



Perbandingan Hasil Pemeriksaan STH (*Soil Transmitted Helminth*) Menggunakan Pewarna Alternatif Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*) sebagai Pengganti Eosin 2%

Arcelaus Agung¹, Rinda Aulia Utami²

^{1,2} Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Institut Teknologi Kesehatan Dan Sains Wiyata Husada Samarinda

Abstract. *Background:* Soil-transmitted helminth (STH) infections, including those caused by *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura*, are a significant public health concern that adversely affect child growth and nutritional status. Fecal diagnosis commonly employs the synthetic dye Eosin 2%, which is associated with toxicity and environmental concerns. Sappan wood (*Caesalpinia sappan*) contains bioactive compounds—including flavonoids, tannins, and the natural pigment brazilin—that confer potential as a safe, eco-friendly alternative staining agent. *Objective:* This study aimed to compare the staining quality of STH eggs, specifically background clarity, visual contrast, and morphological definition, between 2% eosin and sappan wood extract. *Method:* A quasi-experimental post-test-only design was employed, in which 24 STH-positive fecal preparations were divided into four groups ($n = 6$): Eosin 2%, and sappan wood extract at concentrations of 20%, 30%, and 40%. The extract was macerated with 96% ethanol, concentrated, and diluted to pH 8.3. Preparations were examined using the native method under a light microscope at $10\times$ and $40\times$ magnification. Staining quality was scored and statistically analyzed using the Kruskal-Wallis test. *Results:* Phytochemical analysis confirmed that sappan wood extract contains compounds supporting its function as a natural dye. The Kruskal-Wallis test revealed no statistically significant difference in staining quality between Eosin 2% and sappan wood extract ($*p* = 0.074$). Notably, the 30% and 40% concentrations produced a clean background and clear morphological contrast of STH eggs, comparable to the quality achieved with Eosin 2%. *Conclusion:* The staining quality of sappan wood extract is classified as good, with mean scores of 4.33, 4.17, and 4.50 for the 20%, 30%, and 40% concentrations, respectively. The 40% concentration yielded the most favorable results, demonstrating a cleanly stained background and optimal dye absorption for visualizing egg morphology. These findings suggest that sappan wood extract is a viable natural alternative to Eosin 2% for STH examination, offering a safer and more environmentally sustainable option for laboratory diagnostics.

Keywords: Sappan Wood (*Caesalpinia sappan*), STH, Eosin 2%, Dye.

Abstrak. Latar Belakang: Infeksi *Soil-Transmitted Helminth* (STH) seperti *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura* mengganggu pertumbuhan dan gizi. Diagnosis feses umumnya memakai pewarna sintetik Eosin 2% yang toksik dan tidak ramah lingkungan. Kayu secang (*Caesalpinia sappan*) memiliki senyawa flavonoid, tannin dan pigmen alami (brazilin), sehingga berpotensi sebagai pewarna alternatif yang aman. Tujuan: Menganalisis perbandingan kualitas pewarnaan latar belakang, kontras visual, dan kejelasan morfologi telur STH antara Eosin 2% dan ekstrak kayu secang. Metode: Penelitian *quasi-eksperimen (post-test only)* ini membagi 24 preparat feses positif STH

Received Oktober 09, 2026; Revised Oktober 10, 2026; Accepted Oktober 11, 2026

*Arcelaus Agung, yolandaipka7@gmail.com

menjadi 4 kelompok ($n=6$): Eosin 2%, serta ekstrak kayu secang 20%, 30%, dan 40%. Ekstrak dimaserasi dengan etanol 96%, dipekatkan, dan diencerkan pada pH 8,3. Preparat (metode natif) diamati di bawah mikroskop $10\times$ dan $40\times$. Kualitas pewarnaan dinilai menggunakan skor dan dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis. Hasil: Ekstrak kayu secang mengandung senyawa yang mendukung perannya sebagai pewarna alami. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p=0,074$) antara kualitas pewarnaan Eosin 2% dan ekstrak kayu secang. Konsentrasi 30% dan 40% memberikan latar belakang yang bersih dan kontras morfologi telur yang jelas, mendekati kualitas Eosin 2%. Kesimpulan: Kualitas pewarnaan ekstrak kayu secang tergolong baik (skor rata-rata: 20%=4,33; 30%=4,17; 40%=4,50). Konsentrasi 40% memberikan hasil terbaik dengan latar belakang terwarnai bersih dan penyerapan warna yang optimal pada morfologi telur.

Kata kunci: Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan*), STH, Eosin 2, Pewarna.

