POTENSI EKSTRAK ANGKAK (Monascus purpureus) SEBAGAI PEWARNA PADA PEMBUATAN PREPARAT SEL EPITEL MUKOSA RONGGA MULUT

EXTRACT OF ANGKAK (MONASCUS PURPUREUS) AS A POTENTIAL STAINING AGEN ON THE PREPARATOIN ORAL MUCOSAL EPHITHELIA CELLS

Aritasya Nur Fitriyani

UPT Laboratorium Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

aritasya101@gmail.com

ABSTRAK

Pewarnaan pada pembuatan preparat histologi merupakan tahapan untuk memperjelas pengamatan sel atau jaringan dibawah mikroskop. Pada percobaan ini preparat yang digunakan untuk pengamatan adalah jenis preparat basah yang berasal dari kerokan sel epitel mukosa rongga mulut. Karena preparat basah merupakan preparat yang bersifat sementara, oleh sebab itu pengamatan preparat harus dengan cepat diamati supaya sel tidak mengering. Pewarna yang sering digunakan dalam pembuatan preparat jaringan epitel mukosa rongga mulut adalah eosin atau methylene blue yang apabila digunakan secara terus menerus bisa menimbulkan efek toxic. Angkak beras merah merupakan hasil fermentasi dari beras oleh kapang Monascus purpureus yang digunakan sebagai bahan pengawet dan pewarna. Angkak akan menghasilkan pigmen merah, yaitu rubropunktatin dan monaskorubrin. Percobaan ini bertujuan untuk menemukan alternatif pewarna untuk pembuatan preparat basah dengan bahan alami yang tidak memiliki sifat toxic. Proses pewarnaan ekstrak angkak pada preparat sel epitel mukosa rongga mulut ini menggunakan pelarut akuadest dengan perbandingan 1:4 dan 1:6 untuk kemudian diamati dengan mikroskop pada perbesaran 40x. Simpulan pada percobaan adalah ekstrak angkak dengan pelarut akuades belum dapat mewarnai sel epitel mukosa rongga mulut. Sehingga perlu dilakukan percobaan dengan menggunakan variasi pelarut lainnya untuk mengetahui potensi lebih lanjut dari ekstrak angkak sebagai zat pewarna alternatif pembuatan preparat basah.

Kata kunci: Pewarnaan, Angkak, Preparat basah, Epitel mukosa rongga mulut

ABSTRAK

When preparing for histology, staining is a step that helps make it easier to see tissues or cells under a microscope. A particular kind of moist preparation created by scraping oral mucosal epithelial cells was utilized in this experiment as the observational medium. Wet preparation is a transient process, thus it is important to monitor it as soon as possible to prevent the cells from drying up. Eosin and methylene blue are two common dyes used to prepare oral mucosal epithelial tissue, however repeated use of these dyes might be harmful. Grains of brown rice The rice is fermented by the Monascus purpureus mold, which is utilized as a coloring and preservation agent, to produce angkak. Red pigments called rubropunktatin and monaskorubrin will be produced by angkak. The purpose of this experiment is to identify substitute dyes that can be used to make nontoxic wet treatments using natural components. Using distilled water solvent in a 1:4 and 1:6 ratio, angkak extract is stained on oral mucosal epithelial cell preparations, and the results are examined under a microscope at a 40x magnification. The experiment's findings indicate that oral mucosal epithelial cells cannot be colored by angkak extract in distilled water solvent. Therefore, study utilizing a range of solvents is required to ascertain the further potential of angkak extract as a substitute dye for creating wet preparation.

PENDAHULUAN

Histologi merupakan salah satu cabang ilmu biologi yang mempelajari mengenai struktur mikroskopis sel dan jaringan, baik hewan maupun tumbuhan. Dalam histologi dilakukan tahapan pewarnaan bertujuan untuk meningkatkan kontras visual pada jaringan dan sel sehingga komponen dapat terlihat jelas dan memungkinkan dalam pemerikasaan mikroskop (Rahmawati *et al*,2023). Preparat histologi dapat berbentuk basah atau kering yang berupa sayatan atau tanpa sayatan. Preparat kering merupakan preparat yang diawetkan, sedangkan preparat basah merupakan preparat yang dibuat secara langsung dan digunakan dalam satu kali pengamatan (Bria *et al*,2023). Salah satu preparat basah tanpa sayatan yaitu preparat epitel mukosa rongga mulut. Dimana lapisan epitel mukosa rongga mulut merupakan salah satu sistem pertahanan tubuh yang dapat melindungi mulut dari mikroorganisme dari berbagai faktor lingkungan (Mizan *et al*,2021).

