

POTENSI EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* linn.) SEBAGAI PEWARNA ALAMI SITOLOGI PENGANTI EOSIN PADA PEWARNAAN DIFF-QUICK

Nur Anisyah Nisfia¹, Muhammad Arsyad², Nafila³

Program Studi Diploma III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan Dan Sains Teknologi,
Universitas Borneo Lestari, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia ^{1,2,3}

Email:

Informasi	Abstract
Volume : 3 Nomor : 9 Bulan : September Tahun : 2026 E-ISSN : 3062-9624	<i>Staining is an important step in cytological examination to enhance the visualization of cell morphology. Rosella flower (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) contains anthocyanin pigments that have the potential to be used as a natural dye to replace eosin in the Diff-Quick staining method. This study aimed to determine the potential of rosella flower extract as a natural cytological dye to replace eosin in the Diff-Quick staining method. This study employed a Quasi-Experimental Laboratory method with a Posttest-Only Control Group Design, using rosella extract at concentrations of 5%, 10%, and 20%, with six repetitions for each treatment, and 1% eosin as the positive control. Staining quality was assessed based on color contrast, clarity of cell morphology, and background color. The results showed that rosella flower extract tested positive for anthocyanin. The mean staining scores for concentrations of 5%, 10%, and 20% were 5.00, 6.33, and 7.67, respectively, while the Diff-Quick control had a mean score of 9.00. The Kruskal-Wallis test showed a significant difference among the groups ($p < 0.05$), while the Mann-Whitney test showed that the 20% concentration remained significantly different from the Diff-Quick control ($p = 0.002$). Rosella flower extract was able to stain oral mucosal epithelial cells, with the 20% concentration producing the best staining results among the concentrations tested; however, it did not achieve staining quality comparable to that of the Diff-Quick method.</i> Keyword: Rosella flower extract (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.), anthocyanin, eosin, Diff-Quick, oral mucosal epithelial cells.

Abstrak

Pewarnaan merupakan salah satu tahapan penting dalam pemeriksaan sitologi untuk memperjelas morfologi sel. Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung pigmen antosianin yang berpotensi digunakan sebagai pewarna alami pengganti eosin pada metode pewarnaan Diff-Quick. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak bunga rosella sebagai pewarna alami sitologi pengganti eosin pada pewarnaan Diff-Quick. Penelitian ini menggunakan metode Quasi Eksperimen Laboratorium dengan rancangan Posttest-Only Control Group Design, menggunakan ekstrak rosella konsentrasi 5%, 10%, dan 20% dengan enam kali pengulangan serta eosin 1% sebagai kontrol positif. Penilaian dilakukan berdasarkan kontras warna, kejelasan morfologi sel, dan warna latar belakang. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak bunga rosella positif mengandung antosianin. Rata-rata skor pewarnaan konsentrasi 5%, 10%, dan 20% masing-masing sebesar 5,00; 6,33; dan 7,67, sedangkan kontrol Diff-Quick sebesar 9,00. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p < 0,05$), sedangkan uji Mann-Whitney menunjukkan konsentrasi 20% masih berbeda signifikan dengan kontrol Diff-Quick ($p = 0,002$). Ekstrak bunga rosella dapat memberikan pewarnaan

pada sel epitel mukosa mulut, dengan konsentrasi 20% memberikan hasil terbaik di antara konsentrasi yang diuji, namun belum menyamai hasil pewarnaan Diff-Quick.

Kata Kunci : Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), antosianin, eosin, Diff-Quick, sel epitel mukosa mulut.

A. PENDAHULUAN

Sitologi merupakan cabang ilmu yang mempelajari struktur dan morfologi sel melalui pengamatan mikroskopis. Dalam praktik sitologi, pewarnaan menjadi tahapan yang sangat penting karena sel pada sediaan tanpa pewarnaan bersifat transparan sehingga sulit diamati secara jelas. Salah satu zat warna sintetis yang umum digunakan dalam teknik pewarnaan sitologi, termasuk *Diff-Quick* dan Papanicolaou adalah eosin. Pewarna asam ini berfungsi memberikan kontras pada sitoplasma dengan cara berikatan dengan protein sel, sehingga struktur sel lebih mudah dikenali di bawah mikroskop (Dila *et al*, 2023).

