

Validitas Ekstrak Asam Sitrat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Pewarna Sel Hepatosit Pada Preparat Jaringan Organ Hepar Tikus *Rattus Norvegicus L*

Nanda Yustar Afif Muslim, Arif yahya, Aris Rosidah*

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Pemanfaatan 30-35% bagian dari kulit buah naga kurang optimal seringkali hanya dibuang sebagai limbah. Buah naga memiliki pigmen antosianin dan betasianin pada kulit serta daging buahnya yang dapat digunakan sebagai zat warna pada pewarnaan jaringan untuk menggantikan pewarna sintetis eosin yang bersifat karsinogenik. penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas pewarnaan dengan ekstrak kulit buah naga pada preparat histologi organ hepar *Rattus norvegicus L* kemudian dinilai validasinya

Metode : Simplisia kulit buah naga di ekstraksi dengan larutan asam sitrat kemudian dibuat tiga konsentrasi pewarna (10%, 25%, 50%,), *hematoxylin eosin* (Kontrol positif +), dan asam sitrat (kontrol negatif -). Dilakukan pewarnaan pada preparat kemudian preparat diamati dibawah mikroskop trinokuler perbesaran 400 kali dan dilakukan pengamatan deskriptif. Sel hepatosit dihitung menggunakan ImageJ, Uji statistik dilakukan untuk pengamatan deskriptif menggunakan *Mann-Whitney* ($P < 0,05$)

Hasil : Pewarna *hematoxylin eosin* (HE) memberikan hasil rata-rata pengamatan deskriptif (kejelasan, warna, kontras dan debris) yaitu (10,10,10,10) sedangkan asam sitrat (0,0,0,0). Pewarnaan Ekstrak asam sitrat kulit buah naga merah dengan konsentrasi 10% mendapatkan nilai rata-rata pengamatan deskriptif (kejelasan, warna, kontras dan debris) (2, 2, 2, 2), dengan konsentrasi 25% (2, 2, 2, 2), dan dengan konsentrasi 50% (2, 1, 1, 2). Hasil nilai akurasi pada konsentrasi 10%, 25% dan 50% didapatkan sebesar (98%, 52% dan 89%), Hasil nilai presisi pada konsentrasi 10%, 25% dan 50% didapatkan sebesar (17%, 13% dan 19%).

Kesimpulan : Ekstrak asam sitrat kulit buah naga merah dapat mewarnai preparat organ hepar *Rattus norvegicus L*, tetapi kualitasnya lebih rendah dibandingkan pewarna *hematoxylin eosin* sebagai kontrol pembandingan

Kata kunci : Pewarna alami, *Hylocereus polyrhizus*, *Hematoxylin eosin*, *Rattus norvegicus L*, Akurasi, Presisi

*Korespondensi :

dr.H.Arif yahya M.kes

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail : arifyahya@unisma.ac.id

Validity of Citric Acid Extract of Red Dragon Fruit Peel (*Hylocereus Polyrhizus*) as Hepatocyte Cell Stain in Hepar Tissue Preparation of Rat *Rattus Norvegicus L*.

Nanda Yustar Afif Muslim, Arif Yahya, Aris Rosidah*

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Utilization of 30-35% of the skin of dragon fruit is less than optimal often only discarded as waste. Dragon fruit has anthocyanin and betasianin pigments in the skin and pulp that can be used as a dye in tissue staining to replace the synthetic dye eosin which is carcinogenic. This study aims to determine the quality of staining with dragon fruit peel extract on histology preparations of *Rattus norvegicus L* hepatic organs and then assess its validation.

Methods: Simplified dragon fruit peel was extracted with citric acid solution then three concentrations of dye (10%, 25%, 50%,), *hematoxylin eosin* (positive control +), and citric acid (negative control -) were made. Staining was done on the preparations then the preparations were observed under a 400 times magnification trinocular microscope and descriptive observations were made. Hepatocyte cells were counted using ImageJ, the results of hepatocyte cell counting were processed by the accuracy formula with acceptance requirements (98-102%) and precision with acceptance requirements (<2%). Statistical tests were carried out for descriptive observations using *Mann-Whitney*

Results: *Hematoxylin eosin* (HE) dye gives the average results of descriptive observations (clarity, color, contrast and debris), namely (10,10,10,10) while citric acid (0,0,0,0). Staining of citric acid extract of red dragon fruit skin with a concentration of 10% gets the average value of descriptive observations (clarity, color, contrast and debris) (2, 2, 2, 2), with a concentration of 25% (2, 2, 2, 2), and with a concentration of 50% (2, 1, 1, 2). The results of accuracy values at concentrations of 10%, 25% and 50% were obtained as (98%, 52% and 89%), The results of precision values at concentrations of 10%, 25% and 50% were obtained as (17%, 13% and 19%).

