

## ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) SEBAGAI ALTERNATIF BAHAN PEWARNA HISTOLOGI

Saraswati<sup>1</sup>, Yeni Rahmawati\*<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Prodi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

Surat elektronik: yenirahmawati@unisayogya.ac.id

### ABSTRAK

Hematoksilin-Eosin (HE) merupakan pewarna sintetis yang umum digunakan dalam pemeriksaan histologi. Paparan HE dalam jangka panjang memberikan dampak buruk bagi kesehatan. Pengembangan pewarna alternatif penting dilakukan. Oleh karena itu studi literatur ini bertujuan untuk mengetahui pemanfaatan rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam pewarnaan histologi. Telaah literatur dilakukan dari lima sumber data yaitu *Google Scholar*, *Medline*, *Oxford Academic*, *Research Gate* dan *Science Direct*. Berdasarkan penelusuran literatur, diperoleh 10 jurnal yang menunjukkan bahwa rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pewarna terhadap berbagai jenis jaringan histologi manusia atau hewan. Ekstraksi dapat dilakukan pada daun dan kelopak bunga dalam keadaan segar atau kering. Pelarut yang dapat digunakan pada proses ekstraksi adalah pelarut polar yaitu akuades atau alkohol. Metode ekstraksi sokletasi, refluks, maserasi ataupun perebusan dapat digunakan dalam ekstraksi rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Pewarnaan dapat dilakukan menggunakan ekstrak murni maupun modifikasi. Berbagai variasi metode ekstraksi, jenis pelarut, konsentrasi dan waktu pewarnaan, serta derajat keasaman yang dilakukan dapat memberikan hasil pewarnaan yang sama baiknya dengan HE. Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat digunakan sebagai alternatif pewarna HE.

Kata kunci: Eosin, Hematoksilin, *Hibiscus sabdariffa*, Histologi

### ABSTRACT

Hematoxylin-Eosin (HE) is a synthetic dye that is commonly used in histological examination. HE exposure in the long term has a negative impact on health. The development of alternative dyes is important. Therefore this literature study aims to determine the use of rosella (*Hibiscus sabdariffa*) in histological staining. Literature review was conducted from five data sources, namely Google Scholar, Medline, Oxford Academic, Research Gate and Science Direct. Based on a literature search, 10 journals were obtained which showed that rosella (*Hibiscus sabdariffa*) can be used as an alternative dye for various types of human or animal histological tissues. Extraction can be done on fresh or dry leaves and flower petals. Solvents that can be used in the extraction process are polar solvents, namely distilled water or alcohol. Extraction methods of soxhletation, reflux, maceration or boiling can be used in the extraction of rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Staining can be done using pure or modified extracts. Various variations of extraction methods, types of solvents, concentrations and staining times, as well as the degree of acidity performed can give staining results that are as good as HE. Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) can be used as an alternative to HE dye.

Keywords: Eosin, Hematoxylin, *Hibiscus sabdariffa*, Histology, Staining,

### PENDAHULUAN

Laboratorium patologi anatomik merupakan laboratorium yang melaksanakan pemeriksaan spesimen berupa jaringan dan atau cairan tubuh pasien guna diagnosis klinis

penyakit. Layanan yang diberikan oleh laboratorium ini adalah pembuatan preparat histologi, pembuatan preparat sitologi, dan pembuatan preparat dengan teknik potong beku (PERMENKES, 2010). Pembuatan

preparat mikroskopis sebagai baku emas dalam penegakan diagnosis yang berbasis pada perubahan morfologi sel dan jaringan.

