kondisi pH larutan (Rifanda & Novelni, 2024). Pigmen ini berpotensi digunakan sebagai pewarna inti sel karena memiliki afinitas terhadap komponen bermuatan negatif, seperti asam nukleat pada inti sel, sehingga dapat menghasilkan kontras warna pada preparat histologi (Pratiwi & Shiyan, 2021).

Berbagai tanaman yang mengandung antosianin telah dilaporkan memiliki potensi sebagai pewarna histologi alami, di antaranya bunga telang (*Clitoria ternatea*), kubis merah (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*), dan rosella (*Hibiscus sabdariffa*) (Kuşçulu, 2021). Namun, masing-masing bahan tersebut memiliki keterbatasan, seperti intensitas pewarnaan inti sel yang belum konsisten, kestabilan pigmen yang dipengaruhi pH dan penyimpanan (Badar et al., 2022; Fu et al., 2021), Perubahan pH juga menggeser warna antosianin bunga telang dan menurunkan stabilitasnya pada pH yang lebih tinggi (Gamage et al., 2021). Dibandingkan tanaman tersebut, buah senggani memiliki beberapa keunggulan potensial, yaitu tumbuh liar dan melimpah di berbagai wilayah Indonesia sehingga lebih mudah diperoleh dengan biaya yang relatif rendah. Selain itu, buah senggani dilaporkan memiliki kandungan antosianin dan senyawa fenolik yang tinggi sehingga berpotensi menghasilkan intensitas pewarnaan yang lebih baik dan mendukung pengembangan pewarna histologi berbasis bahan alam lokal yang lebih berkelanjutan (Indrawati et al., 2022).

Ekstrak buah senggani (*Melastoma malabathricum L.*) mengandung pigmen antosianin yang berperan sebagai zat pewarna alami. Pada proses pewarnaan, molekul antosianin diperkirakan berdifusi ke dalam jaringan dan berinteraksi dengan komponen kromatin yang kaya akan DNA di dalam inti sel sehingga menghasilkan kontras warna merah hingga ungu pada nukleus. Intensitas warna yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi antosianin, pH larutan, lama pewarnaan, serta afinitas pigmen terhadap komponen inti sel (Jasphin et al., 2023).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bahan alami yang mengandung antosianin dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pewarna histologi. Penelitian tahun 2024 pada ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) menunjukkan bahwa pewarna ini dapat mewarnai granula sel mast secara spesifik, dan nukleus tampak merah muda pucat, sehingga mendukung potensinya sebagai pewarna histopatologi alternatif, meskipun belum menyamai H&E untuk penilaian struktur jaringan dan grading tumor (Polkaew et al., 2024). Penelitian lain oleh Adiningsih et al. (2024) juga menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang memiliki kemampuan mewarnai nukleus, tetapi hasilnya bukan setara hematoksilin untuk semua tujuan histologi. Meskipun demikian, penelitian-penelitian tersebut masih berfokus pada jenis tanaman tertentu, sedangkan potensi ekstrak buah senggani sebagai pewarna inti sel belum banyak dievaluasi. Selain itu, belum terdapat kajian yang secara khusus membandingkan efektivitas ekstrak buah senggani dalam menghasilkan intensitas dan ketajaman pewarnaan inti sel pada jaringan hepar menggunakan pendekatan kuantitatif. Kondisi tersebut menunjukkan masih adanya kesenjangan penelitian (*research gap*) mengenai pemanfaatan buah senggani sebagai alternatif

pengganti hematoksilin dalam pewarnaan histologi.

Penelitian ini merupakan penelitian yang secara khusus mengevaluasi efektivitas ekstrak buah senggani (*Melastoma malabathricum L.*) sebagai pewarna inti sel pengganti hematoksilin pada preparat histologi jaringan hepar mencit berdasarkan intensitas dan ketajaman pewarnaan. Evaluasi dilakukan melalui pengamatan mikroskopis dan analisis statistik untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan hasil pewarnaan antar kelompok perlakuan. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak senggani sebagai pewarna alami alternatif dalam bidang histoteknologi serta menjadi dasar pengembangan penelitian selanjutnya terkait pemanfaatan bahan alam sebagai pewarna histologi.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium eksperimental (*experimental laboratory study*) dengan pendekatan kuantitatif. Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak buah senggani (*Melastoma malabathricum L.*) sebagai pewarna inti sel pengganti hematoksilin pada preparat histologi jaringan hepar mencit (*Mus musculus*). Penelitian menggunakan dua kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol yang menggunakan pewarna hematoksilin dan kelompok perlakuan yang menggunakan ekstrak buah senggani sebagai pewarna inti sel. Kualitas hasil pewarnaan dibandingkan berdasarkan intensitas warna dan ketajaman inti sel. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Waskitha, Yogyakarta. Waktu penelitian berlangsung pada bulan Desember 2025 sampai Juni 2026.

