

EFEKTIVITAS BUAH BIT DAN KULIT MANGGIS SEBAGAI PEWARNA ALAMI JAMUR *Trichophyton rubrum*

The Effectiveness of Beet And Mangosteen Skin as Natural Dye for Trichophyton Rubrum Fungus

Yuliansyah Sundara Mulia^{1*}, Dewi Nurhayati¹, Sulaeman¹, Amadda Fadhila Azhiima²

^{1*} Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Bandung, Email:
mysundara11@gmail.com

² Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjajan Bandung,

ABSTRACT

Staining preparations is one way to diagnose diseases caused by fungi, one of which is dermatophytosis. Several studies have shown that natural dyes can also be used as preparations. Beet and mangosteen skin have potential as dyes for tissue preparations because they contain anthocyanins.. This study aims to determine whether the extracts of beet, and mangosteen skin can be used as a staining agent for Trichophyton rubrum. Color pigments from the two types of natural ingredients are used as a substitute for fungus dyes. The fungus used was Trichophyton rubrum.. This research was conducted experimentally with a completely randomized design (CRD) with twelve treatments and three replications. Each natural ingredient is made from concentrations of 50%, 75%, and 100%. Parameters of observation of experimental group results were based on visual field clarity, cleanliness of preparations, contrast, fungus shape and compared with the control group. Data were analyzed by normality test because the data was not normal followed by Kolmogorov Smirnov test, and Chi square test to determine differences between treatments. In conclusion, there is no difference between the variations in the coloring concentration of beets, the difference occurs in the concentration of mangosteen peel as a mushroom dye. The use of natural colors for preparations is recommended no later than two days after extraction.

Keywords : beet, mangosteen, *Trichophyton rubrum*

ABSTRAK

Pewarnaan preparat merupakan salah satu cara untuk mendiagnosis penyakit yang disebabkan oleh jamur, salah satunya adalah dermatofitosis. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pewarna alami juga dapat digunakan sebagai pewarna preparat. Buah bit dan kulit manggis berpotensi sebagai pewarna untuk sediaan tisu karena mengandung antosianin. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan bahan alami pada buah bit dan kulit manggis sebagai pewarna alami jamur *Trichophyton rubrum*. Pigmen warna dari kedua jenis bahan alam tersebut digunakan sebagai pengganti pewarna jamur. Jamur yang digunakan adalah *Trichophyton rubrum*. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan tipe Rancang Acak Lengkap (RAL) dengan dua belas perlakuan dan tiga kali ulangan. Setiap bahan alami terbuat dari konsentrasi 50%, 75%, dan 100%. Parameter pengamatan hasil kelompok eksperimen didasarkan pada kejernihan lapang pandang, kebersihan preparat, kontras, bentuk jamur dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Uji normalitas data menggunakan uji

Kolmogorov Smirnov. Uji *Chi square* dilakukan untuk menentukan perbedaan antar perlakuan. Simpulan tidak ada perbedaan antar variasi konsentrasi pewarnaan dari buah bit, perbedaan terjadi pada konsentrasi kulit manggis sebagai peawarna jamur. Saran penggunaan warna alami untuk preparat tidak lebih dari dua hari setelah ekstraksi.

Kata kunci : Bit, manggis, *Trichophyton rubrum*

PENDAHULUAN

Pewarnaan preparat merupakan salah satu cara diagnosis penyakit yang disebabkan oleh jamur salah satunya yaitu dermatofitosis. Diagnosis dermatofitosis ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan klinis, dan dapat ditunjang dengan pemeriksaan sediaan langsung kalium hidroksida (KOH) dan kultur jamur (Adiguna, M.S., 2001). Larutan KOH 10% tidak memberikan kontras warna, sehingga sering menyulitkan dalam mengidentifikasi jamur penyebab, oleh karena itu untuk memberikan kontras warna pada sediaan langsung perlu ditambahkan zat pewarna. Zat pewarna berfungsi untuk mewarnai dinding sel *Trichophyton rubrum*.¹