Conclusion: Citric acid extract of red dragon fruit peel can color *Rattus norvegicus L* hepatic organ preparations, but the quality is lower than *hematoxylin eosin* dye as a comparative control.

Keywords: Natural dye, *Hylocereus polyrhizus*, *Hematoxylin eosin*, *Rattus norvegicus L*, Accuracy, Precision

*Correspondence:

dr.H.Arif yahya M.kes

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

e-mail : arifyahya@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Histopatologi berperan penting dalam mendiagnosa suatu penyakit karena salah satu aspek untuk mendapatkan hasil diagnosis adalah pengamatan jaringan yang dianggap terganggu.¹ Untuk menghasilkan preparat histologi yang adekuat untuk diagnosis, salah satu tahapan yang harus dilalui adalah *staining* (pewarnaan).² Salah satu jenis pewarna yang sering digunakan dalam pewarnaan jaringan, seperti pewarnaan jaringan hepar, adalah *hematoksilin eosin*.² Eosin, di sisi lain, diklasifikasikan sebagai karsinogen kelas-3 IARC dan merupakan penyebab kanker.³ Selain itu, eosin memiliki karakteristik yang membuatnya mudah terbakar, limbah berbahaya, dan sulit terurai.⁴

Salah satu unsur dari bahan alam yang dapat digunakan sebagai pengganti eosin adalah kulit buah naga merah. Penggunaan bahan alam sebagai pengganti bahan kimia dapat menjadi salah satu solusi.⁵ Pemanfaatan 30-35% bagian dari kulit buah naga kurang optimal seringkali hanya dibuang sebagai limbah.⁶ Oleh karena itu, kulit buah naga merah harus digunakan untuk memaksimalkan kegunaan limbah tersebut.

Salah satu sumber pewarna alami ditemukan dalam pigmen antosianin yang ditemukan dalam kulit buah naga merah.⁷ Antosianin adalah jenis bahan kimia flavonoid yang memberikan warna merah, ungu, dan biru pada tanaman.⁸ Sebagai pewarna alami untuk preparat tanaman sirsak, ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) telah terbukti memiliki kualitas yang tinggi dalam penelitian sebelumnya.⁹ Menurut penelitian lain, sediaan bagian tanaman kenanga (*Cananga odorata*) dapat menyerap ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) ke dalam bagian jaringan seperti korteks, xylem, epidermis, dan floem.¹⁰ Karena antosianin stabil pada pH asam, maka penggunaan asam organik rendah, seperti asam sitrat, diperlukan untuk menurunkan pH. Dalam penelitian ini, pelarut asam sitrat digunakan untuk mengekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).¹¹

Perlu dilakukan uji validasi untuk memastikan bahwa prosedur pewarnaan preparat organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus* L) dengan ekstrak kulit buah naga mampu memberikan hasil yang akurat dan sesuai dengan tujuan.¹² Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dapat menggantikan eosin sebagai pewarna alternatif pada sediaan histologi hepar tikus putih (*Rattus*

norvegicus L) karena pada penelitian terdahulu pewarna ekstrak kulit buah naga telah digunakan sebagai pewarna preparat histologi pada tanaman, namun belum pernah dilakukan pada preparat histologi hewan.

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis Penelitian ini termasuk *in vivo* eksperimental laboratorium. pembuatan sampel preparat dari histologi hepar tikus putih yang diwarnai dengan 10%, 25%, atau 50% ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).⁹ Jumlah sel hepatosit yang telah terwarnai dengan *hematoxylin eosin* sebagai pewarnaan standart nantinya akan dibandingkan dengan sel hepatosit yang telah terwarnai dengan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) untuk menentukan nilai akurasi dan presisi. Ekstrak asam sitrat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) didapatkan dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 1 juni-1 juli 2023 di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) FK UNISMA.

Ekstraksi Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Maserasi digunakan untuk mengekstrak kulit dari simplisia buah naga merah. Simplisia sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 200 ml asam sitrat, direndam dalam beaker glass, ditutup dengan aluminium foil, dan di *shaker* selama 48 jam dengan kecepatan 60 kali putaran per menit. Setelah disaring, rendaman tersebut menjalani proses *freez draying* selama 3 jam pada suhu -70 derajat Celcius untuk menghasilkan ekstrak kental, yang kemudian dimasukkan ke dalam lemari pendingin.