Populasi penelitian adalah seluruh preparat histologi jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang digunakan untuk penilaian kualitas pewarnaan inti sel. Sampel penelitian berupa preparat histologi jaringan hepar mencit yang memenuhi kriteria penelitian. Sampel dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol sebanyak 16 preparat yang diwarnai menggunakan hematoksilin dan kelompok perlakuan sebanyak 16 preparat yang diwarnai menggunakan ekstrak buah senggani, sehingga total sampel penelitian berjumlah 32 preparat histologi. Penentuan jumlah sampel dilakukan menggunakan rumus Federer, yaitu:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Dengan t merupakan jumlah kelompok perlakuan dan n merupakan jumlah sampel pada setiap kelompok. Karena penelitian ini menggunakan dua kelompok ($t = 2$), maka diperoleh perhitungan sebagai berikut:

$$(2-1)(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 16$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, jumlah minimal sampel pada masing-masing kelompok adalah 16 preparat, sehingga total sampel penelitian sebanyak 32 preparat histologi.

Ekstrak buah senggani dibuat menggunakan metode maserasi. Buah senggani yang telah matang dicuci, disortasi, kemudian dihaluskan menggunakan blender. Sebanyak 50 gram sampel dimaserasi menggunakan 500 mL etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 (b/v) selama 24 jam pada suhu ruang di dalam wadah tertutup dan terlindung dari cahaya. Setelah proses maserasi selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan proses ekstraksi

diulangi sebanyak tiga kali untuk memperoleh ekstraksi yang optimal. Filtrat hasil penyaringan kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40–45°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan dalam botol kaca berwarna gelap pada suhu 4°C hingga digunakan pada proses pewarnaan preparat. Sebelum digunakan, dilakukan pengukuran pH ekstrak untuk memastikan kondisi larutan tetap sesuai selama proses pewarnaan. Penyesuaian pH dilakukan berdasarkan hasil penelitian pendahuluan guna memperoleh kualitas pewarnaan yang optimal dengan tetap mempertahankan stabilitas pigmen antosianin sebagai komponen pewarna utama.

Jaringan hepar dipilih sebagai objek penelitian karena memiliki struktur histologis yang jelas, dengan hepatosit yang tersusun teratur dan memiliki inti sel yang relatif besar sehingga memudahkan evaluasi kualitas pewarnaan inti sel. Selain itu, jaringan hepar merupakan salah satu organ yang umum digunakan sebagai preparat standar dalam penelitian histologi karena karakteristik morfologinya yang mudah diamati. Mencit (*Mus musculus*) diterminasi secara humanis menggunakan anestesi inhalasi eter sesuai prosedur laboratorium sebelum dilakukan pengambilan organ. Setelah terminasi, jaringan hepar segera difiksasi selama 24 jam, kemudian diproses menggunakan metode histoteknik yang meliputi dehidrasi bertingkat, clearing, infiltrasi parafin, embedding, pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3–5 µm, floating, penempelan pada kaca objek, dan pewarnaan jaringan.

Tahapan pewarnaan preparat meliputi deparafinisasi menggunakan xylol, rehidrasi dengan alkohol bertingkat, pewarnaan kelompok kontrol menggunakan hematoksin selama 5 menit dan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak buah senggani selama 15 menit, diferensiasi menggunakan asam alkohol, bluing menggunakan litium karbonat, pewarnaan eosin selama 5 menit, dehidrasi, clearing, dan mounting menggunakan entelan.

