

Literature Review: Red Dragon Fruit (*Hylocereus costaricensis*) as an Alternative Stain to Hematoxylin-Eosin in Histology Preparation Making

Literature Review : Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Hematoxylin-Eosin Pada Pembuatan Preparat Histologi

Siti Asyah^{1*}, Yuyun Nailufar², Tri Dyah Astuti³

¹⁻³ Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding Author: asyahc6@gmail.com

Recieved: 27 Maret 2024; Revised: 27 Maret 2024; Accepted: 28 Maret 2024

ABSTRACT

Dragon fruit is a tropical fruit of the cactus type, which has several types, one of which is red dragon fruit (*Hylocereus costaricensis*). Red dragon fruit is one type of fruit that has bioactive components such as flavonoids, phenolics, betasianin, and anthocyanins. One of the dominant bioactive components in red dragon fruit is anthocyanin. Anthocyanins are a group of red to blue pigments that are distributed in plants. Anthocyanins in the skin of red dragon fruit are higher than in the fruit flesh so that it can be used as an alternative stain in histology staining. Histology is the knowledge or science of tissues, plants, and animals. One of the stages of making histological preparations is staining. Staining is a process of staining tissues that aims to observe using a microscope and distinguish parts of the tissue to be observed, such as cell nuclei, cytoplasm, and others. One of the stains used is Hematoxylin-Eosin. Hematoxylin-Eosin is a general tissue stain to see tissue morphology. Hematoxylin-Eosin consists of two types of colours, namely Hematoxylin and Eosin. Hematoxylin as a cell nucleus binding dye that is stained blue and weakly bound while eosin as a dye that gives some shades to the tissue and its shades give a red colour to the tissue. The use of eosin is carcinogenic when used in the long term continuously so that it can cause cancer and the remaining waste can damage the environment. Alternative dyes are needed to reduce the impact of eosin use, one of which is by staining red dragon fruit. This study aims to look at the potential of colour uptake in alternative staining of red dragon fruit and staining images on histological smears. The method used in this research is the literature review method. This literature selection on several databases including Google Sholer, PubMed, and Semantic Scholer. There were 5 journals used as literature sources and analysed descriptively qualitatively. The results of this study were obtained in journals 1, 2, 3, and 5 in each tissue sample with good results because the concentration used was small so as to get good results while in the 4th journal obtained very good results because the concentration used was getting bigger so as to get very good results. The conclusion of this study is that each tissue sample produces good and excellent staining.

Keywords: Red Dragon Fruit (*Hylocereus costaricensis*); Hematoxylin-Eosin; Histology Preparation

ABSTRAK

Buah naga merupakan buah tropis dari jenis kaktus, yang memiliki beberapa jenis, salah satunya adalah buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*). Buah naga merah merupakan salah satu jenis buah yang memiliki komponen bioaktif seperti flavonoid, fenolik, betasianin, dan antosianin. Salah satu komponen bioaktif dominan pada buah naga merah adalah antosianin. Antosianin merupakan kelompok pigmen yang berwarna merah sampai biru yang tersebar dalam tanaman. Antosianin pada kulit buah naga merah lebih tinggi dibandingkan pada daging buah sehingga dapat digunakan sebagai pewarnaan alternatif dalam pewarnaan histologi. Histologi merupakan pengetahuan atau ilmu tentang jaringan,