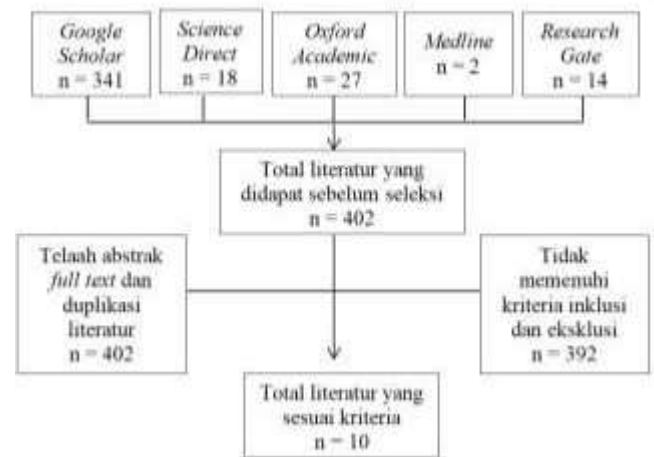
Pemeriksaan histologi meliputi pemeriksaan pra-analitik, analitik dan pasca-analitik. Proses pewarnaan merupakan tahap pembuatan preparat yang dilakukan dengan tujuan untuk mempertajam atau memperjelas berbagai elemen jaringan terutama sel-selnya, sehingga dapat dibedakan dan ditelaah melalui pengamatan mikroskop. Hematoksin-Eosin (HE) merupakan pewarna yang umum digunakan dalam pemeriksaan laboratorium histologi. Penggunaan perpaduan pewarna HE yang merupakan pewarna sintetis dinilai cukup efisien dalam pewarnaan namun juga dinilai dapat memberikan dampak yang berbahaya bagi kesehatan makhluk hidup dan lingkungan (Awwioro, 2010). Kandungan bahan kimia yang terdapat pada pewarna sintetis seperti klorat hidrat, asam asetat, aluminium kalium sulfat, potassium dikromat, etanol, dan asam pikrat bersifat korosif, menyebabkan reaksi alergi, iritasi dan rasa terbakar pada kulit, mata, hidung dan tenggorokan, bahkan dapat memberikan dampak karsinogenik bagi tubuh (Singh, *et al.*, 2012). Oleh sebab itu pengembangan pewarna alternatif, ramah lingkungan dan dapat terdegradasi secara alami sebagai pewarna histologi, penting untuk dikembangkan.

Rosella yang berwarna merah mengandung bahan penting antara lain gosipetin, antosianin, glukosida hibiscin, asam organik, polisakarida, dan flavonoid. Kandungan pigmen antosianin telah dimanfaatkan untuk zat warna merah alami misalnya pada industri makanan, minuman maupun kosmetik (Setyo-Budi dkk., 2014). Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya rosella (*Hibiscus sabdariffa*) telah dimanfaatkan sebagai pewarna histologi jaringan testis kelinci (Egbujo, 2008). Penelitian Bassey (2012) memanfaatkan ekstrak *Hibiscus sabdariffa* pada pewarnaan morfologi sel dan juga pewarnaan terhadap

testis tikus *Sparague dawley*. Tahun 2014 Ibnouf, *et al.* melakukan penelitian terhadap kualitas pewarnaan jaringan renal ginjal kelinci menggunakan ekstrak rebusan bubuk rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Penelitian Bernard, *et al.*, (2015) menyatakan ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat mengganti pewarna hematoksin dalam pewarnaan jaringan otak. Penelitian Agbede (2017) di Nigeria menyatakan rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat mewarnai nukleus pada morfologi jaringan kulit dengan eosin sebagai *counterstain*.

## METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian studi literatur sistematis atau *systematic literature review*. Analisis secara deskriptif. Kata kunci penelusuran yang digunakan mengikuti pola PICO (*Population, Intervention, Comparison, Outcome*). Alur seleksi literatur dapat diamati pada **Gambar 1**.



**Gambar 1.** Alur Seleksi Literatur

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelusuran literatur berupa jurnal elektronik dari sumber data *Google Scholar*, *Medline*, *Oxford Academic*, *Research Gate* dan *Science Direct* dengan kata kunci *Histology staining*, *Roselle extract*, *Hematoxylin Eosin*, *Staining*. Rentang waktu terbit jurnal antara tahun 2010 hingga 2020. Seleksi dilakukan sesuai dengan kriteria

inklusi dan eksklusi pada penelitian. Didapatkan 10 jurnal internasional mengenai pemanfaatan rosella (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai alternatif pewarna histologi hewan atau manusia.

Ekstraksi rosella (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai pewarna alternatif umum dilakukan pada kelopak bunga dibandingkan pada bagian daun. Hal tersebut dikarenakan kandungan antosianin pada kelopak bunga lebih tinggi. Ekstraksi dalam bentuk kering banyak dilakukan dibandingkan dengan ekstraksi dalam keadaan segar, karena dalam keadaan segar kandungan flavonoid lebih rendah dan rentan akan kerusakan (Sulaiman, *et al.*, 2011 dan Vongsak, *et al.*, 2013). Ekstraksi bahan berbentuk bubuk lebih banyak dilakukan, karena homogenitasnya lebih baik dibanding dengan ekstraksi terhadap bahan yang digiling.

Ekstraksi rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat dilakukan dengan beberapa cara. Metode perebusan merupakan cara ekstraksi rosella (*Hibiscus sabdariffa*) yang banyak dilakukan, karena mudah dan sederhana. Sokletasi dan refluks merupakan ekstraksi kontinu yang dapat mengekstraksi secara komplet dan hanya memerlukan sedikit pelarut. Metode-metode tersebut merupakan cara ekstraksi yang membutuhkan pemanasan selama proses ekstraksi. Ekstraksi maserasi atau perendaman tidak memerlukan pemanasan. Ekstraksi ini merupakan ekstraksi yang aman karena dapat digunakan terhadap senyawa yang tahan panas dan atau yang tidak tahan panas. Sehingga kerusakan senyawa akibat pemanasan tidak terjadi.