Penyesuaian Ekstrak Herbal Sebagai Pewarna

Ekstrak asam sitrat kulit buah naga merah yang sudah dilakukan ekstraksi masih terlalu kental sehingga perlu dilakukan pengenceran kembali dengan asam sitrat hingga mendapatkan konsentrasi yang menjadi acuan yaitu 10%, 25% dan 50%. Kemudian diamati menggunakan mikroskop trinokuler dan deskripsikan hasil pewarnaan pada preparat dengan tiga konsentrasi tersebut.

Analisa Kualitatif Hasil Pewarnaan Preparat Hepar *Rattus Norvegicus* L

Pengamatan langsung yang dilakukan dengan mikroskop trinokuler diberi skor sesuai dengan Tabel 1 untuk menentukan evaluasinya. Tiga pengamat yang berbeda masing-masing

memberikan skor untuk setiap aspek, kemudian di rata-rata

Tabel 1. Kriteria Penilaian Pengamatan Deskriptif

Aspek	Indikator	skor
Kejelasan	Kejelasan jelas terlihat terhadap background preparat	2
	Kejelasan kurang terlihat terhadap background preparat	1
	Kejelasan tidak terlihat terhadap background	0
Warna	Pewarna mewarnai seluruh sitoplasma sel hepatosit	2
	Pewarna mewarnai sebagian sitoplasma sel hepatosit	1
	Pewarna tidak mewarnai sitoplasma sel hepatosit	0
Kontras	Inti sel dan sitoplasma dapat dibedakan	2
	Inti sel dan sitoplasma sulit dibedakan	1
	Inti sel dan sitoplasma tidak dapat dibedakan	0
Debris	Tidak ada debris	2
	Meskipun tidak menutupi seluruh sel, debris masih terlihat jelas.	1
	Seluruh sel tertutupi debris	0

Analisa Kuantitatif Hasil Pewarnaan Preparat Hepar *Rattus norvegicus* L

Untuk menghitung nilai akurasi dan presisi, pengamatan kuantitatif dilakukan dengan menggunakan aplikasi imageJ 1.53 dan Java versi 1.8_172 (64-bit) pada lima lapang pandang.

Penghitungan nilai akurasi menggunakan rumus:

Akurasi = $100 - \text{error rate (\%)}$

$$\% \text{error rate} = \left| \frac{\text{approx} - \text{exact}}{\text{exact}} \right| \times 100$$

Keterangan: Approx = Nilai perkiraan
Exact = Nilai sebenarnya

Ketika melakukan uji validitas akurasi, tiga set konsentrasi dibuat, kemudian menggunakan perhitungan untuk menentukan RSD (Relative Standard Deviation):

$$\text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}}$$

Keterangan: SD = standar deviasi ,
 $\bar{X}$ = Kadar rerata

Analisis Data

Menggunakan SPSS 25.00 for Windows, data dari pengamatan deskriptif kualitatif diuji untuk mengetahui normalitas data. Uji non-parametrik Mann-Whitney kemudian dilakukan pada data karena data tersebut tidak terdistribusi secara normal. Jika $p < 0,05$ temuan dianggap signifikan.

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Hasil Warna Ekstrak Asam sitrat *Hylocereus polyrhizus*

Hasil maserasi ekstrak asam sitrat *Hylocereus polyrhizus* berupa ekstrak kental berwarna merah disertai warna kekuningan



Gambar 1. A = Ekstrak Asam Sitrat *Hylocereus Polyrhizus*

Keterangan : Ekstrak Asam Sitrat *Hylocereus Polyrhizus*
Berwarna Merah Kekuningan

Hasil Pengamatan Deskriptif Kualitatif Pewarnaan Ekstrak asam sitrat *H. polyrhizus* Pada Preparat Histologi *R. norvegicus* L

Perhitungan skor pengamatan deskriptif menggunakan sistem penilaian tabel 1. Dengan menggunakan mikroskop trinokuler pada perbesaran 400x, sediaan histologi yang diwarnai dilihat dan diamati oleh tiga orang pengamat kemudian memberikan nilai pengamatan deskriptif. Hasil pewarnaan menggunakan *Hylocereus polyrhizus* dengan konsentrasi 10%, 25%, 50% dapat memberikan warna pada Preparat histologi hepar *Rattus norvegicus* L. Namun, pada sisi lain didapatkan perbedaan yakni pigmen warna dengan konsentrasi 10% cenderung lebih berwarna merah jika dibandingkan dengan pewarna dengan konsentrasi 25% dan 50 %. Setelah dilakukan evaluasi deskriptif, data pengamatan diplot pada grafik untuk menunjukkan rata-rata pewarnaan terbaik pada sediaan histologi hepar *Rattus norvegicus* L.