Pewarnaan untuk pembuatan preparat basah umumnya menggunakan eosin atau methylene blue. Eosin merupakan pewarna sintetis yang masuk dalam golongan xanthene. Eosin memiliki sifat asam dan akan mengikat molekul protein yang bermuatan positif disitoplasma dan jaringan ikat. Eosin merupakan zat warna yang dapat mewarnai sitoplasma dan jaringan ikat. Methylene blue merupakan contoh dari pewarnaan kation atau ion positif pada jaringan. Pewarnaan kation disebut juga sebagai pewarnaan basal dan juga disebut sebagai pewarnaan basophilic. Pada umumnya digunakan untuk mewarnai inti sel (Khristian & Inderiati, 2017). Namun pewarna kimia ini memiliki efek toxic bagi tubuh. Dimana Methylene blue (MB) menyebabkan gangguan kardiovaskular, pusing, demam, sakit kepala, masalah kulit dan anemia. Hal ini karena metilen blue bersifat karsinogenik dan sangat sulit terurai (Patil & Shinde, 2016). Eosin termasuk salah satu pewarna sintetis yang dapat memberikan dampak negatif bagi kesehatan dan lingkungan karena diproduksi dari batu bara. Paparan akut terhadap pewarna sintetis dapat menyebabkan iritasi pada kulit, mata, dan selaput lendir lainnya, dermatitis, serta stomatitis. Pewarna sintetis mengandung bahan kimia seperti klorat hidrat, asam pikrat, potasium dikromat, dan lainnya yang bersifat karsinogenik bagi tubuh (Saraswati & Rahmawati, 2023). Oleh karena itu, diperlukan pewarna alami sebagai alternatif dalam pewarnaan preparat, salah satunya dapat diperoleh dari ekstrak angkak beras merah. Dimana angkak ini dapat menghasilkan pigmen berwarna merah.

Angkak beras merah merupakan hasil fermentasi dari beras oleh kapang *Monascus* purpureus yang digunakan sebagai bahan pengawet dan pewarna . Angkak akan menghasilkan pigmen merah, yaitu rubropunktatin dan monaskorubrin. Penggunaan pigmen pada angkak tidak bersifat toksik serta tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh. Adanya kandungan kimia yang mampu menghasilkan pigmen warna dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alternatif (Apriani, 2016).

Dengan demikian dilakukan percobaan yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak angkak dengan pelarut akuadest dalam pewarnaan preparat jaringan epitel mukosa rongga mulut.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Metode yang digunakan dalam percobaan ini adalah metode eksperimen. Percobaan ini dilakukan mulai tanggal 22-29 Agustus 2024 di Laboratorium Histologi Universitas 'Aisyiah Yogyakarta.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada percobaan ini adalah mikroskop, gelas beker, *hotplate*, pengaduk, objek glass, cover glass, pipet tetes, pot urin. Bahan yang digunakan epitel mukosa mulut, kertas saring, tusuk gigi, tisu, eosin, biji angkak, aquadest.

Pembuatan Ekstrak Angkak

Angkak dilarutkan kedalam aquades dengan perbandingan 1:4 dan 1:6. Dimana 5 gr angkak dicampur kedalam 20 ml akuadest untuk ekstrak 1:4 dan 60 ml akuadest untuk esktrak 1:6. Ekstrak kemudian didihkan hingga mengeluarkan warna. Selanjutnya ekstrak angkak, disaring dan didinginkan.

Pembuatan Preparat Epitel Mukosa Rongga Mulut

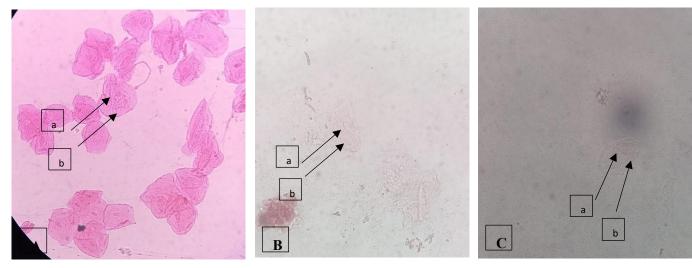
Sel epitel mukosa rongga mulut diambil dengan cara mengerok pada pipi bagian dalam menggunakan tusuk gigi. Selanjutnya hasil kerokan sel epitel di oleskan pada gelas benda yang bersih, untuk kemudian ditetesi zat pewarna. Untuk kemudian ditutup dengan *cover glass*, selanjutnya diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 40x.