Antosianin merupakan senyawa polar, yang hanya dapat larut dalam pelarut polar. Jenis pelarut akuades banyak digunakan daripada jenis pelarut alkohol. Hasil ekstraksi pelarut alkohol lebih baik saat mewarnai jaringan dibandingkan dengan jenis pelarut akuades (Sridhara, *et al.*, 2016 dan Oancea 2012). Pernyataan tersebut didukung oleh Omorodion dan Achukwu, (2017) yang menyatakan kelarutan antosianin rosella

(*Hibiscus sabdariffa*) pada alkohol lebih tinggi dibanding kelarutannya dalam air.

Ekstrak akuades rosella (*Hibiscus sabdariffa*) murni mampu mewarnai jaringan secara optimal dengan waktu 60 menit terhadap seluruh variasi konsentrasi. Pewarnaan memberikan gambaran mikroskopis secara jelas terhadap membran sel, nukleus, sitoplasma, dan matriks ekstraseluler. Penelitian lain menunjukkan hasil pewarnaan yang optimal dengan waktu yang lebih singkat dan konsentrasi yang lebih rendah. Hal tersebut dikarenakan adanya modifikasi terhadap larutan yang digunakan dalam pewarnaan sehingga meningkatkan kemampuan ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dalam mewarnai berbagai jenis jaringan (Egbujo, 2008). Baik sebagai pewarna nukleus atau sitoplasma.

Modifikasi larutan warna dengan menambahkan larutan NaCl 0,5g, 10% larutan besi klorida 1,2 mL, dan asam asetat glasial 3mL ke dalam ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) murni dilakukan pada penelitian Benard, *et al.*, (2015) untuk mewarnai jaringan otak besar, otak kecil, dan batang otak. Serta pada penelitian Abgede, *et al.*, (2017) untuk mewarnai jaringan kulit.

Hasil penelitian Benard, *et al.*, (2015) dan Abgede, *et al.*, (2017) dengan metode pewarnaan *Hibiscus*-Eosin menunjukkan ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat mewarnai jaringan dengan memuaskan. Hasil pewarnaan nukleus yang menunjukkan hasil yang mirip dibandingkan dengan pewarnaan kontrol HE. Nukleus berwarna ungu tua sementara eosin berwarna merah muda terang.

Penelitian yang berbeda dilakukan Ola, *et al.*, (2016) serta Omorodion dan Achukwu (2017) menggunakan metode *Hibiscus*-Eosin sedangkan Chinyere dan Etoforonini (2017) menggunakan *Hibiscus*-Kunyit. *Hibiscus*-Eosin menunjukkan nukleus berwarna biru keunguan dengan sitoplasma berwarna merah muda. Jika dibandingkan dengan pewarnaan menggunakan pewarna

kontrol HE, hasil pewarnaan *Hibiscus*-Eosin lebih pudar. pewarnaan menunjukkan nukleus dan sitoplasma tidak dapat dibedakan dengan jelas, dan berwarna kekuningan. Hal tersebut dimungkinkan antara lain karena, kesalahan proses ekstraksi, tidak cocoknya perpaduan antara *Hibiscus*-Kunyit dalam pewarnaan jaringan, waktu pewarnaan yang kurang sehingga warna kurang meresap ke dalam jaringan, atau kurangnya kemampuan ekstrak kunyit dalam mewarnai jaringan sitoplasma sebagai pengganti eosin.

Pengaturan derajat keasaman dikatakan Parisa, *et al.*, (2007) dapat memengaruhi total pigmen warna antosianin pada rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Antosianin lebih stabil pada kondisi asam daripada kondisi basa atau netral. Pengaturan keasaman larutan ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai pewarna sitoplasma jaringan kulit menggantikan eosin pada pH 3,7, 5,7 dan 12,7 dilakukan Sridhara, *et al.*, (2016). Pewarnaan menggunakan pH 5,7 menunjukkan intensitas dan kontras warna yang baik terhadap pewarna hematoksilin. Hal yang sama juga dilakukan oleh Bassey, *et al.* (2012) dengan menambahkan 1% asam asetat pada larutan ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai pewarna jaringan testis tanpa *counterstain*. Ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat digunakan sebagai pewarna dasar pewarnaan jaringan yang mewarnai nukleus merah muda pekat. Modifikasi ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) pada keadaan basa dengan menambahkan larutan amonia. Menunjukkan hasil pewarnaan jaringan menggunakan ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan eosin