Pengamatan deskriptif tertinggi preparat histologi hepar *Rattus norvegicus* L terdapat pada konsentrasi 25% dengan nilai jumlah rata-rata total 7,6. Sedangkan hasil terendah terdapat

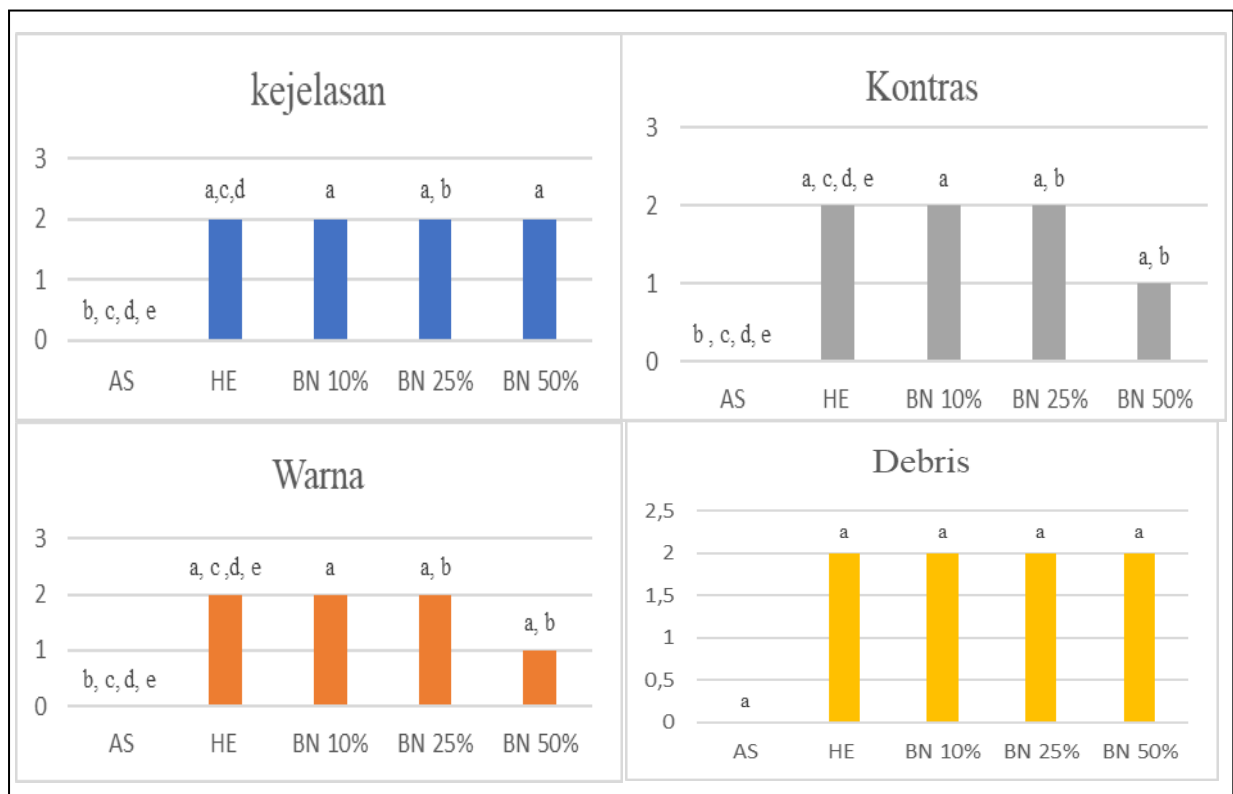
pada konsentrasi 50 % dengan nilai jumlah rata-rata total 6,2. *Hematoxylin eosin* sebagai kontrol (+) memiliki nilai jumlah rata-rata

tertinggi yaitu 40, Sedangkan asam sitrat sebagai Kontrol (-) memiliki nilai jumlah rata-rata terendah yaitu 0.

