

SKRIPSI

**PEMANFAATAN DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*)
SEBAGAI PEWARNA ALAMI PENGANTI EOSIN PADA
JARINGAN PAYUDARA DENGAN PEWARNAAN
HEMATOXYLIN-EOSIN**



**Oleh :
DURRAH YUSALLY AUFA
NIM. 2410263678**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2026**

	No Alumni Universitas	Durrah Yusally Aufa	No Alumni
	a). Tempat/Tgl : Teureubue/25 agustus 2003; b). Nama Orang Tua: (Ayah) Usman (Ibu) Ernawati c). Program Studi : DIV Analis Kesehatan/TLM; d). Fakultas : Ilmu Kesehatan; e). No NIM : 2410263678; f).Tgl Lulus 10 Maret 2026; g). Predikat Lulus : Sangat Memuaskan; h). IPK: 3.84 ; i). Lama Studi : 1 Tahun; j).Alamat:. Gampong Paya Tiba Kec. Mutiara Kab. Pidie Provinsi Aceh		

PEMANFAATAN DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) SEBAGAI PEWARNA ALAMI PENGGANTI EOSIN PADA JARINGAN PAYUDARA DENGAN PEWARNAAN HEMATOXYLIN-EOSIN

SKRIPSI

Oleh : Durrah Yusally Aufa

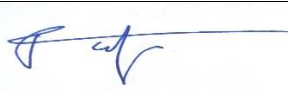
Pembimbing: 1. Rita Permatasari, S. S. T, M. Biotek 2. Def Primal, M. Biomed. PAK

ABSTRAK

Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) adalah metode rutin dalam histopatologi, namun eosin sebagai pewarna sintetis memiliki kelemahan seperti mahal, bersifat karsinogenik, dan berbahaya bagi lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pewarna alami yang ramah lingkungan dan aman. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) mengandung pigmen alami seperti flavonoid, tanin, dan antosianin yang diduga berpotensi sebagai pengganti eosin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemanfaatan daun sirih merah sebagai pewarna alami pengganti eosin pada pewarnaan HE jaringan payudara. Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Tgk Chik Ditiro Sigli pada Januari 2026. Sampel berupa perasan daun sirih merah dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan blok parafin jaringan payudara sebanyak 12 slide. Hasil penelitian menunjukkan kontrol pewarnaan HE dengan eosin memiliki kualitas sangat baik dengan skor 3, sedangkan semua konsentrasi perasan daun sirih merah menunjukkan kualitas tidak baik dengan skor 1. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan kualitas pewarnaan antar kelompok perlakuan (p-value = 1,000). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan pigmen yang tidak optimal, metode pembuatan pewarna yang sederhana, afinitas pigmen yang rendah terhadap struktur sel, dan ketidakstabilan pewarna alami.

Kata Kunci : Daun sirih merah (*Piper crocatum*), Pewarna Alami, Eosin, Pewarnaan Hematoxylin-Eosin, Jaringan Payudara

Skripsi ini telah dipertahankan didepan siding penguji dan dinyatakan Lulus Pada 10 Maret 2026, Abstrak ini telah disetujui oleh penguji :

Tanda Tangan			
Nama Terang	Rita Permatasari, S. S. T, M. Biotek	Def Primal, M. Biomed. PAK	dr. Tofrizal, Sp. PA, M.Biomed., Subsp, K.A. (K), PhD

Mengetahui

Ketua Program Studi : Endang Suriani, SKM., M.Kes

	No Alumni Universitas	Durrah Yusally Aufa	No Alumni
	a). Place/Date of Birth : Teureubue, August 25, 2003; b). Parents' Names: (Father) Usman (Mother) Ernawati c). Study Program : DIV Medical Laboratory Technology d). Faculty : Health Sciences e). Student ID No. : 2410263678 f). Graduation Date : March 10, 2026 g). Graduation Predicate : VERRY SATISFACTORY h). GPA : 3.84 i). Study Duration : 1 Year j). Address : Gampong Paya Tiba, Mutiara District, Pidie Regency, Aceh Province		