Penilaian kualitas pewarnaan dilakukan secara blinded oleh dokter spesialis Patologi Anatomi yang tidak mengetahui kelompok perlakuan pada setiap preparat. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400× berdasarkan dua parameter, yaitu intensitas warna inti sel dan ketajaman warna inti sel. Penilaian mengacu pada kriteria yang dikembangkan oleh Sofyanita & Siwi (2024). Masing-masing parameter diberikan skor 1–3 sesuai tingkat kualitas pewarnaan. Skor intensitas warna inti sel dan ketajaman warna inti sel kemudian dijumlahkan sehingga diperoleh skor total dengan rentang 2–6. Semakin tinggi skor menunjukkan kualitas pewarnaan inti sel yang semakin baik. Kriteria penilaian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Skoring Penilaian

Skoring	Penilaian intensitas warna inti sel	Penilaian ketajaman warna inti sel
1	Intensitas warna biru inti sel sangat tidak jelas	Warna inti sel sangat pucat, tidak jelas
2	Intensitas warna biru kurang jelas	Warna inti sel kontras kurang tegas, cukup jelas
3	Intensitas warna biru sangat jelas dan seragam	Warna inti sel sangat kontras sel sangat jelas

Sumber : (Sofyanita & Siwi, 2024)

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif menggunakan nilai mean, median, simpangan baku, modus, dan persentase. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro–Wilk*. Apabila data berdistribusi normal, analisis dilakukan menggunakan uji parametrik yang sesuai. Namun, apabila data tidak berdistribusi normal, perbedaan kualitas pewarnaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji *Mann–Whitney U* dengan bantuan perangkat lunak *IBM SPSS Statistics* pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

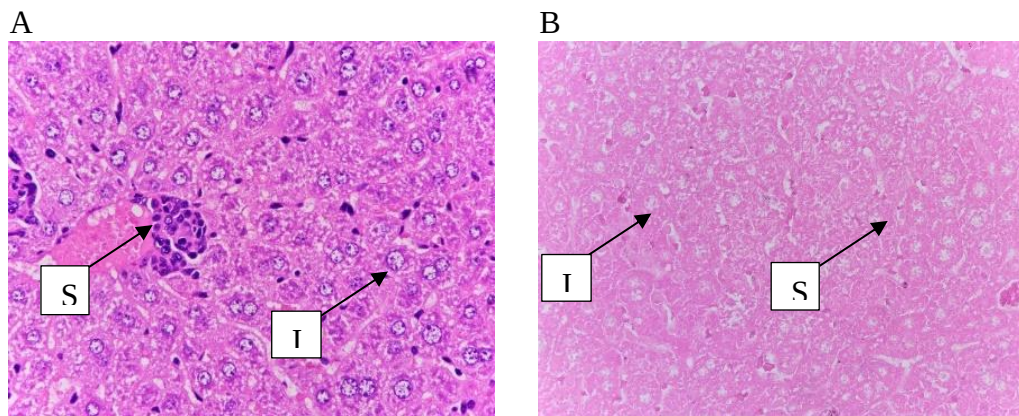
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak buah senggani sebagai pewarna inti sel pengganti hematoksin pada preparat histologi hepar mencit (*Mus musculus*). Penilaian preparat dilakukan berdasarkan dua parameter, yaitu intensitas warna inti sel dan ketajaman warna inti sel menggunakan metode skoring 1–3. Pengamatan dilakukan pada 16 preparat kelompok kontrol hematoksin dan 16 preparat kelompok ekstrak buah senggani.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan kualitas pewarnaan inti sel antara preparat yang menggunakan hematoksin dan preparat yang menggunakan ekstrak buah senggani Senggani sebagai pewarna alami. Perbedaan tersebut terlihat dari intensitas warna, ketajaman inti sel, serta kejelasan detail jaringan pada preparat histologi yang diamati secara mikroskopis.

Intensitas Warna Inti Sel



Gambar 1. (A) Pewarnaan kontrol Hematoksin Eosin, dan (B) pewarnaan perlakuan ekstrak buah senggani; (I) inti sel; (S) sitoplasma