Tabel 2. Perhitungan Skoring Preparat Histologi Hepar *Rattus norvegicus* L

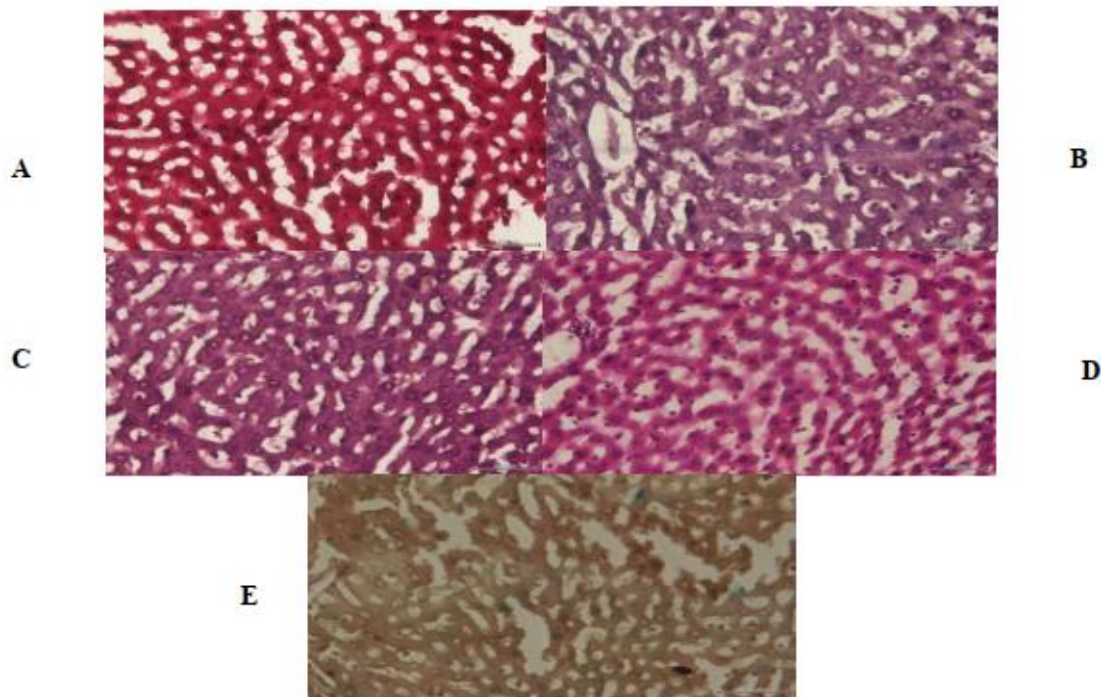
Pewarna	Kejelasan			Mean±SD	Warna			Mean±SD	Kontras			Mean±SD	Debris			Mean±SD
	P1	P2	P3		P1	P2	P3		P1	P2	P3		P1	P2	P3	
AS	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0	0	0	0	0±0
HE	2	2	2	2±0	2	2	2	2±0	2	2	2	2±0	2	2	2	2±0
10%	2	1	1	2±1	2	2	2	2±1	2	2	2	2±1	2	2	2	2±0
25%	2	2	2	2±1	2	2	2	2±1	2	2	1	2±1	2	2	2	2±0
50%	2	2	1	2±1	1	1	2	1±1	1	2	1	1±1	2	2	2	2±0

Keterangan: menggambarkan hasil rata-rata temuan data pengamatan deskriptif kualitatif pada preparat histologi *Rattus norvegicus* L yang dikerjakan oleh tiga orang pengamat. (P1,P2,P3) berdasarkan skoring **Tabel 1** dan dilakukan pengamatan dalam lima lapang pandang setiap preparat. AS adalah asam sitrat. HE adalah *Hematoxylin eosin*



Gambar 2. Hasil Pengamatan Deskriptif *Rattus norvegicus* L

Keterangan: Konsentrasi 25% ekstrak asam sitrat *Hylocereus polyrhizus* memiliki kualitas yang lebih baik untuk pewarnaan preparat hepar *Rattus norvegicus* L dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 50%, berdasarkan grafik nilai rata-rata berdasarkan standar pengamatan deskriptif. Notasi Perbedaan yang signifikan di antara huruf yang berbeda ($p < 0,05$) yang diuji menggunakan analisa statistik mann-Whitney dengan pengelompokan berdasarkan a=berbeda signifikan terhadap AS, b= berbeda signifikan terhadap HE, c=berbeda signifikan terhadap BN 10% d=berbeda signifikan terhadap BN 25%, e=berbeda signifikan terhadap 50%. AS adalah asam sitrat. HE adalah *Hematoxylin eosin*