Meskipun eosin telah lama digunakan dan memberikan hasil pewarnaan yang baik, penggunaan zat warna sintetis memiliki sejumlah keterbatasan. Beberapa pewarna sintetis diketahui bersifat toksik, berpotensi karsinogenik, serta kurang ramah lingkungan. Selain itu, paparan bahan kimia tersebut dalam jangka panjang dapat menimbulkan risiko kesehatan bagi petugas laboratorium (Sabban & Wahyuni, 2024). Kondisi ini mendorong perlunya pengembangan alternatif pewarna alami yang lebih aman, mudah diperoleh, dan relatif ekonomis (Balqis *et al*, 2025).

Salah satu tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai pewarna alami adalah rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), anggota famili *Malvaceae* yang dikenal kaya akan pigmen antosianin. Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang menghasilkan warna merah keunguan khas serta memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian oleh Tungadi *et al* (2022) menyebutkan bahwa kandungan pigmen pada rosella cukup tinggi dan berpotensi menghasilkan warna yang stabil, terutama pada kondisi asam yang sesuai dengan karakteristik pewarnaan sitologi.

Penelitian Adinda *et al* (2023) menunjukkan bahwa ekstrak rosella mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti *flavonoid*, *fenolik*, *tanin*, *alkaloid*, *saponin*, *kuinon*, dan antosianin dengan kapasitas antioksidan yang tergolong sangat kuat ($IC_{50} = 78,65 \mu\text{g/mL}$). Selain itu, kandungan asam askorbat dan asam sitrat dalam rosella turut berperan dalam menjaga kestabilan warna ekstrak (Nugroho *et al*, 2018). Karakteristik ini menunjukkan bahwa ekstrak rosella berpotensi dimanfaatkan sebagai zat warna alami pada sediaan sitologi.

Pemanfaatan ekstrak tanaman sebagai pengganti eosin bukanlah hal baru. Penelitian sebelumnya Mutoharoh *et al*, 2020 melaporkan bahwa ekstrak bunga sepatu (*Hibiscus rosa-*

sinensis L.) mampu mewarnai sitoplasma sel dengan cukup baik pada metode *Diff-Quick* pada konsentrasi ekstrak kelompok C 0,5 gram/mL di tambah dengan HCL selama 30 menit dan *methylene blue* serta pada kelompok D dengan konsentrasi ekstrak 0,7 gram/mL selama 15 menit dan *methylene blue*. Adapun pada penelitian oleh Balqis *et al*, 2025 menggunakan buah naga merah (*Hylocereus ipolyrhizus*) pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% pengganti eosin *Diff-Quick* menunjukkan kualitas pewarnaan yang baik pada setiap konsentrasi.

Metode *Diff-Quick* merupakan teknik pewarnaan sitologi cepat yang termasuk turunan pewarnaan *Romanowsky* dan banyak digunakan pada pemeriksaan FNAB (*Fine Needle Aspiration Biopsy*) serta sediaan sitologi non-ginekologi. Pewarnaan ini menggunakan tiga larutan utama, yaitu metanol sebagai fiksatif, eosin sebagai pewarna asam sitoplasma, dan *methylene blue* sebagai pewarna basa untuk inti sel (Mutoharoh *et al*, 2020). Dibandingkan dengan pewarnaan Giemsa, *Diff-Quick* memiliki prosedur yang lebih sederhana, waktu pengerjaan yang lebih singkat, serta menghasilkan gambaran sediaan yang lebih kontras tanpa memerlukan fiksasi basah (Dila *et al*, 2023). Selain itu, pewarnaan Papanicolaou sering menghadapi kendala berupa hasil pewarnaan yang terlalu pudar, sehingga menyulitkan interpretasi preparat. Kondisi tersebut dapat disebabkan oleh kontaminasi hematoksin dan *xylol* karena partikel asing yang masuk dalam larutan serta proses *clearing* yang tidak optimal sehingga menurunkan kualitas pewarnaan inti sel (Charisma *et al*, 2025). Oleh karena itu, *Diff-Quick* dapat menjadi alternatif metode pewarnaan yang lebih praktis, termasuk untuk aplikasi pada sediaan sitologi mukosa mulut.

