

POTENSI EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI ALTERNATIF PENGGANTI EOSIN PADA PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN

Fitri Nadifah^{1*} · Yuliana Prasetyaningsih² · Nurlaili Farida Muhajir³ ·
Elisabet Della Puspita⁴

^{1,2,3,4} Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Guna Bangsa Yogyakarta, Indonesia
e-Mail: fitri@gunabangsa.ac.id
No Tlp WA : 0896 0536 7007

Abstract

*The final stage of making tissue preparations is the staining process. Staining is the process of giving color to the tissue that has been cut, in staining tissue preparations usually use Hematoxylin-Eosin (HE) solution. Eosin Y is included in the category of class-3 carcinogenic chemical solutions, carcinogenic is defined as chemicals that can cause cancer. Therefore, synthetic dyes need to be replaced using natural dyes to reduce the problem. One fruit that has potential as an alternative to eosin is mangosteen. The skin of mangosteen fruit has several pigments, one of which is anthocyanin. The purpose of this study is to determine the potential of mangosteen peel extract (*Garcinia mangostana* L.) as an alternative to eosin in coloring mice liver tissue which will be compared with hematoxylin eosin reagent. The research method used is the direct method with a real experimental design (true experimental). The subjects in the study were mice liver tissue sections from the results of the stages of the tissue manufacturing process. Data analysis of the results was done descriptively and presented in the form of tables and narratives. The results of staining of mice liver tissue preparations using a solution of *Garcinia mangostana* L. skin extract with a concentration of 30%, 60% and 90% obtained the results of an assessment of the quality of staining of mice liver tissue that is not good. Liver tissue preparations stained with *Garcinia mangostana* L. peel extract solution at concentrations of 30%, 60% and 90% can color tissue preparations, but the resulting staining quality has a color gradation that is still lacking when compared to staining using eosin.*

Keywords: Extract, Mangosteen Peel, Slide, Tissue

Abstrak

Tahapan paling akhir dari pembuatan sediaan jaringan adalah proses pewarnaan. Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong, pada pewarnaan sediaan jaringan biasanya menggunakan larutan Hematoksin-Eosin (HE). Eosin Y termasuk dalam kategori larutan kimia karsinogenik kelas-3, karsinogenik didefinisikan sebagai bahan kimia yang dapat menyebabkan kanker. Oleh karena itu pewarna sintesis perlu diganti menggunakan pewarna alami untuk mengurangi masalah tersebut. Salah satu buah yang berpotensi sebagai alternatif pengganti eosin adalah buah manggis. Kulit dari buah manggis memiliki beberapa pigmen yang salah satunya yaitu antosianin. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai alternatif pengganti eosin dalam mewarnai jaringan hepar mencit yang akan dibandingkan dengan reagen hematoksin eosin. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode langsung dengan desain eksperimental nyata (*true eksperimental*). Subyek dalam penelitian adalah preparat jaringan hepar mencit dari hasil tahapan proses pembuatan jaringan. Analisis data hasil dilakukan secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan narasi. Hasil pewarnaan preparat jaringan hepar mencit menggunakan larutan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L dengan konsentrasi 30%, 60% dan 90% diperoleh hasil penilaian kualitas pewarnaan jaringan hepar mencit yang kurang baik. Preparat jaringan hepar mencit yang diwarnai dengan larutan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L. pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% dapat mewarnai preparat jaringan, namun kualitas pewarnaan yang dihasilkan memiliki gradasi warna yang masih kurang jika dibandingkan dengan pewarnaan menggunakan eosin.

Kata kunci : Ekstrak, Kulit Manggis, Preparat, Jaringan

PENDAHULUAN

Selain fiksasi dan pematangan jaringan, proses terpenting dalam pembuatan preparat histologi adalah pewarnaan. Pewarnaan yang umum digunakan untuk pemeriksaan histopatologi adalah Hematoksin-Eosin (HE). Meskipun umum digunakan, namun eosin yang digunakan dalam pewarnaan HE 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 (Pradeepthi et al., 2023; Sarode et al., 2022). Untuk itu, diperlukan usaha menemukan pewarna alternatif pengganti eosin.