Gambar 3. Pengamatan Deskriptif Preparat Histologi Hepar *Rattus norvegicus L*
Keterangan: menunjukkan hasil pewarnaan preparat histologi hepar *Rattus norvegicus L* menggunakan ekstrak asam sitrat *Hylocereus polyrhizus*. Konsentrasi **A** 10%, **B**. 25%, **C**.50%, **D**. pewarna *hematoxylin eosin* (Kontrol positif) dan **E**. asam sitrat (kontrol negatif)

Tabel 3. Hasil Perhitungan Nilai Presisi Jumlah Sel Hepatosit *Rattus norvegicus L*

Zat Warna	Jumlah sel hepatosit			
	n	Mean	SD	%RSD
HE	5	182,2	41,2	22,60%
AS	5	23,1	12,2	52,90%
BN 10%	5	178,2	31,9	17,90%
BN 25%	5	264,3	36,3	13,90%
BN 50%	5	234,6	44,9	19,10%

Tabel 4. Hasil Perhitungan Nilai Akurasi Jumlah Sel Hepatosit *Rattus norvegicus L*

Zat warna	n	Approx	Exact	SD	% Error rate	% Akurasi
HE	5	-	182,2	-	-	-
AS	5	23,1	182,2	12,2	88%	12%
BN 10%	5	178,2	182,2	31,9	2%	98%
BN 25%	5	264,3	182,2	36,3	44%	56%
BN 50%	5	234,6	182,2	44,9	28%	72%

Hasil Perhitungan Akurasi Dan Presisi Pada Jumlah Sel Hepatosit Preparat Histologi Hepar *Rattus Norvegicus L*

Hasil akurasi dan presisi ekstrak asam sitrat kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) pada preparat histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus L*) diukur menggunakan Image-J. Hasil foto yang didapatkan dari mikroskop trinokuler kemudian di hitung jumlah sel hepatosit menggunakan aplikasi Image-J. Hasil

yang sudah didapatkan dari Image-J dihitung menggunakan rumus akurasi dan presisi.

Jika nilai akurasinya antara 98-102%, maka dianggap bagus. Jika dinyatakan sebagai RSD, presisi dianggap baik jika berada dalam kisaran <2%. Pada konsentrasi 25%, temuan sel hepatosit yang dihitung memiliki nilai akurasi yang cukup baik, tetapi pada konsentrasi lain, tidak demikian. (**Tabel 3 dan 4**).

PEMBAHASAN

Hasil Pewarnaan Preparat Organ Hepar *Rattus norvegicus* L Menggunakan Ekstrak Asam Sitrat Kulit Buah Naga Merah

Menurut penelitian Wahyuni, 2022, antosianin dan betasianin, dua pewarna alami tersebut terdapat dalam kulit buah naga.¹³ Struktur dasar antosianin terdiri dari 2-fenil benzopirilium atau flavylium dengan beberapa hidroksi dan metoksi.¹⁴ Antosianin akan berbentuk kation flavium dan berwarna merah pada lingkungan asam.¹⁵ Antosianin lebih stabil pada nilai pH rendah, itulah sebabnya asam sitrat dipilih dalam penelitian ini sebagai pelarut.¹⁶ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah naga merah memiliki potensi untuk digunakan sebagai pengganti eosin untuk pewarnaan sitologi.¹³ Selain itu, menurut penelitian lain, bahan kimia antosianin dalam ekstrak kulit buah naga dapat secara efektif mewarnai preparat buah sirsak (*Annona mricata*)⁹

Selain menunjukkan kontras pada setiap struktur sel yang dimulai dari sitoplasma berwarna merah muda dan inti sel berwarna ungu, *hematoxylin eosin*, yang digunakan sebagai nilai referensi, memberikan hasil yang baik untuk hasil pewarnaan. Tetapi pada beberapa sampel preparat ditemukan sel eritrosit yang terwarnai dengan warna yang sama dengan sel hepatosit. Hal ini akan mempengaruhi hasil penghitungan pada aplikasi Image-J.