tumbuhan, dan hewan. Tahap pembuatan preparat histologi salah satunya dengan pewarnaan. Pewarnaan merupakan proses pewarnaan jaringan yang bertujuan untuk mengamati menggunakan mikroskop dan membedakan bagian-bagian jaringan yang akan diamati, seperti inti sel, sitoplasma, dan lain-lain. Salah satu pewarnaan yang digunakan adalah Hematoxylin-Eosin. Hematoxylin-Eosin merupakan pewarnaan jaringan secara umum untuk melihat morfologi jaringan. Hematoxylin-Eosin terdiri dari dua jenis warna, yaitu Hematoxylin dan Eosin. Hematoxylin sebagai zat warna pengikat inti sel yang terwarnai menjadi biru dan ikatan yang lemah sedangkan eosin sebagai zat warna yang memberikan beberapa corak pada jaringan dan coraknya memberikan warna merah pada jaringan. Penggunaan eosin bersifat karsinogenik apabila digunakan dalam jangka panjang secara terus menerus sehingga dapat menyebabkan kanker dan sisa limbah dapat merusak lingkungan. Diperlukan zat pewarna alternatif untuk mengurangi dampak penggunaan eosin salah satunya dengan pewarnaan buah naga merah. Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi serapan warna pada pewarnaan alternatif buah naga merah dan gambaran pewarnaan pada apusan histologi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode *literature review*. Pemilihan literatur ini pada beberapa database antara lain *Google Sholer*, *PubMed*, dan *Semantic Scholer*. Terdapat 5 jurnal yang digunakan sebagai sumber literatur dan dianalisis secara deskriptif kualitatif. Hasil dari penelitian ini adalah didapatkan pada jurnal 1,2, 3, dan 5 pada masing-masing sampel jaringan dengan hasil yang baik dikarenakan konsentrasi yang digunakan sedikit sehingga mendapatkan hasil yang baik sedangkan pada jurnal ke 4 mendapatkan hasil sangat baik karena konsentrasi yang digunakan semakin besar sehingga mendapatkan hasil sangat baik. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pada masing-masing sampel jaringan menghasilkan pewarnaan baik dan sangat baik.

Kata kunci: Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*); Hematoxylin-Eosin; Preparat Histologi

LATAR BELAKANG

Buah naga diperoleh dari tanaman sejenis kaktus yang termasuk kedalam keluarga *Cactaceae* dan subfamili *Hylocereane*. Buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) memiliki komponen bioaktif seperti flavonoid, fenolik, betasianin, dan antosianin. Komponen bioaktif dominan sekaligus sebagai pigmen pada buah naga merah adalah betasianin dan antosianin (Rahayuningsih *et al.*, 2020; Setyawati H, 2018). Komponen bioaktif tersebut dapat memberikan keuntungan kesehatan. Betasianin dapat melawan diabetes, hyperlipideamia, obesitas, dan kanker (Luu *et al.*, 2021). Antosianin dilaporkan dapat menekan stres oksidatif dan gula darah pada diabetes tipe 2 non-obesitas, dan menekan enzim inhibitor alfa-glukosidase (Puspawati, 2020). Antosianin merupakan kelompok pigmen yang berwarna merah hingga biru yang banyak terdapat di daging buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*), yang mana ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan pewarna alami (Adiyanto, 2011). Menurut Prasetyo *et al.* (2018) proses untuk mendapatkan ekstraksi buah naga merah yaitu kulit buah naga merah dikupas dan diambil daging buahnya sebanyak kurang lebih 100 gr. Daging buah naga dipotong dan dihaluskan dengan ditambahkan 100 mg air. Ekstrak hasil penghancuran disaring dengan saringan.

Histologi merupakan bagian dari ilmu biologi yang secara umum memfokuskan penelitian pada jaringan yang membentuk tubuh, komposisi kimia jaringan, serta sel-sel yang memiliki karakteristik normal (Susetyarini *et al.*, 2019). Tahapan pembuatan preparat histologi hewan meliputi fiksasi, dehidrasi, *clearing*, parafinisasi, *embedding* (penanaman), deparafinisasi, dengan tahap akhir pembuatan preparat histologi berupa pewarnaan. Untuk menghasilkan preparat histologi yang kuat untuk diagnosis, salah satu tahapan yang harus dilalui adalah pewarnaan. Tahap pewarnaan jaringan bertujuan untuk memudahkan pengamatan melalui mikroskop dengan cara mengidentifikasi dan membedakan berbagai komponen jaringan yang akan diamati, seperti inti sel, sitoplasma, dan lain-lain. Salah satu pewarnaan yang digunakan adalah Hematoxilyn-Eosin (HE) (Ellywati, 2018).