Tanaman yang dapat dijadikan sebagai bahan pewarna alternatif adalah tanaman yang mengandung senyawa warna alami, seperti antosianin. Sejumlah penelitian telah melaporkan penggunaan ekstrak tanaman yang memiliki kandungan antosianin, seperti pada ekstrak kembang sepatu (Nadifah et al., 2024) dan daun jati (Jumardi et al., 2023).

Manggis (*Garcinia mangostana* L) adalah tanaman yang tersebar di berbagai wilayah di Indonesia. Di sisi lain, kulit buah manggis belum banyak yang memanfaatkan. Padahal kulit buah ini mengandung antosianin total 2909,57 µg/g (Li et al., 2023). Ekstrak kulit manggis dilaporkan dapat menggantikan eosin dalam pewarnaan Papanicolauo buccal smear (Mariana dkk., 2023). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai alternatif pewarna alami pengganti eosin pada pewarnaan HE.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK-KMK Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Farmakologi dan Terapi FK KMK Universitas Gadjah Mada dan Laboratorium Klinik STIKes Guna Bangsa Yogyakarta pada bulan Juni 2024.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode langsung dengan desain eksperimental nyata (*true eksperimental*). Subyek dalam penelitian adalah preparat jaringan hepar mencit dari hasil tahapan proses pembuatan jaringan. Obyek dalam penelitian ini yaitu ciri-ciri khusus hasil pewarnaan pada preparat jaringan hepar mencit dengan ekstrak kulit manggis.

a) Pembuatan Simplisia

Buah manggis diambil dari petani buah manggis langsung yang telah siap dipanen sebanyak 4 kg. Kulit buah manggis kemudian dicuci dan dikeringkan dengan oven dalam suhu 40°C selama 18 jam. Setelah proses pengeringan selesai kulit manggis dihaluskan menggunakan blender.

b) Ekstraksi

Metode yang digunakan dalam proses ekstraksi ini yaitu menggunakan metode maserasi. Dengan metode maserasi simplisia kulit manggis diekstrak sebanyak 500 gram. Simplisia kulit manggis kemudian ditambahkan dengan 2500 ml pelarut etanol teknis 96%, kemudian dilakukan pengadukan dan didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam setelahnya dilakukan proses penyaringan (diulang sebanyak 3 kali). Filtrat dari hasil penyaringan kemudian diuapkan dengan vacum rotary evaporator pada suhu 50°C dan kecepatan 80 rpm hingga tidak ada pelarut yang menetes dan diperoleh ekstrak kulit manggis yang kental (berupa pasta). Ekstrak kental kemudian ditimbang beratnya (Fauziyah et al., 2022).

c) Uji fitokimia

Proses uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Klinik STIKes Guna Bangsa Yogyakarta. Uji fitokimia diawali dengan memasukkan beberapa tetes ekstrak kulit buah manggis ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes natrium hidroksida (NaOH) 10% sehingga terjadi perubahan warna. Selanjutnya, ditambahkan dengan asam klorida (HCl) pekat sebanyak 2 tetes, apabila warna berubah menjadi merah maka menunjukkan adanya antosianin (Asni et al., 2020). Pada uji fitokimia yang telah dilakukan didapatkan hasil uji fitokimia pada ekstrak kulit manggis menunjukkan warna merah.

d) Pengenceran Ekstrak

Ekstrak kulit manggis diencerkan dengan ethanol 96% dengan konsentrasi ekstrak yaitu 30%, 60% dan 90% kemudian ditambahkan dengan larutan HCl 1% sebanyak 2-3 tetes.

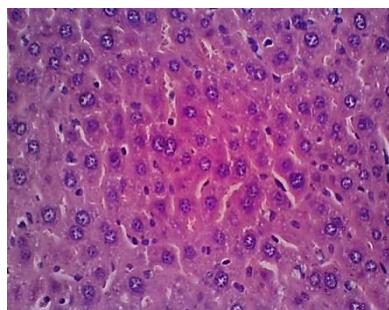
e) Pengecatan dengan larutan HE/ekstrak kulit manggis

Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan. Sediaan direndam di dalam xilene, selama 30 menit, kemudian direndam di dalam alkohol 96% selama 10 menit, alkohol 85% selama 5 menit dan alkohol 70% selama 1 menit.