Ekstrak asam sitrat dari kulit buah naga merah dengan konsentrasi 10%, 25%, dan 50% adalah tiga konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini. Ketiga konsentrasi tersebut dipilih berdasarkan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa sediaan ini secara efektif mewarnai preparat.¹⁷ Selain itu, pengukuran sampel dilakukan setidaknya dalam tiga konsentrasi yang berbeda (tinggi, sedang, dan rendah) untuk menentukan prosedur analisis yang akurat dan presisi.¹⁸

Menurut hasil pengamatan deskriptif, konsentrasi 25% ekstrak asam sitrat dari kulit buah naga merah memberikan nilai terbaik. Perbedaan nilai hasil pengamatan dipengaruhi oleh Tingkat kepekatan suatu ekstrak, semakin tinggi nilai konsentrasi maka pewarna yang mewarnai preparat semakin pekat sehingga pengamat kesulitan melihat bagian-bagian struktur dari sel.¹⁹

Perhitungan nilai akurasi dan presisi pada preparat histologi organ hepar *Rattus norvegicus* L

Menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran 400x, nilai akurasi dan presisi dihitung berdasarkan jumlah sel hepatosit yang diwarnai dengan jelas. Perhitungan kemudian diproses dengan menggunakan program perangkat lunak imageJ. Karyawan National Institutes of Health (NIH), Wayne Rasband menciptakan program pemrosesan gambar yang disebut Image-J Java, bahasa pemrograman yang digunakan untuk membuat Image-J, dapat digunakan dalam mode 32-bit dan 64-bit dan kompatibel dengan sistem operasi Linux, Macintosh, dan Windows.²⁰ Perangkat lunak yang disebut ImageJ memiliki banyak kemampuan yang dapat diterapkan pada penilaian kuantitatif sediaan histologi yang diwarnai dengan HE. Menghitung sel dan mengukur panjang atau luas jaringan dapat dilakukan dengan perangkat lunak Image J.²¹

Penelitian ini mengidentifikasi sejumlah bias yang memengaruhi tingkat akurasi dan presisi. pada konsentrasi 50% dan 25% persen tidak memenuhi standar diantaranya sel hepatosit dan sel eritrosit terwarnai sama sehingga ada kemungkinan sel eritrosit akan terhitung secara otomatis oleh image J. menetapkan nilai *threshold* yang berbeda untuk setiap konsentrasi menyebabkan adanya kemungkinan mempengaruhi perhitungan dari imageJ. *threshold* digunakan untuk mengubah tingkat kecerahan agar dapat membedakan bagian gambar yang penting dan bagian yang tidak perlu.²²

Larutan asam sitrat berfungsi sebagai kontrol negatif dan pewarna hematoksin dan eosin sebagai kontrol positif (nilai rujukan). Perhitungan nilai akurasi dan presisi pewarnaan dengan menggunakan konsentrasi 10%, 25%, dan 50% ekstrak kulit buah naga merah pada preparat histologi hati *Rattus norvegicus* L. Didapatkan hanya pada konsentrasi 25% yang memenuhi nilai standar penerimaan akurasi dan tidak memenuhi syarat nilai penerimaan presisi disemua konsentrasi. Kriteria penerimaan dari pengujian akurasi adalah didapatkannya nilai sebesar 98-102%.¹⁸ Sedangkan Presisi dinyatakan dalam nilai simpangan baku relatif (RSD) dengan syarat penerimaannya adalah $RSD < 2\%$.²³

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pewarnaan ekstrak asam sitrat kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki tingkat akurasi yang cukup baik pada konsentrasi 10%, tetapi memiliki nilai presisi yang tidak baik pada semua konsentrasi.
2. Dibandingkan dengan ekstrak asam sitrat dengan konsentrasi 10% dan 50%, kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan konsentrasi 25% memiliki kualitas pewarnaan yang paling baik.