UTILIZATION OF RED BETEL LEAF (*Piper crocatum*) AS A NATURAL DYE SUBSTITUTE FOR EOSIN IN BREAST TISSUE WITH HEMATOXYLIN-EOSIN STAINING

SKRIPSI

Oleh : Durrah Yusally Aufa

Supervisors : 1. Rita Permatasari, S. S. T, M. Biotek 2. Def Primal, M. Biomed. PAK

ABSTRACT

Hematoxylin-Eosin (HE) staining is a routine method in histopathology, but eosin as a synthetic dye has drawbacks such as being expensive, carcinogenic, and environmentally hazardous. Therefore, an alternative natural dye that is environmentally friendly and safe is needed. Red betel leaf (*Piper crocatum*) contains natural pigments such as flavonoids, tannins, and anthocyanins that are thought to have potential as a substitute for eosin. This study aims to determine the utilization of red betel leaf as a natural dye substitute for eosin in HE staining of breast tissue. The research method is an experimental laboratory study conducted at the Anatomical Pathology Laboratory of RSUD Tgk Chik Ditiro Sigli in January 2026. The samples were red betel leaf extract with concentrations of 25%, 50%, 75% and 12 paraffin blocks of breast tissue slides. The results showed that the control HE staining with eosin had excellent quality with a score of 3, while all concentrations of red betel leaf extract showed poor quality with a score of 1. The Kruskal-Wallis test showed no significant difference in staining quality between treatment groups (p-value = 1,000). This is likely due to the suboptimal pigment content, simple dye preparation method, low pigment affinity for cellular structures, and instability of natural dyes.

Keywords: Red betel leaf (*Piper crocatum*), Natural Dye, Eosin, Hematoxylin-Eosin Staining, Breast Tissue

The thesis has been defended before the examiners and declared PASSED on March, 10, 2026, This abstract has been approved by the examiners :

Tanda Tangan			
Nama Terang	Rita Permatasari, S. S. T, M. Biotek	Def Primal, M. Biomed. PAK	dr. Tofrizal, Sp. PA, M.Biomed., Subsp. K.A. (K), PhD

Acknowledged

Head of Study Program : Endang Suriani, SKM., M.Kes

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Laboratorium patologi anatomi secara garis besar dikelompokkan menjadi dua yaitu laboratorium sitologi dan laboratorium histologi. Laboratorium sitologi merupakan laboratorium yang menerima spesimen berupa sel yang terlepas baik yang digores atau terkandung di dalam cairan seperti bilasan, urin, dahak dan cairan tubuh lainnya. Sedangkan laboratorium histologi menerima spesimen berupa jaringan tubuh yang didapat dari biopsi pasien atau cairan yang mengandung banyak sel sehingga diperlakukan sebagai suatu kumpulan sel membentuk seperti jaringan (Khristian & Inderiati, 2017).

Pemeriksaan histopatologi adalah pemeriksaan morfologi sel atau jaringan pada sediaan mikroskopik untuk menetapkan diagnosis kelainan yang meliputi degenerasi, radang atau infeksi neoplasma dan penyebab kematian pada bidang forensik. Selain fiksasi dan pematangan jaringan, proses terpenting dalam pembuatan preparat histologi adalah pewarnaan. Metode pewarnaan yang sering digunakan dalam pembuatan preparat histologis adalah Hematoxylin Eosin (Jumardi, Iswara, Setya, et al., 2023).

Pewarnaan yang umum digunakan untuk pemeriksaan histopatologi adalah Hematoxylin Eosin (HE). Hematoxylin, yang berperilaku seperti pewarna basa (atau "basofilik"), mengikat dan memberi warna biru ke struktur yang bersifat asam, seperti DNA dan RNA dalam inti sel. Eosin adalah pewarna asam (atau "eosinofilik") yang mengikat dan memberi warna merah atau merah muda ke

struktur yang lebih basa, seperti protein sitoplasma (Digambiro & Parwanto, 2024).