LATAR BELAKANG

Infeksi *soil-transmitted helminth* (STH) tetap menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang paling persisten di wilayah tropis dan subtropis. Diperkirakan lebih dari 1,5 miliar orang, atau sekitar 24% populasi dunia, terinfeksi cacing yang siklus hidupnya bergantung pada tanah yang tercemar tinja (Agrawal et al., 2024). Analisis *Global Burden of Disease* 2021 memperkirakan terdapat 642,72 juta kasus dan 1,38 juta *disability-adjusted life years* (DALYs) akibat STH pada tahun tersebut. Meskipun prevalensi terstandar usia menurun secara global, beban infeksi masih terkonsentrasi di sebagian besar wilayah Afrika dan Amerika Latin serta pada kelompok usia 5–19 tahun (Chen et al., 2024). Pada anak sekolah di negara berpendapatan rendah dan menengah, *Ascaris lumbricoides* merupakan spesies dengan prevalensi gabungan tertinggi, yaitu 24,07% (Agrawal et al., 2024). Penurunan angka global karenanya tidak dapat dibaca sebagai tanda bahwa persoalan telah selesai.

Dampak infeksi STH melampaui keluhan saluran cerna. Sebuah meta-analisis terhadap 40 artikel memperkirakan infeksi STH meningkatkan risiko stunting pada anak sekitar 44% (Sunarpo et al., 2023), dan tinjauan sistematis lain mengaitkan infeksi parasit usus dengan status gizi anak balita (Fauziah et al., 2022b). Di sisi lain, literatur juga menempatkan stunting sebagai faktor risiko infeksi STH (Fauziah et al., 2022a), sehingga hubungan keduanya tampak saling memengaruhi. Di Indonesia, survei pada anak sekolah dasar di Garut mendapatkan 9,8% anak positif STH, didominasi *Trichuris trichiura* (9,0%). Praktik buang air besar sembarangan meningkatkan peluang infeksi (aOR 2,54) meskipun intervensi pengobatan massal telah berjalan selama enam tahun (Astuti et al., 2024). Temuan ini menunjukkan transmisi yang bertahan, sehingga diagnosis

laboratorium yang andal dan berkelanjutan tetap diperlukan untuk menemukan kasus dan memantau program pengendalian.

Secara teoretis, pewarnaan mikroskopis sediaan feses bertumpu pada interaksi antara zat warna dan substrat biologis. Gugus kromofor dan auksokrom pada molekul pewarna mengalami ionisasi sesuai pH medium, sehingga afinitasnya terhadap telur maupun debris ditentukan oleh muatan kedua pihak. Dalam konteks metode natif, eosin 2%, pewarna sintetis golongan *xanthene*, memberi latar belakang merah yang mengontraskan telur berwarna kekuningan dengan sisa feses (Munawaroh & Shofi, 2023). Pemikiran di bidang ini kemudian bergeser dari ketergantungan pada pewarna sintetis menuju bahan alami yang lebih aman dan terjangkau, dan berbagai bahan nabati telah diuji sebagai pengganti eosin (Charisma et al., 2024; Rizki et al., 2023; Salnus et al., 2021). Pada pewarna alami berbasis fenolik, warna bukan sifat yang tetap. Brazilein dari kayu secang (*Caesalpinia sappan*) berwarna kuning pada pH 3, jingga pada pH 7, dan merah pada pH 9 akibat deprotonasi, tetapi bentuk terdeprotonasi lebih mudah terdegradasi, terutama oleh pemanasan (Ngamwonglumlert et al., 2020). Tinjauan terbaru menegaskan bahwa pigmen ini sangat peka terhadap perubahan pH sehingga stabilitasnya perlu ditingkatkan sebelum dimanfaatkan (Ngamwonglumlert & Devahastin, 2023). Kerangka ini menjelaskan mengapa pengendalian pH bukan sekadar detail teknis, melainkan penentu utama kualitas pewarnaan.

Meskipun menjadi pewarna rujukan pada metode natif, eosin 2% menyimpan persoalan. Eosin dilaporkan sulit terurai, limbahnya berbahaya dan mudah terbakar, serta disebut dalam literatur terdaftar pada kategori IARC kelas 3, yaitu kategori ketika karsinogenisitasnya pada manusia belum dapat diklasifikasikan (Munawaroh & Shofi, 2023). Pemeriksaan feses dilakukan setiap hari di banyak laboratorium, sehingga residu pewarna sintetis berpotensi menumpuk dan membebani lingkungan serta petugas. Harga eosin juga dinilai relatif mahal (Munawaroh & Shofi, 2023). Karena pemeriksaan mikroskopis tetap menjadi tulang punggung diagnosis STH di tengah transmisi yang persisten (Astuti et al., 2024), pencarian pewarna pengganti yang aman, murah, dan tetap menjaga mutu diagnostik menjadi kebutuhan yang mendesak.