SARAN

1. Melakukan uji skrining fitokimia terlebih dahulu untuk mengetahui kadar antosianin pada pewarna yang akan digunakan.
2. Menggunakan konsentrasi dengan deret ukur yang sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan tim peneliti yang telah membantu dalam penelitian ini. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. H. Yudi Purnomo, Apt, M.Kes yang telah berperan sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rizki, M., Tia, R.S.M., Bastian, D. 2015. Uji Histopatologi Organ Ren, Insang, Ginjal, Intestinum dan Hepar Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Bandung
2. Ellyawati, E. (2018) 'Penentuan Waktu Yang Tepat Pada Proses Staining Dalam Pembuatan Preparat Histologis Hati', Jurnal TEMAPELA, 1(1), pp. 28–30. doi: 10.25077/temapela.1.1.28-30.2018.
3. Dwita Oktiarni, Devi Ratnawati, Desy Zahra Anggraini. 2012. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* sp.) Sebagai Pewarna dan Pengawet Alami Mie Basah. Jurnal Gradien Vol.8 No.2 Juli 2012 : 819-824.
4. Suraini and Sophia, A. (2022) 'Optimasi Air Perasan Ubi Jalar Ungu Ipomea Batatas L. Pada Pemeriksaan Telur Cacing', 7, Pp. 8–13.
5. Fabiana Meijon Fadul (2019) 'Efektivitas Hasil Pewarnaan Sediaan Feses dengan Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Sebagai Pengganti Eosin', pp. 115–121.
6. Bahan, J., Terbarukan, A., Handayani, P. A., & Rahmawati, A. (2012). Pemanfaatan Kulit Buah Naga (Dragon Fruit) Sebagai Pewarna Alami Makanan Pengganti Pewarna Sintetis. Prima Astuti Handayani Dan Asri Rahmawati, 1(2), 19
7. Sudarmi, S., Subagyo, P., Susanti, A., & Wahyuningsih, A. S. (2015). Ekstraksi Sederhana Antosianon dari Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai Pewarna Alami. *Eksergi*, 12(1), 5–7.
8. Meganingtyas, W. and Alauhdin, M. (2021) 'Ekstraksi Antosianin dari Kulit Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*) dan Pemanfaatannya sebagai Indikator Alami Titrasi Asam-Basa', *agriTECH*, 41(3), p. 278. doi: 10.22146/agritech.52197.
9. Anam, C., Mahmudati, N., & Hudha, A. M. (2016). Prosiding Seminar Nasional II Tahun (Vol. 26).
10. Safitri, I. R. (2019) 'Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Sebagai Pewarna Alami Preparat Section Jaringan Batang Tumbuhan Kenanga (*Cananga odorata* (Lamk.) Hook (Dimanfaatkan sebagai Sumber Belajar Biologi)', *Skripsi*, pp. 10–24.
11. Rita Permatasari, Endang Suriani², H. A. (2022) 'Potensi Buah Naga Merah (*Hylocereus costaricensis*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Papanicolaou Terhadap Sediaan Apusan Epitel Mulut Ayam', *JUKEJ: Jurnal Kesehatan Jompa*, 1(2830–5558), p. 9.
12. Riyanto. (2014). Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai Dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian Dan Kalibrasi. Ed.1, Cet. 1. Yogyakarta: Deepublish
13. Wahyuni, I. N., & Sabban, I. F. (2022). Efektivitas Hasil Pewarnaan Sediaan Feses Dengan Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Pengganti Eosin. *Jurnal Wiyata*:

- Penelitian Sains Dan Kesehatan, 9(2), 115.
14. Nurtiana, W. (2019). Anthocyanin As Nidaul sannah(2022) Literature Review: Efektivitas Pewarnaan Apusan Darah Tepi Dari Bahan Alami Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batatas L*) Dengan Pewarnaan Giemza
 15. Novianto, Toni Dwi. (2019). Pengukuran Nilai Porositas Menggunakan Software Image-J. Yogyakarta, LRMPHP
 16. Novianti et all (2018) ‘Korelasi Ekspresi Protein Cytoglobin Melalui Uji Dermis Pada Pertumbuhan Jaringan Ekor Cecak’, *International Journal of Biology and Biotechnology*, 2(2), pp. 35–42.
 17. Anamisa, D. R. (2015) ‘Rancang Bangun Metode OTSU Untuk Deteksi Hemoglobin’, 5(2), pp. 106–110. doi: 10.31598/sacies.v5i2.64
 18. International Conference on Harmonization (ICH). (2005). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. Geneva: International Conference on Harmonization
 19. Natural Colorant: A Review. *Food Sciencetech Journal*, 1(1), 1.
 20. Ifadah, R. A., Rizkia, P., Wiratara, W., & Anam Afgani, C. (N.D.). Ulasan Ilmiah: Antosianin Dan Manfaatnya Untuk Kesehatan. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 3(2), 11–21.
 21. Ali F., Ferawati, Risma A. (2013). Ekstraksi Zat Warna Dari Kelopak Bunga Rosella (Study Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat Dan Asam Sitrat). *Jurnal Teknik Kimia*. 19(1):26-33
 22. Wicaksana, A. and Rachman, T. (2018) ‘Kualitas Pembuatan Preparat Gosok Dengan Pewarna Alami Pigmen Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Sebagai Sumber Belajar Biologi’ 6(11), 951–952., 3(1), pp. 10–27..
 23. Ramadhan, S. A. And Musfiroh, I. (2021) ‘Review Artikel: Verifikasi Metode Analisis Obat’, *Farmaka*, 19(3), Pp. 87–92