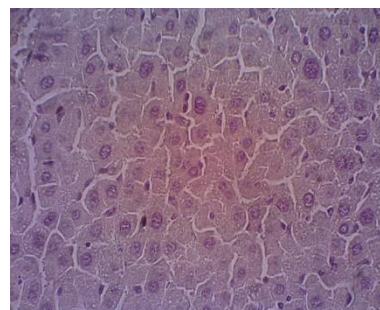
Selanjutnya sediaan direndam di dalam pewarna hematoxylin, 5 menit. Lalu dicuci menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan menggunakan tissue. Sediaan direndam di dalam pewarna eosin/ekstrak selama 30 detik. Lalu dicuci menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan menggunakan kain pengering atau tissue. Sediaan kemudian direndam lagi ke dalam alkohol 96% selama 2 menit saja dengan pengulangan sebanyak 2 kali. Kemudian direndam di dalam xilene selama 10 menit dengan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Sediaan yang telah dikeringkan dengan tissue disegel dengan menggunakan enteln dan siap diamati menggunakan mikroskop.

HASIL

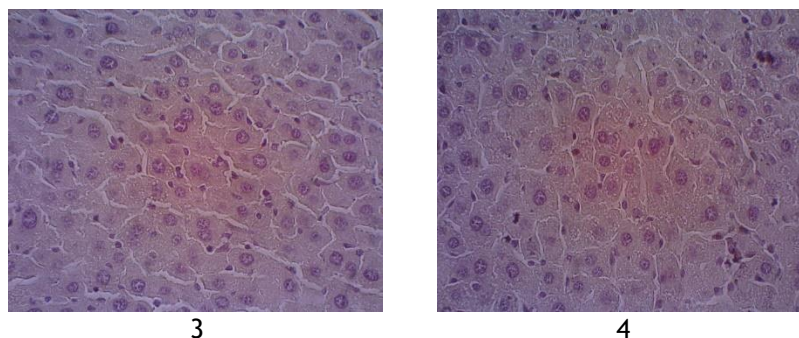
Proses pemanfaatan ekstrak kulit manggis menggunakan metode langsung sebagai pewarna alami pengganti pewarna eosin dilaksanakan di laboratorium klinik STIKes Guna Bangsa Yogyakarta. Hasil dari proses pewarnaan masing-masing preparat kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan 400x selanjutnya dilakukan penilaian oleh peneliti dan seorang laboran dengan menggunakan kontrol yaitu dengan *Hematoxylin Eosin* sebagai pembanding, sehingga diperoleh data hasil penelitian pada setiap perlakuan (konsentrasi ekstrak 30%, 60% dan 90%) seperti pada (Gambar 1). Penilaian preparat dilakukan berdasarkan interpretasi pada tabel kriteria penilaian kualitas pewarnaan yang selanjutnya akan dikategorikan sesuai dengan skor kualitas mikroskopis (Tabel 2).



1



2



Gambar 1. Struktur mikroskopis sel hepar mencit jantan: 1. Kontrol (pewarnaan HE); 2. Ekstrak 30%; 3. Ekstrak 60%; 4. Ekstrak 90%. Perbesaran total 400x.

Tabel 2. Hasil penilaian kualitas preparat jaringan hepar mencit yang diwarnai dengan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* L dan reagen Hematoxylin-Eosin sebagai kontrol.

Pewarnaan Preparat	Penilaian	Kualitas Pewarnaan
Kontrol (HE)	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat jelas.	Baik
Ekstrak Kulit Manggis 30% + HCl 1%	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat kurang jelas.	Kurang baik
Larutan Ekstrak Kulit Manggis 60% + HCl 1%	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat kurang jelas.	Kurang baik
Larutan Ekstrak Kulit Manggis 90% + HCl 1%	Warna ungu muda-pink pada sitoplasma terlihat kurang jelas.	Kurang baik

Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa hasil pengamatan mikroskopis jaringan hepar mencit dengan perlakuan pewarnaan menggunakan larutan ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 30%, 60% dan 90% didapatkan hasil penilaian kualitas pewarnaan preparat jaringan hepar mencit yang kurang baik, dimana didapatkan warna ungu muda-pink pada sitoplasma yang terlihat kurang jelas. Apabila dibandingkan dengan pewarna reagen Eosin yang digunakan sebagai kontrol menunjukkan gradasi warna yang masih kurang dari kualitas pewarnaan tersebut.