Konteks Indonesia memberi peluang yang relevan. Kayu secang tersedia luas di Asia dan telah lama dipakai sebagai pewarna merah alami pada tekstil serta makanan dan minuman tradisional (Ngamwonglumlert et al., 2020). Senyawa utamanya, brazilin, tidak

berwarna dan berubah menjadi brazilein yang berwarna melalui oksidasi (Ngamwonglumlert et al., 2020). Bagi sektor teknologi laboratorium medis, termasuk laboratorium pendidikan di Kalimantan Timur tempat penelitian ini dilaksanakan, pemanfaatan bahan lokal berpotensi mengurangi ketergantungan pada reagen sintetis dan mendukung praktik laboratorium yang lebih berkelanjutan. Karakter khusus kayu secang, yaitu warna yang peka terhadap pH, sekaligus menuntut pendekatan ekstraksi dan penyesuaian pH yang terkontrol.

Bukti empiris mengenai secang sebagai pewarna telur STH belum seragam. Munawaroh dan Shofi (2023) menguji ekstrak etanol secang pada sediaan feses babi dengan beberapa rasio pengenceran. Mutu pewarnaan ekstrak berbeda bermakna dari eosin 2%, dan rasio 1:3 terbaik di antara perlakuan ekstrak. Para penulis menduga selisih pH antara eosin (pH 5) dan ekstrak (pH 6) ikut berperan, serta menyarankan penelitian lanjutan pada feses manusia. Rancangan yang lazim dipakai pada kajian pewarna nabati untuk STH adalah eksperimen post-test only dengan skoring ordinal kejernihan latar, penyerapan warna, dan kejelasan morfologi telur, lalu uji nonparametrik (Munawaroh & Shofi, 2023). Perbedaan hasil antartstudi tersebut menunjukkan bahwa variabel yang menentukan, terutama konsentrasi dan pH, belum dikendalikan secara sistematis.

Berdasarkan sintesis tersebut, terdapat kesenjangan penelitian yang jelas. Studi secang pada telur STH yang tersedia belum menyesuaikan pH ekstrak secara terkontrol, padahal pH menentukan bentuk dan warna brazilein. Perbandingan langsung beberapa konsentrasi ekstrak pada pH terkendali terhadap eosin 2% pada metode natif juga belum dilaporkan secara sistematis. Kebaruan penelitian ini terletak pada pengujian ekstrak kayu secang hasil maserasi etanol 96% pada konsentrasi 20%, 30%, dan 40% yang disesuaikan ke pH 8,3, dengan penilaian skoring terstruktur dan analisis Kruskal-Wallis terhadap telur *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan membandingkan kualitas pewarnaan, yang meliputi kejernihan latar belakang, penyerapan warna, dan kejelasan morfologi telur, pada sediaan natif feses positif STH antara eosin 2% dan ekstrak kayu secang konsentrasi 20%, 30%, dan 40%.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental semu (*quasi-experimental*) dengan pendekatan *post-test only* dan kelompok kontrol. Tujuannya membandingkan

kualitas pewarnaan telur *soil-transmitted helminth* (STH) antara eosin 2% dan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*). Ada empat kelompok perlakuan: eosin 2% sebagai kontrol (EO) dan ekstrak secang pada konsentrasi 20% (SC1), 30% (SC2), dan 40% (SC3). Desain dengan kontrol eosin 2% dan penilaian kualitas pewarnaan juga dipakai pada studi pewarna alami lain untuk telur STH (Charisma et al., 2024; Munawaroh & Shofi, 2023; Rizki et al., 2023; Salnus et al., 2021). Variabel bebas adalah jenis pewarna dan konsentrasi ekstrak. Variabel terikat adalah kualitas pewarnaan, yang meliputi kejernihan dan intensitas warna latar belakang, penyerapan warna oleh telur, dan kejelasan morfologi telur. Penelitian berlangsung pada April–Juni 2026. Ekstrak dibuat di laboratorium Institut Teknologi Kesehatan dan Sains Wiyata Husada Samarinda, dan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Biomedik institusi yang sama.

Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah 24 sediaan preparat feces positif STH yang dibagi ke dalam empat kelompok dengan enam ulangan per kelompok. Ukuran sampel ditentukan dengan rumus Federer, $(n-1)(t-1) \geq 15$, sehingga untuk empat perlakuan dibutuhkan minimal enam ulangan per kelompok. Bahan uji adalah kayu secang yang diolah menjadi ekstrak. Pengamatan difokuskan pada telur *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura*, dua dari tiga spesies utama STH pada manusia (Chen et al., 2024). Keduanya dipilih karena *A. lumbricoides* paling prevalen pada anak sekolah (Agrawal et al., 2024), dan *T. trichiura* mendominasi temuan survei di Indonesia (Astuti et al., 2024).