Hematoxilyn-Eosin adalah metode pewarnaan yang berfungsi ganda. Fungsi pertama memungkinkan pengenalan komponen jaringan tertentu dengan cara memulasnya secara diferensial dan fungsi kedua dapat mewarnai dengan tingkat atau yang menghasilkan derajat warna berbeda (Peckham, 2014). Hematoxilyn berasal dari pohon logwood dan hanya dapat di gunakan sebagai pewarna dalam

bentuk teroksidasi (Hematin). Hematoxylin adalah pewarna yang bersifat basa yang berikatan pada struktur asam dalam sel (DNA atau RNA) dan memulusnya menjadi warna biru keunguan. Eosin ialah pewarnaan yang paling cocok untuk di gabungkan dengan Hematoxylin. Eosin merupakan pewarna yang bersifat asam yang bermuatan negatif. Eosin berikatan dengan struktur basa dalam sel dan memulusnya menjadi merah atau merah muda (Peckham, 2014). Proses pembiruan dalam Hematoxylin dapat merubah warna merah kecoklatan dan Hematoxylin menjadi biru kehitaman dimana akan terlihat lebih jelas setelah dilakukan *counterstain* dengan eosin yang berwarna merah menjadi merah muda. Proses ini akan terjadi dalam air yang bersifat alkali. Sel-sel yang terpulas dengan HE akan berwarna merah muda pada sitoplasma dengan nucleus berwarna ungu. Sel makrofag pada pewarnaan HE tidak berwarna, sehingga kadang dapat tertutupi dengan warna yang lain (Gamble, 2018).

Pewarnaan Hematoxylin-Eosin memiliki lebih banyak kerugian daripada manfaat. Peran yang sangat penting dari zat pewarna sintesis dalam pemeriksaan sel di bawah mikroskop menyebabkan permintaan akan zat pewarna tersebut menjadi tinggi. Akibat dari tingginya permintaan ini, harga zat pewarna sintesis cenderung mahal. Masalah ini merupakan tantangan umum yang memerlukan inovasi baru untuk mengurangi dampak negatifnya. Selain tingginya harga pewarna sintesis, kekhawatiran mengenai kandungan senyawa kimia berbahaya dalam pewarna tersebut juga merupakan hal yang perlu diperhatikan karena dapat membahayakan kesehatan pengguna. Penggunaan pewarna sintesis yang mengandung senyawa berbahaya dapat berpotensi memicu resiko terjadinya kanker, kerusakan pada organ-organ seperti ginjal dan hati. Selain itu, kelemahan pewarna HE adalah pada penyimpanan dengan durasi yang lama, pewarna akan mudah rusak (Pujilestari, 2016). Bentuk kekurangan HE, maka pewarnaan alami dapat ditulis ulang. Persyaratan standar untuk pewarnaan yang ideal adalah murah, tahan lama, tidak sulit dibersihkan, dan tidak merusak lingkungan (Sigh, 2002). Salah satu pewarnaan alternatif yang digunakan adalah buah naga merah.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Budi Seneto dalam Martony menjelaskan bahwa kandungan antosianin dalam buah naga merah yang menjadikan kulit dan daging buah berwarna merah. Kandungan ini juga dapat dijadikan sebagai pewarnaan alami (Agne *et al.*, 2010). Hal ini juga dijelaskan dalam penelitian Said *et al.*, (2021) yang menjelaskan bahwa potensi antosianin dalam

buah naga merah memiliki potensi yang besar sebagai zat warna alami. Penelitian-penelitian seperti ini sudah sering dilakukan sehingga dalam penelitian ini peneliti ingin menguji berbagai pelarut untuk menguji efektivitas warna yang timbul pada sediaan histologi (Wahyuni, 2011).