DISKUSI

Penelitian mengenai pemanfaatan antosianin dalam kulit buah manggis telah banyak dilakukan sebagai zat pewarna alternatif. Kualitas dan sumber pewarna alami yang terbatas mengakibatkan penggunaan pewarna sintetis berkembang semakin pesat. Penggunaan pewarna sintetis secara berkesinambungan dapat menimbulkan efek negatif bagi tubuh. Melihat bahaya dari efek negatif pewarna

sintetis, maka diperlukan adanya pewarna alami yang lebih ramah lingkungan dan tidak berbahaya bagi kesehatan sebagai pewarna alternatif untuk mengganti pewarna sintetis. Limbah kulit buah manggis dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami karena memiliki kandungan antosianin yang cukup tinggi yaitu sebesar 593 ppm (Yani, dkk., 2020).

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi untuk memperoleh zat warna pada kulit buah manggis. Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan suatu kandungan kimia yang dapat larut sehingga akan terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi adalah ekstrak (Saputra, dkk., 2020). Metode ekstraksi yang dilakukan untuk membuat ekstrak kulit *Garcinia mangostana L.* dalam penelitian ini yaitu dengan teknik maserasi karena lebih sederhana serta tidak memerlukan peralatan mahal, sehingga kandungan kimia dalam simplisia yang diekstraksi menjadi aman. Bahan pelarut yang digunakan pada proses perendaman yaitu ethanol 96%.

Dalam penelitian ini ethanol yang digunakan adalah ethanol 96% dikarenakan memiliki sifat yang polar, tidak toksik, absorbansinya baik dan kemampuan dalam penyaringannya yang tinggi sehingga dapat menyaring senyawa yang bersifat non polar, semi polar dan polar seperti pigmen antosianin dalam kulit manggis. Menurut Wendersteyt dkk (2021) pelarut ethanol 96% akan lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel jika dibandingkan dengan ethanol yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat.

Proses penelitian ini diawali dengan prosedur preparasi sampel, pembuatan ekstrak kulit *Garcinia mangostana L.* dengan teknik maserasi dimana filtrat dari hasil penyaringan kemudian diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C, uji fitokimia, pembuatan pengenceran ekstrak dengan berbagai konsentrasi yaitu 30%, 60% dan 90% dengan penambahan larutan ethanol 96% dan HCl 1%, pewarnaan preparat jaringan sampai dengan pengamatan hasil pewarnaan preparat pada mikroskop. Prosedur dalam penelitian ini dapat dilihat pada lembar lampiran VII yang telah disajikan dalam bentuk gambar. Pada penelitian ini dilakukan proses uji fitokimia pada ekstrak *Garcinia mangostana L.* secara kualitatif, dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan antosianin dalam kulit buah manggis. Uji fitokimia pada ekstrak kulit manggis dilakukan penambahan HCl pekat dengan tujuan untuk menghidrolisis antosianin yang ada di dalam ekstrak. Hasil dari pengujian

fitokimia menunjukkan terjadinya perubahan warna menjadi merah setelah dilakukan penambahan larutan HCl pekat atau larutan asam, yang menandakan bahwa dalam ekstrak kulit buah manggis tersebut mengandung antosianin.

Berdasarkan observasi evaluasi hasil pewarnaan spesimen histologi jaringan hepar mencit menggunakan pewarnaan alternatif dari ekstrak *Garcinia mangostana* L. konsentrasi 30%, 60% dan 90% dengan penambahan HCl 1% mempunyai potensi untuk menggantikan eosin namun menghasilkan kualitas pewarnaan yang kurang baik jika dibandingkan dengan kontrol yaitu eosin. Hasil pengamatan preparat sediaan dengan ekstrak konsentrasi 30%, 60% dan 90% menunjukkan bahwa warna ungu muda-pink pada area sitoplasma terlihat kurang jelas. Apabila dibandingkan dengan pewarna reagen Eosin yang digunakan sebagai kontrol menunjukkan gradasi warna yang masih kurang dari kualitas pewarnaan tersebut karena pada sediaan kontrol terlihat sel terwarnai dengan baik.

Tujuan dari penambahan HCl 1% pada larutan ekstraksi yaitu agar menciptakan suasana asam, dikarenakan pigmen antosianin akan stabil dalam suasana yang asam karena HCl adalah pelarut asam yang mempunyai sifat polar. Pada penelitian ini penambahan HCl diharapkan dapat bereaksi dengan pigmen antosianin pada kulit manggis yang sudah di ekstrak dan akan memberikan warna yang hampir mendekati warna eosin yaitu warna merah orange pada pH asam.