Mukosa mulut dilapisi oleh epitel skuamosa berlapis yang mudah mengalami deskuamasi, sehingga sel-selnya relatif mudah diperoleh. Pengambilan sampel mukosa mulut bersifat non-invasif, sederhana, dan lebih aman dibandingkan dengan biopsi jaringan, sehingga sesuai digunakan sebagai bahan penelitian sitologi (Mutoharoh *et al*, 2020)

Berdasarkan uraian tersebut, terdapat peluang untuk memanfaatkan ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) sebagai pewarna alami pengganti eosin pada metode pewarnaan *Diff-Quick* menggunakan pelarut methanol yang sudah di asamkan dengan asam sitrat. Asam sitrat dipilih karena aman digunakan sebagai bahan pangan, harganya terjangkau, dan mampu membantu menjaga kestabilan antosianin. Dibandingkan asam mineral kuat seperti asam klorida atau asam fosfat, asam sitrat lebih aman dan praktis untuk digunakan dalam proses ekstraksi. Metanol digunakan sebagai pelarut karena dapat melarutkan antosianin dengan baik. Penambahan asam sitrat ke dalam pelarut bertujuan untuk mengatur pH agar berada pada

kondisi yang optimal, sehingga proses ekstraksi antosianin menjadi lebih efektif dan senyawa yang dihasilkan tetap stabil (Melini *et al*, 2026).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak bunga rosella dalam mewarnai sitoplasma sel pada sediaan sitologi. Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi dasar awal pengembangan pewarna alami yang lebih aman, ramah lingkungan, dan aplikatif di bidang sitologi. Pewarnaan sitologi yang baik diharapkan mampu memberikan kontras yang jelas antara sitoplasma dan inti sel, sehingga morfologi sel epitel dapat diamati dan dibedakan dengan mudah di bawah mikroskop.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan quasi eksperimen laboratorium dengan rancangan *Posttest-Only Control Group Design* yang bertujuan mengetahui potensi ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) sebagai pewarna alami sitologi pengganti eosin pada metode pewarnaan *Diff-Quick*; kelompok kontrol diwarnai dengan *Diff-Quick*/eosin 1%, sedangkan kelompok perlakuan menggunakan ekstrak rosella konsentrasi 5%, 10%, dan 20%, dengan 6 kali pengulangan tiap perlakuan yang ditentukan melalui rumus *Federer*. Variabel bebasnya adalah penggunaan ekstrak rosella pada variasi konsentrasi tersebut, sedangkan variabel terikatnya adalah kualitas pewarnaan sel epitel mukosa mulut yang mencakup kontras warna, kejelasan morfologi sel, dan warna latar belakang, yang diukur secara ordinal dengan skor 1–3 (tidak jelas, cukup jelas, jelas).

Bahan yang digunakan meliputi kelopak rosella, metanol, eosin, *methylene blue*, *aquadest*, asam sitrat, HCl, NaOH, dan lain-lain, dengan alat seperti gelas ukur, *rotary evaporator*, *waterbath*, mikroskop binokuler, *object glass*, dan pH meter; penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Borneo Lestari Banjarbaru pada 02–29 April 2026. Prosedur kerja mencakup pemilihan kelopak rosella pada fase kematangan optimal, pembuatan ekstrak melalui maserasi 300 g kelopak dengan metanol dan asam sitrat selama 5 hari di tempat gelap lalu diuapkan dengan *rotary evaporator*, pengukuran pH, uji kualitatif antosianin dengan penambahan asam dan basa, pembuatan sediaan apusan mukosa mulut melalui swab smear, pewarnaan preparat dengan metode *Diff-Quick* untuk kontrol serta ekstrak rosella sebagai pengganti eosin untuk perlakuan, hingga interpretasi hasil secara mikroskopis; data primer yang diperoleh kemudian ditabulasi dan dianalisis menggunakan IBM SPSS dengan uji *Kruskal–Wallis* karena data berskala ordinal.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil Uji Kualitatif Antosianin