Beberapa penelitian yang sudah ada, menjelaskan bahwa pewarna alami juga dapat dijadikan sebagai pewarna preparat. Penelitian Sa'diyah (2015) menggunakan filtrat kunyit yang mengandung antosianin untuk pewarna preparat jaringan tumbuhan. Selain kunyit, ubi jalar ungu juga berpotensi sebagai pewarna preparat jaringan tumbuhan karena mengandung antosianin (Hambali, 2014). Tanaman lain yang memiliki antosianin adalah kulit manggis, sedangkan buah bit memiliki betasianin yang berwarna merah.^{2,3}

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Amri (2011), kulit manggis bisa dipakai sebagai pewarna alami makanan karena menghasilkan warna ungu oleh pigmen antosianin seperti cyanidin-3-sophoroside, dan cyanidin-3-glucoside. Zat warna hasil ekstraksi dengan pelarut etanol 96% memiliki rendemen paling besar yaitu 24% kemudian diikuti dengan aseton 13%, sedangkan pada n-heksana tidak diperoleh. Hasil penelitian

menunjukkan ekstrak kulit buah manggis dengan etanol 96% memiliki kemampuan dalam mewarnai jaringan daun dan batang krokot. Analisis kandungan betasianin pada Bit maksimal pada pelarut ethanol:HCl dengan nilai sebesar 2,4535 mg/100g. Warna ubi Bit yang menghasilkan warna terbaik pada konsentrasi etanol 95%.⁴

Metode untuk memperoleh senyawa antosianin yang pemah dilakukan sebelumnya antara lain dengan, ekstraksi air, ekstraksi pelarut organik, dan lain-lain. (Wang, Chau-jong., 2008).⁵

Tujuan penelitian untuk Menentukan Efektivitas buah bit dan kulit manggis sebagai pewarna alami jamur *Trichophyton rubrum*.

METODE

Jenis penelitian menggunakan eksperimen semu. dengan cara membandingkan hasil pewarnaan kelompok uji dengan kontrol. Penelitian ini menggunakan Rancang acak Lengkap (RAL) dengan sembilan perlakuan dan tiga pengulangan. Hipotesis tidak terdapat perbedaan konsentrasi terhadap kualitas pewarnaan preparat. Penilaian kualitas pewarnaan jamur dilakukan oleh 3 panelis yang sudah berpengalaman.

Pengumpulan data yang dilakukan pada penelitian yaitu berdasarkan data primer, yang didapatkan dari hasil pemeriksaan mikroskopis jamur *Trichophyton rubrum* hasil pewarnaan dari buah bit dan kulit manggis.

Pembuatan Ekstrak bahan alam (buah bit dan kulit manggis) : sebagai berikut di keringkan masing- masing bahan alam sampai diperoleh 100 g dan dihaluskan menggunakan blender.

Dilakukan maserasi dengan metanol 96% untuk memperoleh ekstrak bahan alam. Diukur jumlah ekstrak yang diperoleh dengan gelas ukur. Dilakukan pengenceran bahan ekstrak 100 % dengan penambahan metanol 96 % untuk mendapatkan konsentrasi bahan alam 50 % ; 75 %; dan 100%.

Tahap Pewarnaan Preparat Jamur dengan ekstrak bahan alam sebagai berikut disiapkan tiga set kaca objek, kemudian dipindahkan hasil biakan jamur *T. rubrum* dengan menggunakan ose bulat ke atas kaca objek. Ditambahkan satu tetes pewarna ke kaca objek, kemudian ratakan dan ditutup dengan kaca penutup. Diamati di bawah mikroskop mengenai keberadaan hifa dan mikrokonida jamur *T. rubrum*. Dicatat hasil pengamatan di bawah mikroskop

Data hasil pengamatan merupakan data dengan skala nominal sehingga analisis menggunakan statistik non parametrik uji *Chi Square*.