Menurut Mutoharoh dkk (2020) 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 (antosianin) yang terkandung dalam ekstrak kulit buah manggis jika dibandingkan dengan pewarna eosin yang merupakan zat warna sintesis. 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.

Menurut Pedro, dkk (2016) penggabungan pelarut yang polar dengan asam organik yang sesuai menghasilkan pH sangat asam (pH 1-2), namun jika pelarut tersebut dicampurkan dengan asam lemah, warna dari antosianin memudar pada pH 3; warna akan berubah menjadi merah keunguan pada pH 4; ungu pada pH 5-6; dan pada pH 7 menjadi biru keunguan. Pada penelitian yang telah dilakukan ini warna

ekstrak setelah dilakukan pengenceran dan penambahan larutan asam menunjukkan warna merah dengan pH 4. Stabilitas antosianin juga dapat dipengaruhi oleh pencahayaan, ekstrak kulit manggis direkomendasikan untuk disimpan dalam botol kaca gelap. Namun, dalam penelitian ini penyimpanan ekstrak menggunakan botol kaca bening sehingga ekstrak terpapar langsung dengan sinar dan mengakibatkan rusaknya struktur antosianin.

Selain disimpan di dalam botol gelap, ekstrak kulit manggis juga perlu disimpan di dalam kulkas. Kulkas bisa membantu ekstrak menjadi stabil daripada ekstrak disimpan di ruang yang terbuka. Peningkatan suhu dapat menyebabkan disosiasi molekul dalam antosianin sehingga menghasilkan senyawa tidak berwarna. Suhu yang baik untuk menjaga stabilitas antosianin dalam ekstrak kulit manggis yaitu pada suhu 4°C.

Adapun kendala yang ditemukan dalam penelitian ini, yaitu ekstrak kulit *Garcinia mangostana L.* yang keras dan penyimpanan ekstrak yang kurang tepat. Kulit manggis sendiri memiliki kandungan senyawa resin kuning. Resin pada kulit manggis merupakan zat organik yang kental dan lengket yang dihasilkan oleh tanaman, termasuk oleh kulit manggis (Maliana dkk., 2013). Dalam kulit manggis resin mengandung senyawa bioaktif seperti tanin, xanthone, dan flavonoid. Zat resin ini dapat menjadi keras ketika terkena udara karena proses oksidasi atau penguapan komponen volatil (mudah menguap), yang menyebabkan ekstrak menjadi kering dan kaku. Tekstur dari resin ini yaitu lengket dan cenderung mengeras saat terpapar udara dalam jangka waktu yang lama. Tekstur dari resin yang lengket dalam ekstrak ini mengakibatkan warna ekstrak tidak dapat menyerap dengan sempurna pada jaringan sediaan yang diwarnai karena menempel pada kaca preparat.

Proses penyimpanan ekstrak pada botol dengan kaca bening membuat ekstrak kulit manggis terpapar langsung dengan sinar sehingga mengakibatkan struktur antosianin berubah. Menurut Kurniawati & Alauhdin (2020), penyimpanan ekstrak di dalam botol berkaca gelap menghasilkan rata-rata penurunan perubahan warna antosianin yang lebih kecil jika dibandingkan dengan rata-rata penurunan perubahan warna antosianin yang disimpan dalam botol berkaca terang. Antosianin yang ada di dalam ekstrak kulit manggis ini akan menyerap cahaya. Sinar tersebut merusak struktur antosianin yang ada di dalam kulit manggis sehingga menyebabkan perubahan warna.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa larutan ekstrak kulit *Garcinia mangostana L.* pada konsentrasi 30%, 60% dan 90% berpotensi sebagai pewarna alternatif pengganti eosin, namun kualitas pewarnaan yang dihasilkan memiliki gradasi warna yang masih kurang jika dibandingkan dengan pewarnaan menggunakan eosin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada STIKES Guna Bangsa Yogyakarta yang telah memberikan kesempatan kepada tim peneliti untuk melakukan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penyusunan naskah ini.