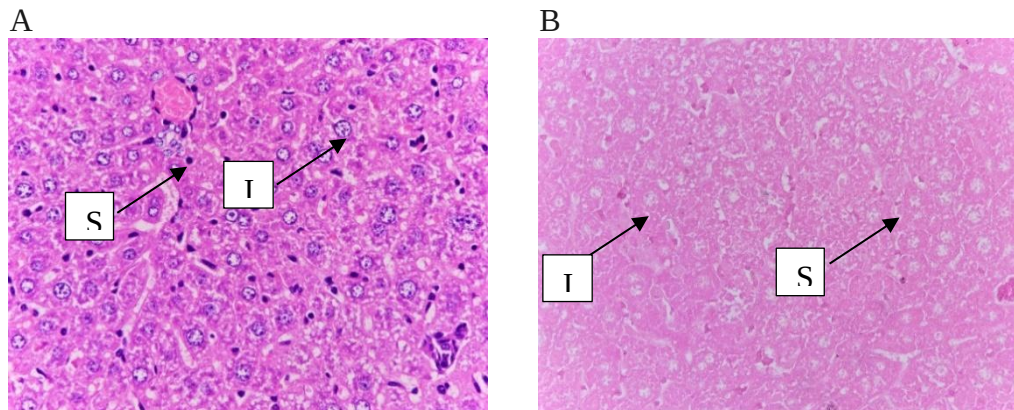
Berdasarkan pengamatan mikroskopik, gambar A sebagai kontrol menunjukkan intensitas warna inti sel yang lebih mencolok, jelas, dan kontras jika dibandingkan dengan Gambar B yang berfungsi sebagai perlakuan. Gambar A, inti sel terlihat berwarna ungu tua hingga biru keunguan yang membuat struktur nukleus mudah dikenali dari sitoplasma. Ini menunjukkan bahwa pewarna kontrol memiliki kemampuan ikatan yang sangat baik dengan kromatin inti sel. Gambar B, intensitas warna inti sel tampak lebih redup dan kurang jelas sehingga batas inti sel sulit dikenali. Pucatnya warna pada perlakuan dapat disebabkan oleh rendahnya kemampuan pigmen alami dalam mengikat komponen inti sel secara optimal, serta dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti konsentrasi ekstrak, pH, dan kestabilan dari zat warna (Alshamar et al., 2022).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa preparat kontrol yang diwarnai menggunakan hematoksin menghasilkan intensitas warna inti sel yang lebih tinggi dibandingkan preparat yang diwarnai menggunakan ekstrak buah senggani. Perbedaan tersebut diduga berkaitan dengan mekanisme pewarnaan yang berbeda antara hematoksin dan antosianin (Kiernan, 2018). Secara kimia, hematoksin terlebih dahulu mengalami oksidasi menjadi hematein, kemudian membentuk kompleks dengan mordant logam, seperti ion aluminium atau besi, sehingga menghasilkan lake complex bermuatan positif. Kompleks ini memiliki afinitas yang tinggi terhadap gugus fosfat bermuatan negatif pada DNA dan RNA di dalam kromatin, sehingga mampu menghasilkan pewarnaan inti sel yang kuat, kontras, dan stabil (Kiernan, 2018). Sebaliknya, antosianin sebagai pigmen utama pada buah senggani merupakan senyawa flavonoid yang secara alami tidak membentuk kompleks mordant sekuat hematein. Kondisi tersebut diduga menyebabkan afinitas antosianin terhadap komponen inti sel menjadi lebih rendah, sehingga intensitas warna yang dihasilkan cenderung lebih pucat dibandingkan hematoksin.

Selain mekanisme ikatan dengan kromatin, karakteristik kimia antosianin juga diduga memengaruhi kualitas pewarnaan. Antosianin merupakan pigmen fenolik/flavonoid yang strukturnya peka terhadap pH dan mudah dipengaruhi oleh cahaya, suhu, oksidasi, ion logam, serta faktor lingkungan lain, sehingga stabilitas warnanya relatif rendah dan dapat mengalami perubahan menjadi bentuk yang kurang berwarna atau tidak berwarna (Enaru et al., 2021; Khoo et al., 2017). Stabilitas pigmen yang lebih rendah tersebut dapat mengurangi kemampuan antosianin untuk mempertahankan intensitas warna selama proses pewarnaan jaringan, sehingga kontras inti sel menjadi kurang optimal (Khoo et al., 2017). Namun demikian, penelitian ini tidak mengevaluasi stabilitas kimia maupun afinitas antosianin terhadap DNA secara langsung, sehingga mekanisme tersebut masih bersifat dugaan yang didasarkan pada kajian literatur.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan berbagai penelitian mengenai pemanfaatan pewarna alami sebagai alternatif hematoksin. (Adiningsih et al., 2024) melaporkan bahwa ekstrak bunga telang mampu mewarnai inti sel, namun kualitas pewarnaannya masih dipengaruhi oleh kondisi larutan pewarna. Demikian pula, Karlina et al., (2025) menunjukkan bahwa ekstrak kubis merah menghasilkan pewarnaan inti sel yang cukup baik, meskipun intensitasnya masih lebih rendah dibandingkan hematoksin. Temuan serupa juga dilaporkan pada beberapa penelitian internasional yang menyatakan bahwa pewarna alami berbasis antosianin memiliki potensi sebagai pewarna histologi, tetapi efektivitasnya masih dipengaruhi oleh konsentrasi pigmen, stabilitas senyawa aktif, lama pewarnaan, serta penggunaan mordant untuk meningkatkan afinitas terhadap jaringan (Kiernan, 2018). Oleh karena itu, hasil penelitian ini memperkuat bahwa ekstrak buah senggani memiliki potensi sebagai pewarna alami, namun masih memerlukan optimasi formulasi, seperti pengaturan konsentrasi ekstrak, evaluasi kondisi pH, dan penggunaan mordant yang sesuai agar kualitas pewarnaannya dapat mendekati hematoksin sebagai standar pewarnaan histologi.