## KESIMPULAN

(*Hibiscus sabdariffa*) dapat digunakan sebagai alternatif bahan pewarna terhadap berbagai jenis jaringan histologi. Baik sebagai pewarna nukleus ataupun sitoplasma. Ekstraksi rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat dilakukan pada bagian daun dan kelopak bunga dalam keadaan segar dan kering. Metode sokletasi, refluks, maserasi dan perebusan dapat digunakan dalam

ekstraksi rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Pelarut yang dapat digunakan dalam mengekstraksi adalah pelarut polar seperti akuades, etanol, dan alkohol. Pewarnaan dapat dilakukan menggunakan ekstrak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) murni atau yang telah dimodifikasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agbede, M. B., Benard, S. A., Afolabi, O. O., Okoye, J. O., Bankole, J. K., Fowotade, A. A., Olutunde, O. A., dan Muhammed, O. A. (2017). The Use of Hibiscus Sabdariffa Extract as Nuclear Stain for Skin Morphology and Connective Tissue with Eosin Counterstain. *Sokoto Journal of Medical Laboratory Science*, 2(4), 28-32.
- Avwioworo, O. G. (2010). Histochemical uses of Hematoxylin. *A review Journal Pharmacy, Clinical, Science*, 1(11), 24-34.
- Bassey, R. B., Bakare, A. A., Peter, A. I., Oremosu, A. A., dan Osinubi, A. A. (2012). Factors Influencing Extract of *Hibiscus sabdariffa* Staining of Rat Testes. *Journal Biological Stain Commission Biotechnic & Histochemistry*, 87(6), 403-407.
- Benard, S. A., Muhammed, O. A., Fowotade, A. A., Afolabi, O. O., dan Olutunde, O., A. (2015). Hibiscus Sabdariffa Extract As Haematoxylin Substitute In The Histological Demonstration Of Brain Tissues. *African Journal of Cellular Pathology*, 5, 32-35.
- Chinyere, C., dan Etoforonini, C. (2017). Alternative Staining Of Kidney tissue Section With Extract Tumeric (*Curcuma longa*) And Zobo (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal Histology*.
- Egbujo, E. C., Adisa, O. J., dan Yahaya, A. B. (2008). A Study of the Staining Effect of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) on the Histologic Section of the Testis. *International Journal Morphology*, 26(4), 927-930.

- Ibnouf, A., AbdulRaheem, E., SeedAhmad, M., dan Dahab, D. (2014). Assessment Of Staining Quality Of Roselle (*Hibiscus Sabdariffa*) On Formalinfixed Paraffin-Embedded Renal Tissue Sections. *International Journal of Current Research and Review*, 6 (21), 1-3.
- Oancea, S., Stoia, M., dan Coman, D (2012). Effects of Extraction Conditions on Bioactive Anthocyanin Content of *Vaccinium Corymbosum* in the Perspective of Food Applications. *Procedia Engineering*, 42, 489-495.
- Omorodion, N. T., dan Achukwu, P. U. (2007). Investigation of *Hibiscus Sabdariffa* (Roselle) as Histological Stain and in Assessment of Bar Bodies. *Journal Biomedical Science*, 9(1), 5-19.
- Ola, M., Olutunde, O., Benard, S., Mohammad, A., dan Omowo, B. (2016) *Hibiscus-Shorgum*: A New Morphological Stain in Neuro-Histology. *Journal of Health Research and Innovation*, 4(1), 31-38.
- Parisa, S. H., Reza, G. E., dan Jamal. R. (2007). Effect Of Heating, UV Irradiation And Ph On Stability Of The Anthocyanin Copigment Complex. *Journal. Of Biology and Science*, 10, 267-272.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 411 Tahun 2010. Laboratorium Klinik. Jakarta.
- Singh, S., Kumar, A., Suneetha, V., Mishra, B., Gopinath, R., Yadav, S., dan Mitra, B., (2012). Synthesis and activation of Immobilized Beads By Natural Dye Extract. *Journa of Drug Development and Research*, 4, 115-28.
- Sridhara, U. S., Shasidara, R., Apharna, H., Vanishri, C., dan Rerhma, M. (2016). *Hibiscus*: A Different Hue in Histopatology, *Journal of Medical, Radiology, Phatology and Surgery*, 2, 9-11.
- Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., Suprianto., dan Seow, E. M. (2011). Effect of Solvents in Extracting Polyphenols and Antioxidants of Selected Raw Vegetables, *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 506-515.
- Setyo-Budi, U., Marjani, Purwati, R.D. (2014). Stabilitas Hasil Sepuluh Genotipe Rosela Herbal (*Hibiscus sabdariffa* var. *Sabdariffa*) di Daerah Pengembangan. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, Vol 6. No.2 .  
<https://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/bultas/rt/printerFriendly/1789/0>.
- Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., dan Wongkrajang, Y. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Journal Industrial Crops and Products*, 44, 566-571.