HASIL

Pewarnaan *T. rubrum* dengan buah Bit

Penelitian diawali pembuatan ekstrak buah bit dan kemudian digunakan sebagai bahan pewarna jamur. Pengamatan dilakukan oleh peneliti dan tiga orang panelis yang terlatih dalam Bidang Mikologi. Data

| Konsentrasi dan Pengulangan | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---|---|-----|---|---|------|---|---|---------|---|---|
| 50% | | | 75% | | | 100% | | | Kontrol | | |
| 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

hasil penelitian pada setiap perlakuan seperti pada Tabel 1

Tabel 1 Penilaian Pewarna buah Bit

Catatan : 1= kurang baik; 2 = baik

Selanjutkan dilakukan uji Chi square untuk mengetahui hubungan konsentrasi pewarnaan dengan morfologi jamur yang terwarnai. Data penelitian telah dilakukan uji dan didapat hasil seperti pada tabel 2

Tabel 2 Uji Chi square

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|------------------------------|--------------------|----|-----------------------|
| Pearson Chi-Square | 4.000 ^a | 3 | .261 |
| Likelihood Ratio | 4.839 | 3 | .184 |
| Linear-by-Linear Association | .071 | 1 | .790 |
| N of Valid Cases | 36 | | |

a. 4 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,75.

Setelah dilakukan uji Chi square didapatkan hasil nilai signifikan 0,261 hasil tersebut memenuhi syarat yaitu nilai sig $0,261 > 0,05$. Maka dapat disimpulkan dalam uji Chi square diperoleh hasil terdapat perbedaan antara konsentrasi terhadap hasil pewarnaan.

Pewarnaan *T. rubrum* dengan kulit manggis

Penelitian diawali pembuatan ekstrak kulit manggis dan kemudian digunakan sebagai bahan pewarna jamur. Pengamatan dilakukan oleh peneliti dan tiga orang panelis yang terlatih dalam bidang mikologi. Data hasil penelitian pada setiap perlakuan seperti pada Tabel 3 berikut.

| Konsentrasi dan Pengulangan | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---|---|-----|---|---|------|---|---|---------|---|---|
| 50% | | | 75% | | | 100% | | | Kontrol | | |
| 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

Tabel 3 Penilaian Pewarna Kulit Manggis

Catatan : 1= kurang baik; 2 = baik

Selanjutkan dilakukan uji Chi square untuk mengetahui hubungan konsentrasi pewarnaan dengan morfologi jamur yang terwarnai. Data penelitian telah dilakukan uji dan didapat hasil seperti pada tabel 4

Tabel 4 Uji Chi square

| Chi-Square Tests | | | |
|------------------------------|--------------------|----|-----------------------|
| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
| Pearson Chi-Square | 6.271 ^a | 3 | .099 |
| Likelihood Ratio | 8.020 | 3 | .046 |
| Linear-by-Linear Association | .045 | 1 | .832 |
| N of Valid Cases | 36 | | |

a. 4 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,75.

Setelah dilakukan uji Chi square didapatkan hasil nilai signifikan 0,099 hasil tersebut memenuhi syarat yaitu nilai sig 0,09 > 0,05. Maka dapat disimpulkan dalam uji Chi square diperoleh hasil terdapat perbedaan antara konsentrasi terhadap hasil pewarnaan.

PEMBAHASAN

Pewarnaan *T. rubrum* dengan buah Bit

Dari tiga kelompok data yaitu pewarnaan preparat jamur dengan variasi konsentrasi ekstrak buah bit. Hasil uji normalitas diperoleh nilai Sig dari output yang memiliki nilai $Sig < \alpha$, sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data tidak normal. Selanjutnya data yang diperoleh dari hasil uji normalitas dengan hasil distribusi tidak normal dilakukan uji Chi square untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan preparat jamur.