Analisis Data

Gambaran histologi sel epitel mukosa rongga mulut dianalisis secara deskriptif melalui analisis kualitas warna dengan membandingkan antara kelompok kontrol pewarnaan eosin dengan kelompok percobaan ekstrak angkak 1:4 dan 1:6. Indikator preparat meliputi kejelasan bentuk sel, sitoplasma, nucleus, serta intensitas pewarnaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan percobaan yang dilakukan, diketahui bahwa perlakuan pada pewarnaan epitel rongga mulut menggunakan ekstrak angkak dengan konsentrasi 1:4 dan 1:6 dengan perbesaran 40x dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil pewarnaan sampel epitel mukosa rongga mulut

Keterangan : Hasil pewarnaan sampel epitel rongga mulut pewarnaan (**A**) kontrol eosin (**B**) Ekstrak angkak 1:4 (**C**) Ekstrak angkak 1:6. (**a**) Inti sel (**b**) sitoplasma.

Berdasarkan gambar 1. didapatkan hasil dimana pada pewarnaan sampel kontrol menggunakan eosin, intisel berwarna merah muda dengan sitoplasma terwarnai dan sel epitel nampak jelas berbentuk pipih. Untuk pewarnaan sampel epitel dengan ekstrak angkak perbandingan 1:4 dan 1:6 inti sel dan sitoplasma terlihat namun tidak terwarnai, dengan bentuk sel epitel pipih namun tidak terlihat dengan jelas.

Pada saat pengamatan sel epitel mukosa rongga mulut, sel masih dalam bentuk asalnya dimana tidak terjadi plasmolysis. Didalam preparat masih terdapat kotoran hal ini diduga berasal dari kotoran yang ada di dalam mulut yang ikut terambil saat pengambilan epitelium mukosa menggunakan tusuk gigi. Pengambilan sampel epitel mukosa rongga mulut juga sangat terpengaruh, karena apabila kotoran dalam mulut ikut terambil dan peletakan pada preparat dengan cara tidak di rentangkan maka hasil yang di dapat juga tidak jernih dan menumpuk. Preparat epitelium mukosa mulut merupakan preparat yang bersifat sementara oleh sebab itu preparat harus dengan cepat diamati supaya sel tidak mengering.

	Hasil Pewarnaan			
Pewarnaan dan Konsentrasi Ekstrak Angkak	Inti sel	Sitoplasma	Bentuk sel epitel	Kejelasan Warna
Eosin	Intisel bewa	arna Sitoplasma bewarna pink	Bentuk sel epitel pipih terlihat baik	Sitoplasma dan inti sel terwarnai dengan jelas

Angkak 1:4	Inti sel terwarnai	tidak Sitoplasma bewarna bening tidak terwarnai	Bentuk sel pipih kurang jelas	Sitoplasma dan inti sel tidak terwarnai dengan jelas
Angkak 1:6	Inti sel terwarnai	tidak Sitoplasma bewarna bening tidak terwarnai	Bentuk sel epitel pipih namun kurang jelas	Sitoplasma dan inti sel tidak terwarnai dengan jelas

Tabel 1. Hasil pengamatan pewarnaan ekstrak angkak disbanding dengan kontrol

Berdasarkan hasil pewarnaan pada tabel 1, dapat diketahui bahwa hasil pewarnaan ekstrak angkak pada perbandingan 1:4 dan 1:6 menunjukkan hasil yang tidak lebih baik dari pewarnaan menggunakan eosin sebagai kontrol. Dimana hasil pewarnaan dengan ekstrak angkak memiliki morfologi sel yang tidak jelas dan pucat dikarenakan sel tidak terwarnai dengan baik. Sedangkan pada pewarnaan eosin menunjukkan sel yang terwarnai dengan jelas.

Angkak beras merah adalah salah satu bahan yang memiliki kandungan antioksidan karena mengandung antosianin yang berperan dalah warna merah (Winarti *et al*, 2017). Selain itu angkak juga mengandung pigmen warna rubropunktatin dan monaskorubrin yang bewarna merah (Apriani, 2016). Pigmen warna ini dapat dengan mudah diekstrak dengan pelarut polar seperti akuadest. Namun berdasarkan hasil percobaan, ekstrak angkak dengan pelarut akuadest tidak dapat menimbulkan ikatan zat warna sehingga sel epitel tidak terwarnai. Hal ini sesuai dengan percobaan Wulandari *et al*, 2019 dimana ekstrak secang yang dilarutkan dengan akuadest juga tidak dapat mewarnai preparat buccal smear.