Penggunaan bahan alami sebagai pengganti bahan kimiawi dapat menjadi solusi. Buah naga merah adalah salah satu tanaman yang memiliki banyak potensi. Selain sebagai obat, buah naga merah juga berpotensi sebagai pewarna. Penelitian ini bertujuan untuk melihat seberapa besar potensi serapan buah naga merah untuk menjadi pewarna alami dalam pembuatan apusan histologi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *literature review*. Penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif dengan menjabarkan dan menggambarkan, dan meringkas berbagai data topik penelitian dengan pendekatan persamaan topik kajian literatur yang akan dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan seleksi hasil pencarian literatur diantaranya hanya memuat sumber yang dapat diunduh secara full text, artikel yang dipublikasi. Penelitian ini menggunakan sumber pencarian artikel utama sebagai rujukan pencarian yaitu *Google Scholar*, *Semantic Scholer* dan database perpustakaan internasional *PubMed*. Penelusuran literatur dilakukan dengan menggunakan pola PICO (Population/Patient/Problem, Intervention of Interest, Comparison, Outcome). P : Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*), I : Hematoxylin-Eosin, C : -, dan O : Preparat Histologi. Data diperoleh dari jurnal yang diseleksi menggunakan prisma sesuai dengan kriteria inklusi. Selanjutnya data tersebut dikumpulkan, kemudian data dianalisis dengan menggunakan pendekatan metode analitik. Hasil dari jurnal yang direview dianalisis dan dijabarkan dengan nilai atau angka kadar yang menjawab rumusan masalah dan ditarik kesimpulannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian tentang buah naga merah sebagai pewarnaan alternatif pengganti Hematoxylin-eosin pada pembuatan preparate histologi didapatkan hasil bahwa buah naga merah memiliki potensi yang sama sebagai pengganti eosin menjadi pewarana alternatif pada masing-masing sampel. Penilaian ini dapat di lihat dari kualitas sediaan dan pengelompokan hasil pewarnaan yang dibagi menjadi 2

kelompok yaitu, sangat baik, dan baik. Hasil tersebut dapat dijelaskan lebih lanjut terkait hal ini yang dibahas dalam tabel berikut ini.

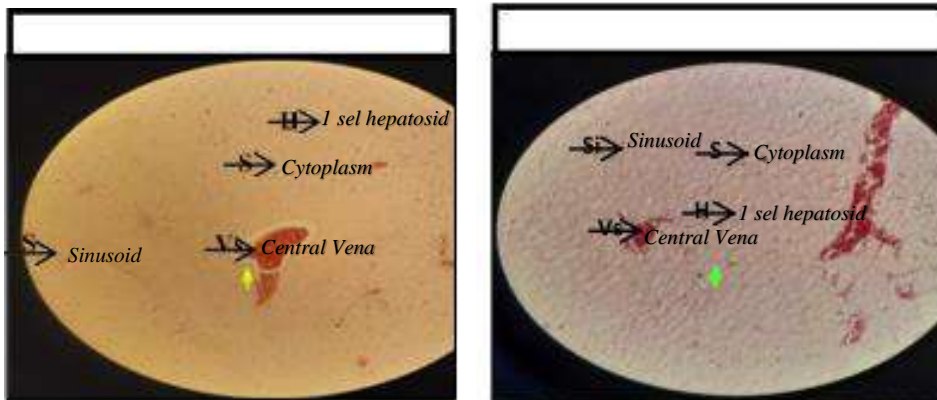
Tabel 1. Penilaian kualitas sediaan pada pewarnaan alternatif buah naga merah

Jurnal	Sampel Pemeriksaan	Deskripsi	Nilai Ordinal	Nilai Interfal
1	Jaringan Ikat	Bentuk sel jelas, intensitas warna sitoplasma jelas, intensitas warna pada inti jelas	Baik	3
2	Jaringan pada hati	Bentuk sel jelas, intensitas warna sitoplasma jelas, intensitas warna pada inti jelas	Baik	3
3	Jaringan epitel	Bentuk sel jelas, intensitas warna sitoplasma jelas, intensitas warna pada inti jelas	Baik	3
4	Jaringan epitel	Bentuk sel pada sediaan sangat jelas, fragmen jaringan sangat jelas karena latar belakang jaringan sediaan terlihat samar, ukuran sel dan nuclear normal, intensitas warna sitoplasma jelas, intensitas warna inti sangat jelas	Sangat Baik	4
5	Jaringan ikat	Bentuk sel jelas, intensitas warna sitoplasma jelas, intensitas warna pada inti jelas	Baik	3

Berdasarkan tabel 1 terdapat 4 jurnal referensi yang mempunyai perbandingan hasil yang sama dimana pada jurnal ke 1, 2, 3, dan 5 menunjukkan hasil yang baik seperti memiliki bentuk sel yang jelas, intensitas warna sitoplasma jelas dan intensitas warna pada inti jelas dengan skala interfal 3. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor antara lain terhambat masuknya warna ke dalam sel akibat konsentrasi ekstrak menjadi lebih pekat, hal ini dapat terjadi karena ketika konsentrasi ekstrak lebih pekat yang dapat menyebabkan sel kesulitan menyerap zat warna dengan baik.