Ketajaman Warna Inti Sel



Gambar 2. (A) Pewarnaan kontrol Hematoksilin Eosin, dan (B) Pewarnaan perlakuan ekstrak buah senggani; (I) inti sel; (S) sitoplasma

Berdasarkan hasil pengamatan menggunakan mikroskop, Gambar A yang berfungsi sebagai kontrol memperlihatkan kecerahan warna inti sel yang lebih baik bila dibandingkan dengan gambar B sebagai perlakuan. Gambar A, inti sel tampak lebih jelas, tegas, dan batasnya mudah dibedakan dari inti sel di sekelilingnya. Warna inti sel tampak lebih kuat sehingga rinci morfologi jaringan, seperti bentuk dan posisi inti sel, dapat dilihat dengan jelas. Kecerdahan warna yang baik menunjukkan bahwa zat pewarna kontrol mampu mengikat dengan sempurna pada kromatin inti sel, sehingga memberikan kontras yang tinggi pada preparat jaringan (Pramesti et al., 2025).

Gambar B yang menunjukkan perlakuan, kejelasan warna inti sel terlihat berkurang. Inti sel tampak tidak jelas dan batas antara struktur jaringan kurang tampak, sehingga detail morfologi jaringan sulit untuk diperhatikan dengan baik. Penurunan ketajaman warna ini disebabkan oleh efektivitas ekstrak pewarna alami yang belum optimal dalam penetrasi dan pengikatan pada komponen inti sel. Selain itu, variabel seperti konsentrasi ekstrak, stabilitas pigmen, durasi pewarnaan, dan pH dari larutan juga dapat mempengaruhi kualitas ketajaman warna dalam preparat histologi (Darmadi & Dikna, 2022).

Hasil riset ini sejalan dengan studi pemakaian pewarna alami sebagai pengganti hematoksilin yang mencatat bahwa kontrol preparat hematoksilin menunjukkan ketajaman inti sel yang lebih superior dibandingkan dengan pewarna alami. Penelitian yang memanfaatkan ekstrak antosianin mengindikasikan bahwa tampilan inti sel pada perlakuan cenderung terlihat lebih redup dan tidak tajam disebabkan oleh afinitas pigmen yang rendah terhadap kromatin inti sel (Adiningsih et al., 2024). Studi lain menunjukkan bahwa kejernihan warna sangat tergantung pada stabilitas pigmen alami serta tingkat pH, pewarna alami yang tidak stabil menciptakan batas inti sel yang lebih kabur jika dibandingkan dengan hematoksilin standar.

Rendahnya hasil pewarnaan ekstrak buah senggani dapat disebabkan oleh kemampuan pigmen antosianin yang kurang optimal dalam berikatan dengan struktur inti sel jaringan. Antosianin adalah pigmen alami yang memberikan warna ungu kemerahan, tetapi stabilitasnya sangat dipengaruhi oleh pH, suhu, konsentrasi ekstrak, dan durasi pewarnaan. Selain itu, kurangnya penggunaan mordant bisa

mengakibatkan ikatan warna dengan inti sel menjadi lemah, sehingga warna inti sel terlihat pudar dan kurang mencolok. Hasil tersebut untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan, dilakukan analisis statistik dengan menggunakan program SPSS.