Ekstrak angkak dengan pelarut akuadest tidak dapat mewarnai sel epitel rongga mulut, dapat diakibatkan karena esktrak angkak tidak pekat dan tidak kental. Karena kekentalan suatu ekstrak juga mempengarui hasil dari pewarnaan, dimana semakin kental ekstrak yang digunakan maka semakin besar kemungkinan sel dapat mengikat warna. Pada percobaan ini tidak dilakukan pemekatan dengan menggunakan evaporator ataupun dengan menambahkan larutan KOH yang dapat mempengarui pH. Pemilihan pelarut dan konsentrasi pH pada pembuatan ekstrak, nyatanya sangat berpengaruh terhadap kepekatan zat warna. Dimana pelarut yang ditambahkan KOH pada percobaan Wulandari *et al,* 2019 pada pH 7 akan menghasilkan warna merah dan pada Ph 8-9 akan menghasilkan warna biru karena basa. Hal ini dikarenakan adanya senyawa kimia yang mempunyai sifat dapat berubah dan bereaksi pada suhu dalam lingkungan asam atau basa. . Dimana pada prinsip pewarnaannya asam hanya dapat untuk mengamati sel yang bersifat basa dan basa untuk mengamati sel yang bersifat asam. Maka sebab itu, dapat dilakukan percobaan lebih lanjut untuk pewarna ekstrak angkak dengan variasi pelarut agar dapat ditemukan potensi zat warna alternatif pada angkak

untuk pewarnaan preparat epitel mukosa rongga mulut sehingga dapat dikembangkan untuk pengamatan sitologi seperti swab vagina atau pemeriksaan cairan pleura.

KESIMPULAN

Kesimpulan percobaan adalah ekstrak angkak beras merah dengan pelarut akuadest belum mampu mewarnai inti sel dan sitoplasma pada preparat epitel mukosa rongga mulut.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriani, Ike. 2016. Pengembangan Media Belajar: Angkak Beras Merah dan Teh (*Camellia sinensis*) Sebagai Pewarna Alternatif Preparat Basah Jaringan Tumbuhan. *Jurnal Bioilmi* (2)1: 59-65.
- Bria, G.G, Seran, Y.N., Naisumu, Y.G. 2023. Uji Ketahanan Pewarna Alami Kain Tenun Ikat Kecamatan Noemuti Timur Pada Preparat Basah Jaringan Tumbuhan. *Jurnal Biologi Indonesia* 19(2): 155-165.
- Khristian, Erick., Inderiati, Dewi.2017. "Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis Sitohistoteknologi". Banten: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mizan, M.N., Danayanti, M., Nuroini, F. 2021. Gambaran Sitologi Epitel Mukosa Rongga Mulut Pewarnaan Ekstrak Bunga Sepatu (*Hibiscus Rosa-sinensis* L.). *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS* (4). Semarang: 1790-1796.
- Patil, M.A., Shinde, J.K. 2016. Adsorption of methylene blue in waste water by lowcost adsorbent bentonite soil. *International Journal of Engineering Science and Computing* 1 6(9): 2160-2167.
- Rahmawati, F., Sari, P. S., Huda, N., Rousdy, D. W. 2023. Ekstrak Biji Kesumba Keling (*Bixa orella* L.) sebagai Pewarna Alami Sediaan Jaringan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Bios Logos* 13(3): 233242.
- Saraswati, Rahmawati, Y. 2023. Rosella (Hibiscus sabdariffa) sebagai Alternatif Bahan Pewarna Histologi. *Jurnal Sains dan Teknologi Laboratorium Medik* 9(1), 22 26
- Winarti, Sri., Djajati, Sri., Hidayat, Ramdan., Jilian, Latni. 2018. Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Beras Analog Dari Tepung Komposit (Gadung, Jagung, Mocaf) Dengan Penambahan Pewarna Angkak. *Journal Reka Pangan* 12(1):27-40.
- Wulandari, F.Y.S., Widiyani, S.D., Iswara. A. 2019. Caesar (*Caesalpinia EXTRACT*): Pewarna Alami Tanaman Indonesia Pengganti Giemsa. *Jurnal Labora Medika* (3):45-49.