Tetapi pada jurnal ke 4 didapatkan hasil sangat baik dengan skala interfa 4 yang memiliki bentuk sel pada sediaan sangat jelas, fragmen jaringan sangat jelas karena latar belakang jaringan sediaan terlihat samar, ukuran sel dan nuclear normal, warna intensitas sitoplasma sangat jelas, dan warna inti sel sangat jelas. Hal ini disebabkan karena konsentrasi yang digunakan semakin besar, dari konsentrasi

50%, 80% dan 100% pada perendaman dengan menggunakan buah naga merah sehingga hasil menunjukkan sangat baik.



Gambar 1. Sel Hepatosit pada Kelompok Kontrol Positif (diberikan *Paracetamol Toxic Dose*) dengan pewarnaan *Betacyanin* Ekstrak Daging Buah Naga konsentrasi 100% (Si: *Sinusoid*, Vs.: *Central Vena*, S: *Cytoplasm*, H: *1 sel hepatosit*).

Pewarna ekstrak daging buah naga dengan konsentrasi 100% mengandung sinusoid, vena sentral, sitoplasma, satu sel hepatosit, dan kerusakannya hingga sel hepatosit tidak dapat dilihat (Gambar 1). Hal ini dikarenakan inti sel tidak dapat diwarnai oleh antosianin, sehingga kerusakan tidak dapat dilihat. Perlakuan ekstraksi secara signifikan mempengaruhi arah dan kerapatan warna. Hal ini disebabkan senyawa kimia dengan sifat yang dapat berubah dan bereaksi pada kondisi suhu tertentu dalam lingkungan asam-basa. Berdasarkan kondisi tersebut, muncul senyawa kimia yang dapat terurai atau terurai menjadi senyawa lain, atau muncul senyawa baru yang memberikan warna berbeda pada kondisi awalnya. Semakin tinggi suhu ion ekstrak, semakin merah hasilnya.

Tingkat kemerahan pada buah naga baik, filtrat maupun konsentrat juga dipengaruhi oleh masa simpan buah dan jenis pelarut. Hal ini sesuai dengan sifat antosianin yang larut dalam air dan berwarna merah pada pH asam sehingga menyebabkan filtrat dan konsentrat pigmen dominan berwarna merah, namun selama penyimpanan tingkat kemerahannya terjadi penurunan akibat degradasi pigmen antosianin. Menurut Budiarto (1991) pada pH asam, komponen yang dominan adalah kation flavium sehingga warna dari larutan akan menampilkan warna merah. Sebagian besar pigmen mengalami perubahan selama penyimpanan dan pengolahan (Saati *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, kestabilan pigmen antosianin juga dipengaruhi oleh pH, dan betasianin stabil pada pH 4 sampai pH 7 dan paling stabil pada pH 4 dan pH 5. Suhu penyimpanan 10°C selama sepuluh hari dalam buah naga merah adalah yang terbaik untuk mempertahankan antosianin. Pigmen antosianin stabil pada suhu 25°C dan 40°C.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan *literature review* yang telah dilakukan mengenai buah naga merah sebagai pewarnaan alternatif pengganti eosin menyimpulkan bahwa buah naga merah pada masing-masing sampel jaringan yang berperan sebagai pewarna alternatif menghasilkan pewarnaan sangat baik dengan nilai interval 4 dan hasil baik dengan nilai interval 3, hal itu dapat dilihat dari hasil gambaran mikroskopis yang sangat baik, yang menunjukkan gambaran tiap jaringan yang terlihat jelas dan terwarnai dengan baik.

Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat melakukan penelitian tentang pengaruh perbandingan konsentrasi dan waktu penyimpanan pewarnaan ekstrak buah naga merah sebagai pewarnaan alternatif pada pembuatan preparat histologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyanto Joko. (2011). Strategi Pengembangan Produksi Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*)
- Agne Erza Bestari Pranutik, Rum Hastuti, Khabibi. (2010). Ekstraksi Dan Uji Kestabilan Zat Warna Bestasianin Dari Kulit Buah Naga (*Hylocereus Polyrhizus*) Serta Aplikasinya Sebagai Pewarna Alami Pangan. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 13(2), 51-56. From <https://doi.org/10.14710/Jksa.13.2.51-56>
- Budiarto, M. (1991). Pengangkatan Anak Ditinjau dari Segi Hukum. Jakarta: Akademia Pressindo
- Ellywati. (2018). Penentuan Waktu yang Tepat pada Proses *Staining* dalam Pembuatan Preparat Hitologi Hati. *Journal on Biology of Andalas University (JbioUA)*, 1(1), 28-30
- Gamble M. (2018). The Hematoxilyns And Eosin. Di dalam : Bancroft JD dan Gamble M, editor. *Theory and practice of Histological Techniques*, sixth

- Edition. USA: Churchill Livingstone Elsevier. Hlm 121
- Luu, T.T.H., Le, T.L., Huynh, N., QuintelaAlonso, P. (2021). Dragon fruit: A review of health benefits and nutrients and its sustainable development under climate changes in Vietnam. *Czech Journal of Food Sciences*, 39(2), 71–94. <https://doi.org/10.17221/139/2020-CJFS>
- Peckham, M. (2014). *Histologi at a glance.*, Erlangga. Jakarta
- Prasertyo BF., Shabrina H., Juniantiti V., Wientarsih I. (2018). Activity Of Red Dragon Fruit (*Hylocereus Polyrhizus*) Juices On Doxorubicin-Induced Nephropathy In Rats. Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. doi:10.1088/1755-1315/196/012037
- Pujilestari, T. (2016). Sumber Dan Pemanfaatan Zat Warna Alam Untuk Keperluan Industri. *Dinamika Kerajinan Dan Batik: Majalah Ilmiah*, 32(2), 93. From <https://doi.org/10.22322/Dkb.V32i2.1365>
- Puspawati, G.A.K.D. (2020). Potensi antosianin terong belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Sebagai penurun hiperglikemik. In book chapter: Inovasi teknologi pertanian untuk menunjang agroindustri di masa pandemi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Bali. Swastanulus, Denpasar (pp. 70–91)
- Rahayuningsih, E., Setiawan, F.A., Rahman, A.B.K., Siahaan, T., & Petrus, H.T.B.M. (2020). Microencapsulation of betacyanin from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels using pectin by simple coacervation to enhance stability. *Journal of Food Science and Technology*, 58(9), 3379–3387. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04910-8>
- Saati, Elfi. A., (2014). Identifikasi Dan Uji Kualitas Pigmen Kulit Buah Naga Merah (*Hylocareus costaricensis*) Padan Beberapa Umur Simpan Dengan Perbedaan Jenis Pelarut. *Paper Knowledge. Toward a Media History of Documents*, 1-16
- Setyawati, H. (2019). Analisis kajian fisiologi tumbuhan budidaya buah naga (*Hylocereus* spp.) menggunakan lampu di Banyuwangi. Prosiding Symbion (Symposium on Biology Education), Prodi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Ahmad Dahlan. e-ISSN: 2528-5726
- Sid Fahmi, Ida Rahmawati, Triwiyantini. (2021). Gel Ekstrak Buah Naga Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Dan Ubi Jalar Ungu Sebagai Alternatif Pewarna (*Disclosing Solution*) Alami Plak Gigi. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(2). From <https://Ojs.Uniska-Bjm.Ac.Id/Index.Php/Ann/Article/5754>
- Sigh, K. (2002). Syarat-syarat Standar Zat Warna Ideal. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 4(2), 230-238
- Susetyarini, E., Wahyono, P., Latifa, R., Nurrohman, E. (2019). Struktur Histologis Tulang Femur dan Jaringan. 17-23
- Wahyuni Rekna. (2011). Pemanfaatan Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Sebagai Sumber Antioksidan Dan Pewarna Alami Pada Pembuatan Jelly. *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1)