Eosin merupakan zat warna yang berfungsi untuk mewarnai sitoplasma menjadi merah. Eosin akan memberikan beberapa corakan pada jaringan, corakan dapat memberikan warna merah pada jaringan. Dari segi ekonomis Reagen eosin relatif mahal dan penggunaan eosin bersifat karsinogenik apabila digunakan dalam jangka panjang secara terus menerus. Efek negatif dari penggunaan dapat menyebabkan kanker dan sisa limbah dapat merusak lingkungan. Sehingga diperlukan alternatif zat warna untuk mengurangi dampak penggunaan eosin (Jumardi, Iswara, Setya, et al., 2023).

Eosin yang digunakan dalam pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin) memiliki sejumlah kelemahan, seperti relatif mahal, mengandung senyawa karsinogenik, mudah terbakar, serta sulit larut dalam air dan udara. Selain itu, paparan yang lama oleh eosin dapat menyebabkan iritasi kulit, gangguan saluran pencernaan apabila tertelan. Untuk itu, diperlukan usaha menemukan pewarna alternatif pengganti eosin (Nadifah et al., 2024).

Pewarna dibagi menjadi dua yaitu pewarna sintesis dan pewarna alami. Pewarna alami adalah pewarna yang terbuat dari bahan alami yang ada di tanaman seperti sayuran, bunga, daun, batang, dan akar. Pewarna alami akan memberikan warna pada jaringan sehingga dapat diamati dengan mikroskop. Setiap bagian pada jaringan atau sel memiliki sifat yang khusus, sehingga daya serap untuk zat warna berbeda-beda. Pewarna alami tidak bersifat karsinogenik dikarenakan tidak mengandung bahan beracun dan limbah pewarna alami tidak merusak lingkungan,

salah satu contoh pewarna alami adalah Daun sirih merah (*Piper crocatum*) (Jumardi, Iswara, Setya, et al., 2023).

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman yang multifungsi. Sirih merah berbeda dengan sirih hijau terutama dalam warnanya, sirih merah berwarna merah keperak-perakan dan tumbuh subur di Indonesia. Daun sirih merah memiliki kandungan alkaloid yang berfungsi sebagai antimikroba dan mempunyai daya antiseptik dua kali lebih tinggi dari daun sirih hijau. Larutan rebusan sirih merah juga mengandung karvakrol yang bersifat desinfektan dan anti jamur (Hidayanti & Pascawati, 2021).

Daun sirih merah mengandung berbagai senyawa fitokimia diantaranya minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid (Aisyiyah et al., 2021). Daun sirih merah (*Piper crocatum*) juga mengandung zat warna atau pigmen karoten, xantofil, klorofil a, klorofil b, dan antosianin yang memiliki tingkat ketahanan suhu yang rendah (Arif, 2019). Pada penelitian sebelumnya tentang alternatif pengganti eosin menggunakan daun sirih hijau dan buah pinang oleh Oktaviani et al., (2020) menyatakan bahwa kandungan pigmen warna tannin dan guvasine yang dimiliki oleh tumbuhan daun sirih hijau dan buah pinang dapat menghasilkan pigmen warna antosianin yang dapat menjadi pewarna alami jaringan atau sel (Oktaviani et al., 2020). Berdasarkan penelitian tersebut, penelitian ini ingin menguji efektifitas daun sirih merah sebagai alternatif pengganti eosin sebagai pewarna alami jaringan atau sel.

Sehubung dengan bahaya penggunaan pewarna sintesis pada pewarnaan histologi maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui

gambaran histologi jaringan dan mengetahui konsentrasi air perasan Daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang efektif sebagai pewarna alami pengganti eosin pada pewarnaan Hematoxylin Eosin pada gambaran histologi jaringan. Pemanfaatan tumbuhan sebagai pewarna alami tersebut dapat menguraikan permasalahan yang selama ini menjadi problematika lingkungan akibat limbah pembuangan pewarna sintesis dan juga paparan yang lama oleh eosin yang dapat menyebabkan iritasi kulit serta gangguan saluran pencernaan apabila tertelan.