Pengujian kualitatif antosianin dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa antosianin dalam ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Pengujian dilakukan dengan penambahan HCl 2N sebagai perlakuan dalam suasana asam dan NaOH 2N dalam suasana basa. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil uji kualitatif antosianin

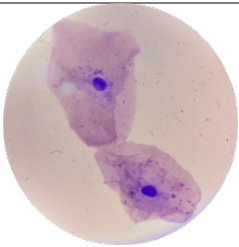
Perlakuan	Preparasi	Pengamatan	Hasil
Antosianin	HCL 2N	Berwarna Merah	(+) Positif
	NaOH 2N	Berwarna Hijau Kebiruan	(+) Positif

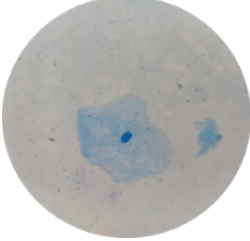
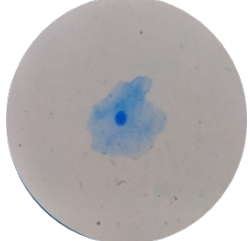
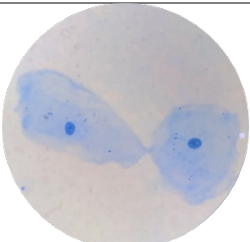
Berdasarkan Tabel 1, ekstrak bunga rosella menunjukkan warna merah setelah penambahan HCl 2N dan pemanasan, sedangkan setelah penambahan NaOH 2N terjadi perubahan warna menjadi hijau kebiruan.

Hasil Pewarnaan Sitologi Mukosa Mulut Menggunakan Ekstrak Bunga Rosella dan Diff-Quick

Pada penelitian ini, sediaan mukosa mulut dibuat menggunakan teknik *swab smear* dan diwarnai dengan ekstrak bunga rosella konsentrasi 5%, 10%, dan 20%, serta Diff-Quick sebagai kontrol. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak enam kali pengulangan. Penilaian hasil pewarnaan meliputi kontras warna, kejelasan morfologi, dan latar belakang, kemudian dihitung berdasarkan total skor rata-rata. Hasil pengamatan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil pewarnaan mukosa mulut menggunakan ekstrak rosella dan pewarnaan *diff-quick* (kontrol)

Perlakuan	Gambar Mikroskopis	Kontras Warna	Kejelasan Morfologi	Latar Belakang	Total Rata-rata
<i>Diff-Quick</i> (Kontrol)		3,00	3,00	3,00	9,00

Rosella 5%		1,00	3,00	1,00	5,00
Rosella 10%		1,50	3,00	1,83	6,33
Rosella 20%		2,00	3,00	2,67	7,67

(Sumber: data primer, 2026)

Berdasarkan Tabel 2, pewarnaan menggunakan *Diff-Quick* sebagai kontrol memberikan hasil terbaik dengan total skor rata-rata **9,00**. Ekstrak rosella konsentrasi 5% menghasilkan total skor rata-rata terendah, yaitu **5,00**, terutama karena kontras warna dan latar belakang yang kurang baik. Pada konsentrasi 10%, hasil pewarnaan mengalami peningkatan dengan total skor rata-rata **6,33**. Sementara itu, konsentrasi 20% memberikan hasil pewarnaan terbaik di antara kelompok ekstrak rosella dengan total skor rata-rata **7,67**. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak rosella cenderung meningkatkan kualitas pewarnaan mukosa mulut, meskipun hasil pewarnaannya masih berada di bawah *Diff-Quick* sebagai kontrol.

Analisis Data Penelitian

Analisis data ekstrak rosella dan *diff-quick*

Kruskal Wallis

Analisis data dilakukan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil pewarnaan mukosa mulut antara kelompok ekstrak bunga rosella konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan *Diff-Quick* sebagai kontrol positif. Uji ini digunakan untuk membandingkan hasil penilaian pada seluruh kelompok perlakuan.