Uji Statistik

Tabel 2.
Uji Deskriptif (Mean, Modus, Dan Persentasi)

Kelompok	Mean	Modus	Persentasi dominan
Kontrol	6	6	100% (baik)
Ekstrak buah senggani	2	2	100% (tidak baik)

Tabel 2. Uji deskriptif menunjukkan bahwa kelompok kontrol memiliki nilai rata-rata (*mean*) sebesar 6 dengan modus 6, serta seluruh sampel (100%) berada dalam kategori baik. Sementara itu, kelompok ekstrak memiliki nilai rata-rata 2 dengan modus 2, dengan seluruh sampel (100%) termasuk dalam kategori tidak baik. Berdasarkan hasil analisis deskriptif yang telah diperoleh, selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan Uji Mann–Whitney untuk menganalisis perbedaan antara kelompok yang dibandingkan.

Tabel 3.
Uji Mann-Whitney

Uji Statistik	Nilai sig
<i>Mann-Whitney U</i>	<0,001

Berdasarkan hasil Uji Mann–Whitney yang disajikan pada Tabel 3., diperoleh nilai signifikansi $p < 0,001$. Nilai tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan yang dibandingkan. Penelitian ini mengindikasikan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan inti sel. Kelompok perlakuan yang memperoleh skor lebih tinggi menunjukkan intensitas warna dan ketajaman inti sel yang lebih baik, sehingga struktur inti sel dapat diamati dengan lebih jelas melalui mikroskop. Perbedaan kualitas pewarnaan tersebut diduga berkaitan dengan kemampuan masing-masing zat pewarna dalam berikatan dengan kromatin pada inti sel. Zat pewarna yang memiliki afinitas lebih tinggi terhadap komponen inti sel cenderung menghasilkan warna yang lebih kuat, sehingga kontras jaringan meningkat dan morfologi sel lebih mudah diidentifikasi. Oleh karena itu, hasil analisis statistik ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol dan perlakuan memiliki tingkat efektivitas yang berbeda dalam menghasilkan kualitas pewarnaan histologis.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pewarna alami memiliki keterbatasan dalam menghasilkan intensitas warna dan ketajaman preparat dibandingkan pewarna sintetik hematoksilin-eosin. Penelitian oleh Karlina et al., (2025) menyebutkan bahwa pewarna alami berbasis antosianin menghasilkan kualitas pewarnaan yang masih lebih rendah dibandingkan hematoksilin karena afinitas zat warna terhadap inti sel belum optimal. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh (Darmadi & Dikna, 2022) juga menjelaskan bahwa pH dan konsentrasi zat warna sangat memengaruhi

keberhasilan pewarnaan inti sel pada preparat histologi.

Penyebab Perbedaan Kualitas Pewarnan

Perbedaan kualitas pewarnaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dipengaruhi oleh kemampuan bahan pewarna dalam berinteraksi dengan inti sel. Hematoksilin pada kelompok kontrol menunjukkan afinitas yang tinggi terhadap kromatin di dalam inti sel sehingga menghasilkan warna biru keunguan yang jelas dan kontras. Sementara itu, ekstrak buah senggani mengandung pigmen alami berupa antosianin yang memiliki kemampuan ikatan terhadap komponen inti sel lebih rendah dibandingkan dengan hematoksilin. Akibatnya, pewarnaan inti sel pada kelompok perlakuan tampak lebih pudar dan kurang tegas. Beberapa penelitian mengenai penggunaan pewarna alami juga menunjukkan bahwa pigmen antosianin belum mampu menghasilkan kualitas pewarnaan inti sel yang setara dengan hematoksilin standar. Kondisi tersebut menyebabkan detail inti sel terlihat kurang jelas saat diamati secara mikroskopis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan preparat menggunakan ekstrak buah senggani tetap masih bisa digunakan namun belum sebaik HE. Intensitas dan ketajaman warna inti sel pada preparat perlakuan tampak lebih pudar dan kurang jelas sehingga detail inti sel sulit diamati dengan baik. Kondisi ini diduga disebabkan oleh pigmen alami dalam ekstrak buah senggani yang belum mampu berikatan secara optimal dengan kromatin pada inti sel. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Rahmawati et al., (2023) yang menyatakan bahwa ekstrak biji kesumba keling sebagai pewarna alami histologi belum mampu menghasilkan pewarnaan inti sel sebaik hematoksilin. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pewarna alami lebih dominan mewarnai sitoplasma, sedangkan inti sel masih tampak kurang jelas.