REFRENSI

- Asni, H., Manurung, R., & Bonella, D. 2020. Aplikasi Pelarut Eutektik K_2CO_3 -Gliserol pada Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). *Jurnal Teknik Kimia USU*. Vol. 9(2), 64-69. <https://doi.org/10.32734/Jtk.V9i2.3562>
- Fauziah, R., Widyasanti, A. & Rosalinda, S. 2022. Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Sisa Pelarut Dan Rendemen Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*). *Kimia Padjadjaran*, 1, 18-25. <https://jurnal.unpad.ac.id/jukimpad/article/view/47007/20234>
- Jumardi, M., Iswara, Putri, G.S.A. & Ariyadi, T. 2023. Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan menggunakan Hematoxylin-Eosin dan Ekstrak Daun Jati sebagai Pengganti Eosin. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*. Vol. 6, 18 Oktober 2023.
- Kurniawati, A., & Alauhdin, M. 2020. Ekstraksi dan Analisis Zat Warna Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garciana Mangostana L.*) Serta Aplikasinya Sebagai Indikator Asam-Basa. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 9(1), 56-62.
- Li, R., Baskaran, S.I. & Bing-Huei, C. 2023. Quantification of Xanthone and Anthocyanin in Mangosteen Peel by UPLC-MS/MS and Preparation of Nanoemulsions for Studying Their Inhibition Effects on Liver Cancer Cell. *International Journal of Molecular Science*. 24, 3934. <https://doi.org/10.3390/ijms24043934http>

- Maliana, Y., Khotimah, S., & Diba, F. 2013. Aktivitas Antibakteri Kulit *Garcinia Mangostana* Linn. Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* Dan *Enterobacter* Dari *Coptotermes Curvignathus* Holmgren. *Protobiont*, 2(1), 7-11. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v2i1.1347>
- Mariana, V., Amelia, R. & Nurfaejriah, S. 2023. Potential of Mangosteen Peel Extract (*Garcinia mangostana*) as Alternative Dye to Eosine in Papanicolaou Buccal Smear Method. *Proceedings The 3rd International Allied Health Students Conference (IAHSC)-Desember 2023*.
- Mutoharoh, L., Santoso, S. D., & Mandasari, A. A. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Bunga Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis* L.) Sebagai Alternatif Pewarna Alami Sediaan Sitologi Pengganti Eosin Pada Pengecatan Diff Quik. *Jurnal Sainhealth*, 4(2), 21. <https://doi.org/10.51804/Jsh.V4i2.770.21-26>
- Nadifah, F., Prasetyaningsih, Y., Muhajir, N.F., Murtiningrum, S., Ohoiwutun, C.S.D.P. & Puspita, E.D., 2024. Potential of Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*) Extract as a Substitute for Eosin in Hematoxylin-Eosin Histological Staining. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*. Vol. 11 (1).
- Pedro, A. C., Granato, D., & Rosso, N. D. 2016. Extraction Of Anthocyanins And Polyphenols From Black Rice (*Oryza Sativa* L.) By Modeling And Assessing Their Reversibility And Stability. *Food Chemistry*, 191, 12-20. <https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2015.02.045>
- Pradeepthi, K., Rajani, K., Rao, G., Sravya, T., Wahed, S. & Sailaja, J. 2023. Evaluation of biosafe alternative to eosin in hematoxylin and eosin staining procedure: A comparative study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, vol. 27 (2). doi: [10.4103/jomfp.jomfp_146_22](https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_146_22)
- Saputra, A., Arfi, F., & Yulian, M. 2020. Literature Review: Analisis Fitokimia Dan Manfaat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Amina*, 2(3), 114-119. DOI: [10.22373/amina.v2i3.1220](https://doi.org/10.22373/amina.v2i3.1220)
- Sarode, S., Pradeep, G., Prakash, N., Mahajan, A. & Mangle, N. 2022. Exploring a safer alternative to eosin in soft tissue staining. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. Vol. 26 (4). doi: https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_27_22
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi *Ascidian Herdmania Momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* Dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706. <https://doi.org/10.35799/Pha.10.2021.32758>
- Yani, G. F., Abbas, M., & Samiyarsih, S. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Pewarna Alami Jaringan Daun Dan Batang Krokot (*Portulaca Oleracea* L.). *Bioeksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 2(2), 288. <https://doi.org/10.20884/1.Bioe.2020.2.2.2139>