Tabel 3 Hasil uji *Kruskal Wallis* ekstrak rosella dan *diff-quick*

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
Nilai	5	6	3.50
	10	6	9.83
	20	6	15.17
	K(+)	6	21.50
	Total	24	

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis*, diperoleh perbedaan hasil pewarnaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Nilai mean rank terendah terdapat pada kelompok rosella 5% (3,50), sedangkan nilai tertinggi terdapat pada kelompok *Diff-Quick* (21,50). Kelompok rosella 20% memiliki mean rank sebesar 15,17, yang menunjukkan hasil pewarnaan lebih baik dibandingkan konsentrasi 5% dan 10%, tetapi masih lebih rendah dibandingkan *Diff-Quick*. Karena terdapat perbedaan yang signifikan, analisis dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan antar pasangan kelompok perlakuan. Pada hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan.

Mann-Whitney U

Uji *Mann-Whitney U* dilakukan sebagai analisis lanjutan setelah uji *Kruskal-Wallis* untuk menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Perbandingan dilakukan antara kelompok ekstrak rosella konsentrasi 5%, 10%, dan 20% dengan pewarna *Diff-Quick* sebagai kontrol.

Tabel 4 Hasil Uji *Mann-Whitney U* ekstrak rosella dan *diff- quick*

Perbandingan Kelompok	Mann-Whitney U	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Rosella 5% vs Kontrol (K+)	0,000	-3,317	0,001
Rosella 10% vs Kontrol (K+)	0,000	-3,146	0,002
Rosella 20% vs Kontrol (K+)	0,000	-3,146	0,002

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U*, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,001 pada perbandingan rosella 5% dengan kontrol, 0,002 pada rosella 10% dengan kontrol, dan 0,002 pada rosella 20% dengan kontrol. Seluruh nilai signifikansi tersebut $< 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil pewarnaan masing-masing konsentrasi ekstrak rosella dengan *Diff-Quick* sebagai kontrol positif. Hasil tersebut

menunjukkan bahwa meskipun konsentrasi 20% memberikan hasil pewarnaan terbaik di antara kelompok ekstrak rosella, hasil pewarnaannya masih berbeda secara signifikan dengan *Diff-Quick* (Tungadi et al., 2022).

Limitasi Penelitian

Penelitian ini memiliki keterbatasan pada aspek teknis pengamatan mikroskopis, khususnya pada pengaturan mikroskop yang digunakan selama pengamatan sediaan. Terutama pada posisi dan pengaturan kondensor, dapat memengaruhi pencahayaan dan kontras warna yang terlihat pada sediaan sel epitel mukosa mulut. Kondisi tersebut menyebabkan warna hasil pewarnaan dapat tampak berbeda saat diamati melalui mikroskop, sehingga menimbulkan variasi tampilan warna pada saat dilakukan dokumentasi. Perbedaan hasil tampilan tersebut dapat memengaruhi penilaian visual terhadap kualitas pewarnaan, terutama pada aspek kontras dan intensitas warna sediaan.

Pembahasan

Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada penelitian ini dibuat melalui metode maserasi menggunakan metanol yang telah ditambahkan asam sitrat. Kelopak bunga rosella yang telah dibersihkan dan dipotong lalu ditambahkan dengan metanol yang mengandung asam sitrat, kemudian disimpan di tempat gelap selama 5 hari. Penggunaan metanol sebagai pelarut bertujuan untuk membantu menarik senyawa antosianin yang terdapat dalam kelopak rosella, sedangkan penambahan asam sitrat digunakan untuk mempertahankan kondisi asam yang mendukung kestabilan antosianin selama proses ekstraksi. Setelah proses maserasi selesai, hasil rendaman disaring untuk memisahkan ampas dari filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk mengurangi pelarut, selanjutnya dipanaskan menggunakan waterbath hingga diperoleh ekstrak yang lebih kental.