1.2 Perumusan Masalah

Apakah Daun sirih merah (*Piper crocatum*) dapat digunakan sebagai pewarna alternatif alami pengganti eosin pada pewarnaan Hematoxylin Eosin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pemanfaatan Daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai pewarna alternatif alami pengganti eosin pada pewarnaan Hematoxylin Eosin.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui kualitas hasil pewarnaan daun sirih merah sebagai pengganti eosin pada jaringan payudara dengan pewarnaan Hematoxylin eosin

2. Untuk melihat kualitas preparat jaringan payudara menggunakan daun sirih merah dengan konsentrasi 25% 50% dan 75% sebagai pengganti eosin pada pewarnaan Hematoxylin Eosin
3. Untuk mengetahui perbandingan dan konsentrasi efektif dari beberapa konsentrasi perasan daun sirih merah sebagai pengganti eosin dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin pada jaringan payudara.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Dapat mengembangkan metode pewarna yang lebih alami dan ramah lingkungan serta meningkatkan pengetahuan tentang potensi Daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai pewarna alami.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan menjadi referensi dan sumber bacaan bagi yang mengadakan penelitian Membuka peluang untuk penelitian lanjutan tentang pemanfaatan tanaman sebagai pewarna alami

1.4.3. Bagi Masyarakat

Penelitian ini sebagai sumber informasi bagi masyarakat tentang pemanfaatan daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai pewarna alami

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai pewarna alami pengganti eosin pada pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) pada jaringan payudara. Berdasarkan hasil pengamatan, kontrol menggunakan eosin menunjukkan kualitas sediaan yang baik dengan skor 3, dimana inti sel berwarna biru jelas dan sitoplasma berwarna merah muda yang terbedakan dengan baik. Sedangkan pada semua konsentrasi perasan daun sirih merah (25%, 50%, dan 75%) menunjukkan hasil yang tidak baik dengan skor 1, yaitu inti dan sitoplasma terwarnai tidak sempurna, warna tidak terwarnai dengan baik, serta sulit dibedakan dan diidentifikasi.

Hasil ini menunjukkan bahwa perasan daun sirih merah dalam konsentrasi yang diuji belum dapat berfungsi sebagai pengganti eosin secara efektif. Meskipun daun sirih merah mengandung pigmen alami seperti flavonoid, tanin, dan antosianin yang diduga dapat berperan sebagai pewarna, namun dalam penelitian ini tidak memberikan hasil pewarnaan yang memuaskan. Beberapa faktor kemungkinan menyebabkan tersebut seperti, kandungan pigmen yang tidak optimal, meskipun mengandung zat warna, konsentrasi pigmen yang tersedia dalam perasan mungkin tidak cukup untuk mengikat struktur seluler dengan baik, berbeda dengan eosin yang merupakan pewarna sintetis dengan konsentrasi dan afinitas yang terkontrol.

Metode pembuatan pewarna juga dapat mempengaruhi hasil penelitian, penggunaan perasan langsung tanpa melalui proses ekstraksi dan konsentrasi

pigmen mungkin tidak menghasilkan larutan pewarna yang stabil dan efektif. Penelitian sebelumnya seperti yang dilakukan oleh Floresta (2024) menggunakan ekstrak daun jati dengan metode ekstraksi yang lebih kompleks untuk mendapatkan hasil yang lebih baik (Kanifah et al., 2015).

Hal lainnya yang dapat mempengaruhi hasil seperti afinitas pigmen terhadap struktur sel dan stabilitas pewarna. Eosin memiliki afinitas khusus terhadap struktur sel yang bersifat basa seperti protein sitoplasma (Floresta, 2024). Pigmen pada daun sirih merah mungkin tidak memiliki afinitas yang sama terhadap struktur tersebut, sehingga tidak dapat memberikan kontras yang jelas. Stabilitas Pewarna, Pewarna alami seringkali kurang stabil dibandingkan pewarna sintetis, sehingga dapat mengalami degradasi selama proses pewarnaan atau penyimpanan, yang berdampak pada kualitas hasil pewarnaan (Kanifah et al., 2015).