Berdasarkan pengujian yang dilakukan dengan uji Chi square didapatkan bahwa nilai probabilitas atau signifikan adalah Asymp.sig 0,004 < 0,05 dengan demikian H_0 diterima. Maka dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa dari tiga kelompok data tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan hasil pada pewarnaan

preparat dengan variasi konsentrasi 50%, 75% dan 100%.

Sama halnya seperti zat warna Lactophenol Cotton Blue (LPCB), pigmen betalain bersifat asam sehingga dapat mengikat kitin pada jamur. Kitin ini merupakan polisakarida bermuatan positif dan merupakan komponen utama dari dinding sel jamur (Sutradhar dkk, 2021). Pada suhu ruang, pigmen betalain stabil selama 5 hari dengan penambahan pelarut pada ekstraksi. Pelarut yang digunakan yaitu campuran etanol dan HCl yang cukup baik dalam penarikan pigmen betalain pada buah bit.⁶

Pada penelitian kali ini diketahui hasil pewarnaan preparat jamur konsentrasi 50% preparat cukup terwarnai dengan baik. Sedangkan pada konsentrasi 75% dan 100% preparat terwarnai dengan baik. Namun konsentrasi optimum untuk mewarnai preparat yaitu 100%.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sutradhar dkk, 2021 diketahui bahwa ekstraksi buah bit dapat mewarnai preparat jamur *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger*, dan *Microsporum gypseum* pada konsentrasi 50% menggunakan ekstraksi metode destilasi. Ekstraksi dilakukan dengan campuran pelarut gliserol dan asam sitrat.⁶

Pada penelitian kali ini didapatkan hasil pewarnaan preparat jamur berwarna merah pucat, hal tersebut disebabkan oleh pemanasan yang dilakukan saat ekstraksi. Panas merupakan faktor yang sangat penting terhadap kestabilan pigmen betalain. Selama proses pemanasan, kemungkinan terjadi pemutusan ikatan yang menyebabkan terjadi pengurangan warna merah menjadi merah pucat ataupun berubah menjadi kuning terang. Selain oleh panas, perubahan warna ini juga dapat disebabkan oleh basa. Pemutusan ikatan ini akan menghasilkan dua senyawa yaitu asam betalamat (kuning terang) dan siklo-DOPA (tidak berwarna).⁷

Selama proses pemanasan, terjadi pengurangan warna merah dari ekstrak buah bit. Hal ini menyebabkan warna preparat *Trichophyton rubrum* berubah menjadi kuning terang. Pemanasan hingga suhu 60°C selama 48 jam tidak menyebabkan terjadinya perubahan warna, namun pada pemanasan 100°C terjadi perubahan warna sehingga zat warna rusak.

Langkah pertama dari degradasi pigmen betalain oleh suhu adalah pengaruh hidrolisis oleh air pada senyawa betasianin. Langkah ini menghasilkan siklo-DOPA-5-O- β -glukosida dan asam betalamat. Senyawa ini dapat mengalami regenerasi pada suhu rendah, namun pada suhu yang tinggi regenerasi tidak dapat terjadi karena asam betalamat tidak tahan terhadap pemanasan.⁷

Saat diamati secara mikroskopis, pada preparat terdapat banyak sekali kotoran dari residu ekstraksi bit walaupun sudah dilakukan beberapa kali penyaringan sebelumnya. Menurut Sutradhar dkk, 2021, ekstrak buah bit disaring menggunakan kertas saring Whatmann No.1 dan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit untuk menghilangkan semua kotoran padat pada preparat.

Dalam implementasinya, ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*) dapat digunakan sebagai stok selama 7 hari, stok kurang bertahan lama dikarenakan pigmen organik lama kelamaan akan mengalami denaturasi dan perubahan-perubahan. Perubahan tersebut dapat disebabkan oleh terkena sinar matahari dan kontak dengan oksigen (oksidasi). Ekstrak buah bit juga kurang cocok digunakan sebagai pewarna permanen, namun dengan menggunakan ekstrak buah bit dapat membantu kontras lapang pandang dengan objek yang kita amati pada mikroskop walaupun pewarnaannya tidak merata.