Penelitian sebelumnya juga mengungkapkan bahwa mutu pewarnaan jaringan dipengaruhi oleh stabilitas pigmen alami, konsentrasi ekstrak, serta kondisi pH dari larutan pewarna. Pigmen alami dikenal rentan mengalami kerusakan karena suhu, oksidasi, dan perubahan pH, menyebabkan warna bagian inti sel menjadi kurang jelas dan tidak merata. Penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati et al., (2023), dijelaskan bahwa diferensiasi jaringan paling jelas tetap dihasilkan lewat penggunaan pewarna standar HE dibandingkan dengan pewarna alami kesumba keeling (Rahmawati et al., 2023).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah senggani (*Melastoma malabathricum* L.) belum mampu menghasilkan kualitas pewarnaan inti sel yang setara dengan hematoksilin pada preparat histologi hepar mencit (*Mus musculus*) dalam kondisi penelitian ini. Kelompok kontrol yang menggunakan hematoksilin menunjukkan intensitas dan ketajaman warna inti sel yang lebih jelas, lebih kontras, dan lebih seragam dibandingkan kelompok perlakuan yang menggunakan ekstrak buah senggani. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak buah senggani memiliki potensi sebagai pewarna alami, namun masih memerlukan optimasi agar dapat menghasilkan kualitas pewarnaan yang mendekati hematoksilin sebagai pewarna standar histologi.

Penelitian selanjutnya disarankan melakukan optimasi terhadap berbagai faktor yang memengaruhi kualitas pewarnaan, seperti konsentrasi ekstrak, metode

ekstraksi, lama pewarnaan, penggunaan mordant, serta evaluasi kondisi pH larutan untuk memperoleh kualitas pewarnaan yang lebih optimal. Selain itu, pengujian pada berbagai jenis jaringan dan kondisi preparasi yang berbeda juga diperlukan untuk mengevaluasi potensi ekstrak buah senggani sebagai alternatif pewarna inti sel secara lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiningsih, R., Rahmawati, Y., & Nailufar, Y. (2024). Potensi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Sebagai Pengganti Cat Hematoksilin Dalam Pewarnaan Rutin Jaringan. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(4), 12988–12997. <https://doi.org/10.31004/jkt.v5i4.35535>
- Alshamar, H. A., Hatem, N. A., & Dapson, R. W. (2022). Betacyanins are plant-based dyes with potential as histological stains. *Biotechnic & Histochemistry*, 97(7), 480–489. <https://doi.org/10.1080/10520295.2022.2113142>
- Badar, R. A. D., Carmona, J. L. R., C. Collantes, J. G., R. Lojo, D., B. Ocampo, S. M., C. Ursua, R. L., & Bercede, D. H. (2022). Staining Capability of Plant Extracts for the Identification of Gram-positive and Gram-negative Bacteria: A Systematic Review. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 11(2), 276–284. <https://doi.org/10.5530/ajbls.2022.11.37>
- Darmadi, D., & Dikna, J. (2022). Morfologi Telur Ascaris Lumbricoides Dengan Menggunakan Pewarnaan Hematoksilin Eosin: Morphology Of Worm Eggs Ascaris lumbricoides with Hematoxylin Eosin Stain. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 5(1), 335–340. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v5i1.4433>
- Enaru, B., Dreţcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. *Antioxidants*, 10(12), 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- Fu, X., Wu, Q., Wang, J., Chen, Y., Zhu, G., & Zhu, Z. (2021). Spectral Characteristic, Storage Stability and Antioxidant Properties of Anthocyanin Extracts from Flowers of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.). *Molecules*, 26(22), 7000. <https://doi.org/10.3390/molecules26227000>
- Gamage, G. C. V., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2021). Anthocyanins From *Clitoria ternatea* Flower: Biosynthesis, Extraction, Stability, Antioxidant Activity, and Applications. *Frontiers in Plant Science*, 12, 792303. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.792303>
- Indrawati, R., Ratnawati, G. J., & Tumpuk, S. (2022). Senggani Fruit Anthocyanins (*Melastoma Malabathricum* Auct, Non Linn) As Bacterial Dyes Differential Painting Techniques. *INTEK: Jurnal Penelitian*, 9(1), 18–24. <https://doi.org/10.31963/intek.v9i1.2987>
- Jasphin, S., Raghavendra, A. P., Solomon, M. C., Amuthan, A., Kumar Singh, B. M., & Kairanna, N. V. (2023). Anthocyanins: A Hue For Histology - Systematic Review. *Malaysian Journal of Science*, 42(1), 106–125. <https://doi.org/10.22452/mjs.vol42no1.10>
- Karlina, I., Pusparini, N. A. O., Maharesi, C. E., Saeed, F., Retnoaji, B., Saragih, H., Septriani, N. I., Rohmah, Z., Hadi, S., & Nuriliani, A. (2025). Natural Dye as an Alternative to Hematoxylin-Eosin Staining on Histological