Hasil pewarnaan yang kurang baik diduga dipengaruhi kesegaran bahan dan waktu pembuatan larutan. Pigmen daun sirih merah seperti flavonoid dan antosianin bersifat tidak stabil, mudah teroksidasi, dan rusak jika didiamkan lama atau terkena cahaya/suhu (Kanifah et al., 2015), berbeda dengan eosin yang stabil. Pengolahan sederhana dan keterlambatan pemakaian menyebabkan pigmen terurai sebelum bereaksi dengan jaringan, sehingga warna lemah meski konsentrasi ditingkatkan (Jumardi, Iswara, Setya, et al., 2023).

Perbandingan visual pada gambar hasil pewarnaan juga menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kontrol dan perlakuan menggunakan daun sirih merah. Pada kontrol, bentuk sel, batas antar sel, inti, dan sitoplasma terlihat jelas,

sedangkan pada perlakuan menggunakan daun sirih merah, struktur tersebut tampak kabur dan sulit dikenali .

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang menguji potensi tanaman sebagai pengganti eosin menunjukkan bahwa metode ekstraksi dan jenis pelarut memiliki peran penting dalam keberhasilan pewarnaan. Misalnya, penelitian oleh Nadifah et al., (2024) menggunakan ekstrak kulit manggis dengan pelarut etanol mendapatkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan perasan langsung. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen pada daun sirih merah mungkin lebih efektif jika diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai, seperti etanol atau metanol, yang dapat meningkatkan kelarutan dan konsentrasi pigmen aktif. Selain itu, proses fermentasi atau penambahan zat pengatur pH juga dapat meningkatkan afinitas pigmen terhadap struktur seluler. Meskipun demikian, penelitian ini masih memiliki batasan, seperti penggunaan perasan langsung tanpa ekstraksi dan hanya menguji tiga konsentrasi tertentu. Potensi daun sirih merah sebagai pewarna alami masih dapat dieksplorasi lebih lanjut dengan metode yang berbeda (Nadifah et al., 2024).

Perbedaan hasil ini juga dapat dikaitkan dengan proses fiksasi dan pengolahan jaringan. Fiksasi yang tidak optimal dapat mempengaruhi kemampuan pewarna untuk mengikat struktur seluler. Meskipun dalam penelitian ini menggunakan blok parafin yang telah melalui proses fiksasi standar di laboratorium, kemungkinan adanya interaksi antara komponen dalam perasan daun sirih merah dengan bahan fiksasi seperti Netral Buffer Formalin (NBF) 10% dapat mengurangi efektivitas pewarnaan. Selain itu, waktu kontak pewarna yang

digunakan dalam penelitian ini sama dengan waktu kontak eosin (1-2 menit), padahal pewarna alami mungkin memerlukan waktu kontak yang lebih lama untuk mencapai hasil yang optimal (Soesilawati, 2020).

Selain faktor teknis dalam pembuatan dan aplikasi pewarna, juga perlu diperhatikan faktor lingkungan dan kualitas bahan baku. Daun sirih merah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pasar Pidie, sehingga kemungkinan adanya variasi dalam kandungan pigmen tergantung pada kondisi tumbuh, usia daun, dan metode panen. Daun sirih merah yang lebih muda memiliki kandungan senyawa aktif yang lebih tinggi dibandingkan daun yang lebih tua. Usia daun dan penyimpanan juga mengurangi kadar zat aktif. Oleh karena itu, pemilihan daun dengan kriteria yang lebih spesifik dapat menjadi faktor penentu keberhasilan dalam penelitian selanjutnya (Aisyiyah et al., 2021).

Faktor lain yang dapat menghambat masuknya warna ekstrak kedalam sel disebabkan karena perubahan konsentrasi dari ekstrak. Kelemahan dalam pewarnaan ini yaitu ketidakstabilan zat warna alami (flavonoid) yang terkandung dalam daun sirih merah jika dibandingkan dengan pewarna eosin yang merupakan zat warna sintetis. Selain faktor sulit menyerapnya ekstrak ke dalam jaringan yang diwarnai masih banyak juga ditemukan faktor yang mempengaruhi ketidakstabilan zat warna antosianin pada penelitian ini yaitu pH, suhu, pencahayaan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi kualitas sediaan yang diujikan (Nadifah et al., 2024).