Ekstrak yang sudah di proses dilanjutkan dengan uji kualitatif antosianin dengan penambahan asam dan basa. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak berubah menjadi merah setelah penambahan HCl 2N dan hijau kebiruan setelah penambahan NaOH 2N, sehingga dinyatakan positif mengandung antosianin. Hasil ini sejalan dengan Amperawat *et al* (2019), yang melaporkan perubahan warna ekstrak rosella pada kondisi asam dan basa. Perubahan warna tersebut berkaitan dengan sifat antosianin yang sensitif terhadap perubahan pH. Pada suasana asam, antosianin cenderung memberikan warna merah, sedangkan pada kondisi basa dapat mengalami perubahan struktur sehingga warna berubah menjadi kebiruan atau hijau.

Sediaan apusan mukosa mulut dalam penelitian ini diwarnai menggunakan ekstrak rosella konsentrasi 5%, 10%, dan 20%, dengan *Diff-Quick* sebagai kontrol positif. Setiap

perlakuan dilakukan sebanyak enam kali pengulangan. Berdasarkan hasil pengamatan, *Diff-Quick* memberikan hasil pewarnaan terbaik dengan skor rata-rata 9,00. Sementara itu, ekstrak rosella konsentrasi 5%, 10%, dan 20% masing-masing memperoleh skor rata-rata 5,00; 6,33; dan 7,67. Konsentrasi 5% menghasilkan kontras warna dan latar belakang yang kurang baik. Pada konsentrasi 10% terjadi peningkatan kualitas pewarnaan, sedangkan konsentrasi 20% memberikan hasil terbaik di antara kelompok ekstrak rosella. Meskipun demikian, hasil pewarnaan konsentrasi 20% masih belum menyamai kontrol *Diff-Quick*. Peningkatan skor dari konsentrasi 5% hingga 20% menunjukkan adanya kecenderungan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin baik kemampuan ekstrak rosella dalam memberikan warna pada sel epitel mukosa mulut.

Perbedaan hasil pewarnaan tersebut dapat berkaitan dengan jumlah pigmen antosianin yang tersedia pada masing-masing konsentrasi. Konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi diduga mengandung jumlah pigmen yang lebih banyak sehingga warna yang dihasilkan pada sediaan menjadi lebih jelas. Sebaliknya, pada konsentrasi 5%, jumlah pigmen yang tersedia lebih rendah sehingga warna yang dihasilkan belum memberikan kontras yang optimal. Hal tersebut terlihat dari nilai skor yang meningkat dari 5,00 pada konsentrasi 5% menjadi 6,33 pada konsentrasi 10% dan 7,67 pada konsentrasi 20%. Dengan demikian, konsentrasi 20% merupakan konsentrasi yang paling baik dalam memberikan pewarnaan di antara konsentrasi ekstrak rosella yang diuji.

Hasil pengamatan selanjutnya dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis karena data berupa skor penilaian yang bersifat ordinal. Hasil uji menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Nilai *mean rank* meningkat dari konsentrasi rosella 5% sebesar 3,50, konsentrasi 10% sebesar 9,83, konsentrasi 20% sebesar 15,17, hingga kontrol *Diff-Quick* sebesar 21,50. Peningkatan *mean rank* tersebut menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kualitas pewarnaan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak rosella. Namun, *Diff-Quick* tetap memiliki peringkat tertinggi sehingga memberikan kualitas pewarnaan yang lebih baik dibandingkan seluruh konsentrasi ekstrak rosella.

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, analisis dilanjutkan menggunakan uji *Mann-Whitney U* untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing konsentrasi ekstrak rosella dengan kontrol *Diff-Quick*. Hasil uji menunjukkan nilai *p* sebesar 0,001 pada konsentrasi 5%, 0,002 pada konsentrasi 10%, dan 0,002 pada konsentrasi 20%. Seluruh nilai $p < 0,05$, sehingga terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing konsentrasi ekstrak rosella dengan kontrol *Diff-Quick*. Dengan demikian, meskipun konsentrasi

20% memberikan hasil terbaik di antara ekstrak rosella, kualitas pewarnaannya secara statistik masih berbeda dengan *Diff-Quick*.

Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa ekstrak rosella tanpa pengenceran memiliki pH 2,40, sedangkan konsentrasi 5%, 10%, dan 20% masing-masing memiliki pH 6,30; 3,74; dan 2,78. Perbedaan nilai pH tersebut menunjukkan bahwa proses pengenceran memengaruhi kondisi keasaman ekstrak. Kondisi pH dapat memengaruhi bentuk dan kestabilan antosianin karena senyawa tersebut bersifat sensitif terhadap perubahan pH. Hal ini sejalan dengan Sukma *et al* (2018), yang menyatakan bahwa kestabilan antosianin dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, termasuk pH. Oleh karena itu, perbedaan pH pada masing-masing konsentrasi diduga turut memengaruhi intensitas warna dan kemampuan ekstrak rosella dalam memberikan pewarnaan pada sel epitel mukosa mulut.

Selain pH, kondisi suhu dan lama penyimpanan juga diduga memengaruhi hasil pewarnaan. Dalam penelitian ini, ekstrak rosella disimpan di dalam lemari pendingin. Pada saat akan digunakan, ekstrak dikeluarkan dan sebagian didiamkan hingga mencapai suhu ruang sebelum dilakukan pengenceran. Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan intensitas warna antara ekstrak yang digunakan dalam kondisi dingin dan ekstrak yang telah didiamkan pada suhu ruang. Pewarnaan cenderung lebih baik setelah ekstrak didiamkan sebelum digunakan, meskipun hasilnya tidak setajam pada penggunaan awal. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa suhu ekstrak pada saat digunakan kemungkinan turut memengaruhi hasil pewarnaan.

Hal tersebut sejalan dengan Amperawat *et al* (2019), yang menyatakan bahwa suhu dan lama penyimpanan dapat memengaruhi kestabilan antosianin pada ekstrak kelopak rosella. Penyimpanan pada kondisi yang kurang sesuai dapat menyebabkan penurunan kestabilan pigmen sehingga intensitas warna yang dihasilkan juga dapat berubah. Sukma *et al* (2018), juga melaporkan bahwa lama penyimpanan dapat menyebabkan degradasi antosianin, sedangkan kondisi suhu yang lebih rendah dapat membantu mengurangi degradasi tersebut. Oleh karena itu, selain menentukan konsentrasi ekstrak, kondisi pH, suhu saat digunakan, lama penyimpanan, serta perlindungan dari cahaya perlu diperhatikan untuk memperoleh hasil pewarnaan yang lebih konsisten.

Penggunaan pewarna alami pada pemeriksaan sitologi juga dipengaruhi oleh karakteristik pigmen yang terkandung di dalam ekstrak. Sabban & Wahyuni (2024), juga menunjukkan bahwa keberhasilan pewarna alami dipengaruhi oleh kemampuan pigmen menghasilkan kontras dan penetrasi warna pada sel. Ekstrak rosella pada penelitian ini mampu

mewarnai sel epitel mukosa mulut, terutama pada konsentrasi 20%, meskipun hasilnya masih berbeda signifikan dengan *Diff-Quick*. Dengan demikian, ekstrak bunga rosella berpotensi sebagai pewarna alami, dengan konsentrasi 20% memberikan hasil terbaik di antara konsentrasi yang diuji.

D. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) sebagai pewarna alami sitologi pengganti eosin pada metode pewarnaan *Diff-Quick*, dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga rosella positif mengandung pigmen antosianin. Kandungan antosianin tersebut berperan sebagai senyawa aktif pemberi warna sehingga memungkinkan ekstrak bunga rosella digunakan sebagai pewarna alami pada sediaan sitologi. Selain itu, ekstrak bunga rosella terbukti dapat memberikan pewarnaan pada sel epitel mukosa mulut, meskipun kualitas pewarnaan yang dihasilkan bervariasi pada setiap konsentrasi yang diuji. Dari variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 20%, konsentrasi 20% memberikan hasil pewarnaan terbaik dibandingkan konsentrasi lainnya. Namun, hasil pewarnaan pada konsentrasi 20% masih berbeda signifikan dengan kontrol *Diff-Quick* ($p < 0,05$). Dengan demikian, ekstrak bunga rosella berpotensi sebagai alternatif pewarna alami sitologi, tetapi belum mampu menyamai kualitas pewarnaan eosin pada metode *Diff-Quick* standar.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian lebih lanjut terhadap pengaruh pH, suhu, dan lama penyimpanan ekstrak bunga rosella agar diperoleh kondisi yang lebih optimal. Optimasi tersebut diharapkan dapat meningkatkan kejelasan dan kontras pewarnaan sel epitel mukosa mulut, sehingga potensi ekstrak bunga rosella sebagai pewarna alami sitologi dapat dimanfaatkan secara lebih maksimal.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Adinda, A. A., Limanan, D., & Ferdinal, F. (2023). Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*): Uji Fitokimia, Total Antioksidan, dan Kadar Fenolik Total. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(3), 3580–3586.
- Amperawat, S., Hastuti, P., Partono, Y., & Santoso, U. (2019). Efektifitas Frekuensi Ekstraksi Serta Pengaruh Suhu dan Cahaya Terhadap Antosianin dan Daya Antioksidan Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.). 8(1), 38–45.
- Balqis, P., Jumadewi, A., Syarief, S. W. Al, & Darmawati. (2025). EKSTRAK BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus ipolyrhizus*) SEBAGAI PENGGANTI EOSIN PADA PEWARNAAN SEDIAAN

- SITOLOGI EPITEL MUKOSA MULUT. *CENDEKIA : Jurnal Ilmu Pengetahuan*, 5(1), 290–296.
<https://doi.org/https://jurnalp4i.com/index.php/cendekia>
- Charisma, A. M., Indraati, R., & Kapri, Y. A. (2025). Efektivitas Penggunaan Pewarna Giemsa sebagai Substitusi Harris Hematoksilin dalam Pewarnaan Papanicolaou pada Sitologi Cairan Asites. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 16(1), 68–75.
<https://doi.org/https://doi.org/10.32382/jmak.v16i1.1281>
- Dila, T. R., Raharjo, N., Rukmana, D. I., Kesehatan, P., Kesehatan, K., & Timur, K. (2023). Perbandingan Pewarnaan Giemsa, Diff Quick dan Papanicolaou Preparat Efusi Pleura di RSUD A.W Sjahranie. *Jurnal KesehatanTambusai*, 4(3), 1–7.
- Melini, F., Fasano, S., & Melini, V. (2026). Role of Solvent and Citric Acid-Mediated Solvent Acidification in Enhancing the Recovery of Phenolics, Flavonoids, and Anthocyanins from Apple Peels. *Applied Sciences*, 16(2), 671. <https://doi.org/10.3390/app16020671>
- Mutoharoh, L., Santoso, S. D., & Mandasari, A. A. (2020). PEMANFAATAN EKSTRAK BUNGA SEPATU (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) SEBAGAI ALTERNATIF PEWARNA ALAMI SEDIAAN SITOLOGI PENGANTI EOSIN PADA PENGEKATAN DIFF QUIK. *Jurnal SainHealth*, 4(2), 21.
<https://doi.org/10.51804/jsh.v4i2.770.21-26>
- Nugroho P, Dwiloka B, & Rizqiaty H. (2018). Rendemen, Nilai pH, Tekstur, dan Aktivitas Antioksidan Keju Segar dengan Bahan Pengasam Ekstrak Bunga Rosella Ungu. *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1), 33–39.
- Sabban, I. F., & Wahyuni, I. N. (2024). POTENSI PEWARNAAN ALAMI EKSTRAK BUAH NAGA MERAH *Hylocereus polyrhizus* SEBAGAI ALTERNATIF EOSIN. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains Dan Kesehatan*, 11(2), 143. <https://doi.org/10.56710/wiyata.v11i2.833>
- Sukma P, D. P., Nur, Y., & Fadraersada, J. (2018). PROFIL STABILITAS EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*HIBISCUS SABDARIFFA*) SEBAGAI KANDIDAT PEWARNA LIPSTIK. 8, 200–206.
- Tungadi, R., Madania, M., & Aini, B. H. (2022). Formulasi dan Evaluasi Sabun Padat Transparan dari Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 2(2), 117–124. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i2.14060>