- Preparations. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 139–147. <https://doi.org/10.24002/biota.v10i2.7909>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kiernan, J. (2018). Does progressive nuclear staining with hemalum (alum hematoxylin) involve DNA, and what is the nature of the dye-chromatin complex? *Biotechnic & Histochemistry*, 93(2), 133–148. <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1399466>
- Kuşçulu, N. (2021). *Dual Staining Effect of Extracts Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) and Red Cabbage (Brassica Oleracea) on Wistar Rat Tissues*. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-214239/v1>
- Mescher, A. L. (2016). *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas (12th Editi)*. Mc Graw Hill Education Lange.
- Nadifah, F., Prasetyaningsih, Y., Muhajir, N. F., Murtiningrum, S., Ohoiwutun, C. S. D. P., & Puspita, E. D. (2024). Potential of Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Extract as a Substitute for Eosin in Hematoxylin-Eosin Histological Staining. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*, 11(1), 57–62. <https://doi.org/10.23960/jbekh.v11i1.368>
- Ortiz-Hidalgo, C., & Pina-Oviedo, S. (2019). Hematoxylin: Mesoamerica's Gift to Histopathology. *Palo de Campeche* (Logwood Tree), Pirates' Most Desired Treasure, and Irreplaceable Tissue Stain. *International Journal of Surgical Pathology*, 27(1), 4–14. <https://doi.org/10.1177/1066896918787652>
- Polkaew, M., Sothibandhu, P., Boonsriroj, H., Pavasutthipaisit, S., Meeyoo, V., & Suebkhamphet, A. (2024). Applicability of Butterfly Pea Flower Extract as an Alternative Natural Dye in Histopathological Canine Mast Cell Tumor Diagnosis. *The Pakistan Veterinary Journal*. <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2024.163>
- Pradeepthi, K., Rajani, K., Rao, G., Sravya, T., Wahed, S. A., & Sailaja, J. (2023). Evaluation of biosafe alternative to eosin in hematoxylin and eosin staining procedure: A comparative study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 27(2), 424–425. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_146_22
- Pramesti, T., Nailufar, Y., & Rahmawati, Y. (2025). Variasi Waktu Larutan Fiksasi Bouin terhadap Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin pada Jaringan Histologi Ginjal Mencit. *Anakes : Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 11(2), 250–262. <https://doi.org/10.37012/anakes.v11i2.2708>
- Pratiwi, G., & Shiyani, S. (2021). *Optimasi Ekstraksi Buah Senggani (Melastoma Malabathricum L.): Aplikasi Desain Faktorial Dan Pemeriksaan Kadar Antosianin*. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 6(1). <https://doi.org/10.36729/jam.v9i2.1264>
- Purwaningsih, I., Fathiah, F., Amaliyah, N., & Kuswiyanto, K. (2023). The Phenolic, Flavonoid, and Anthocyanin Content From Methanol Extract of Senggani Fruit and Its Antioxidant Activity. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 10(3), 195–202. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2023.10-pur>

- Rahmawati, F., Purwaning Sari, K., Huda, N., & Rousdy, D. W. (2023). Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* L.) sebagai Pewarna Alami Sediaan Jaringan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JURNAL BIOS LOGOS*, 13(3), 233–242. <https://doi.org/10.35799/jbl.v13i3.51905>
- Rifanda, F., & Novelni, R. (2024). *Pemanfaatan Ekstrak Buah Senggani (Melastoma Malabathricum L) Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Blush On Cream*. 8(3), 42341–42353. <https://jptam.org/index.php/jptam/article/view/20696>
- Sofyanita, E. N., & Siwi, U. P. (2024). Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) pada Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Berdasarkan Ketebalan Mikrotom: Differences in Hemtoxylin Eosin Staining Results in Mice Kidney Histology (*Mus musculus*) Based on Microtome Thickness. *Jurnal Surya Medika*, 10(1), 362–370. <https://doi.org/10.33084/jsm.v10i1.5051>