Ekstrak buah bit dapat digunakan sebagai pewarna altenatif preparat *Trichophyton rubrum* karena lebih ekonomis dan juga tidak toksik

dibandingkan pewarna LPCB (*Lactophenol Cotton Blue*). Metode ekstraksi yang tepat dapat menghasilkan ekstrak buah bit yang baik.

Pewarnaan *T.rubrum* dengan ekstrak kulit manggis

Berdasarkan Tabel 4. dengan nilai Asymp.sig sebesar $0,014 < 0,05$, maka H_0 diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dari tiga kelompok data ekstrak buah bit terdapat perbedaan variasi konsentrasi

Faktor yang mempengaruhi kualitas preparat adalah selama proses pemanasan, hal ini menyebabkan warna preparat *Trichophyton rubrum* berubah menjadi kuning terang. Menurut (Winarti et al., 2008) semakin tinggi suhu pemanasan makan stabilitas warna semakin rendah sehingga warna merah akan berkurang. Ekstrak zat warna merah yang diperoleh bersifat tidak stabil terhadap pemanasan. Stabilitas warna karena suhu yang tinggi disebabkan karena terjadi dekomposisi antosianin dan perubahan struktur sehingga terjadi pemucatan. Selain oleh panas, perubahan warna ini juga dapat disebabkan oleh basa. Pemutusan ikatan ini akan menghasilkan dua senyawa yaitu asam betalamat (kuning terang) dan siklo-DOPA (tidak berwarna)^{7,8}.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh simpulan yaitu tidak ada perbedaan antar variasi konsentrasi pewarnaan dari buah bit, perbedaan hanya terjadi pada konsentrasi kulit manggis sebagai pewarna jamur *T. rubrum*.

DAFTAR RUJUKAN

1. Adiguna, M. S., Epidemiologi Dermatomikosis di Indonesia. Edisi ke 5. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Univeritas Indonesia. Jakarta, 2001..
2. Hambali, M., Mayasari, F., Oermansyah, F. Ekstraksi Antosianin dari Ubi Jalar

- Ungu dengan Variasi Konsentrasi dan Lama Waktu Ekstraksi. Jurnal Teknik Kimia, 2014: 20 (2):26-35
3. Sa'diyah, R. A.. Penggunaan Filtrat Kunyit (Curcuma domestica Val.) Sebagai Pewarna Alternatif Jaringan Tumbuhan Pada Tanaman Melinjo (Gnetum gnemon). E-Jurnal BioEdu.2015: 4 (1):765-769
 4. Andini, Fiska M, Pengujian Stabilisasi Zat Warna Kulit Manggis (Gracinia Mangostana L) dengan Spektrofotometer. 2011
 5. Wang, Chau-jong., *Hibiscus Anthocyanins for Inhibiting Cancers*, United States Patent, 2008 011305.
 - 6..Payel Sutradhar, Chandrika Bhattacharya. *Use of the Natural Pigments of Red Beet Root Pomace (Beta vulgaris L.) to Develop a Mycological Stain: An eco-friendly Alternative Substitute*. Journa of Scientific Research, 2021 : 65 (3): 73-77.
 - 7.. Yelfita Sari. Pengaruh Pemanasan Terhadap Kestabilan Pigmen. Betalain Dari Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*). Jurnal Pendidikan Kimia,2018 : 2 (1) : 37- 42.
 8. Winarti, Sri., Sarofa, Ulya., Anggrahini, Dhini. Ekstraksi dan Stabilitas Warna Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Sebagai Pewarna Alami.Jurnal Teknik Kimia UPN..2008 :3 (1) : 207-214