Metode Penelitian

Tahap pertama adalah pembuatan ekstrak. Kayu secang dibersihkan, dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama enam hari, dihaluskan dengan blender, dan disimpan dalam wadah tertutup. Serbuk simplisia dimaserasi dengan etanol 96% pada nisbah 1:9 (b/v) selama 2×24 jam. Maserasi dipilih karena menghasilkan kadar brazilin yang tinggi dan terbukti efisien dibandingkan refluks dan ekstraksi berbantu ultrasonik (Insuan et al., 2024). Maserat dipekatkan dengan *waterbath* dan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak diskriminasi fitokimia untuk alkaloid (pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff), flavonoid (serbuk Mg–HCl pekat–amil alkohol), tanin (FeCl₃ 1%), saponin (uji busa), serta steroid/triterpenoid (asam asetat anhidrat–H₂SO₄ pekat). Konsentrasi 20%, 30%, dan 40% dibuat dengan rumus pengenceran $N_1V_1 = N_2V_2$ dengan ekstrak kental dianggap 100%. Untuk setiap 25 mL larutan uji dipakai 5

mL, 7,5 mL, dan 10 mL ekstrak kental, ditambah etanol hingga volume akhir. Larutan kemudian ditambah KOH 10% hingga pH 8,3, yang diukur dengan pH meter terkalibrasi dapar pH 4 dan 7. Penyesuaian pH ini dilakukan karena warna brazilein berubah dari kuning pada pH 3 menjadi jingga pada pH 7 dan merah pada pH 9, sedangkan bentuk terdeprotonasi pada pH tinggi lebih rentan terdegradasi (Ngamwonglumlert et al., 2020; Ngamwonglumlert & Devahastin, 2023).

Pemeriksaan telur memakai metode natif (*direct slide*). Satu hingga dua tetes pewarna ditetaskan pada kaca objek, yaitu eosin 2% untuk kelompok kontrol atau ekstrak secang untuk kelompok perlakuan. Sekitar 2 mg feses diambil dengan lidi, dicampur hingga homogen, dan ditutup dengan kaca penutup tanpa gelembung udara. Sediaan diamati dengan mikroskop cahaya pada perbesaran objektif 10× dan 40× untuk menilai morfologi telur, kontras visual, dan kualitas pewarnaan latar belakang. Selain itu, penelitian ini membandingkan kualitas pewarnaan dan tidak menguji sensitivitas diagnostik.

Sumber Data

Data yang digunakan adalah data primer yang dikumpulkan langsung melalui eksperimen laboratorium. Data utamanya berupa hasil pengamatan mikroskopis yang dinilai dengan skor dan didokumentasikan peneliti. Parameter yang dinilai adalah kualitas latar belakang (kejernihan, intensitas warna, dan kebersihan lapang pandang) serta kontras visual dan kejelasan morfologi telur (dinding telur, isi telur, dan kontras terhadap sisa feses). Data pendukung berupa hasil skrining fitokimia dan pengukuran pH ekstrak sebelum dan sesudah penambahan KOH.

Alat Analisis Data

Kualitas pewarnaan dinilai dengan skala ordinal 1–5. Skor 1 berarti latar belakang tidak terwarnai dan warna tidak meresap ke telur. Skor 5 berarti latar belakang terwarnai, warna terserap pada telur, dan bagian telur terlihat jelas. Kriteria ini diadaptasi dari Munawaroh dan Shofi (2023). Analisis statistik menggunakan SPSS dengan tahapan sebagai berikut. Normalitas diuji dengan Shapiro-Wilk karena sampel per kelompok kecil, dan homogenitas varians diuji dengan Levene. Karena data berskala ordinal dan asumsi parametrik tidak terpenuhi, perbedaan antarkelompok diuji dengan Kruskal-Wallis pada taraf signifikansi 0,05. Uji nonparametrik ini lazim dipakai ketika asumsi ANOVA tidak terpenuhi (Clark et al., 2023) dan digunakan pula pada studi pewarna STH

sebelumnya (Munawaroh & Shofi, 2023). Uji lanjut Mann-Whitney membandingkan tiap konsentrasi ekstrak dengan kontrol eosin 2%. Karena setiap kelompok hanya berisi enam sediaan, interpretasi memakai nilai signifikansi eksak (*Exact Sig.*), bukan hanya nilai asimtotik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Penelitian ini membandingkan kualitas pewarnaan preparat telur *Soil-Transmitted Helminth* (STH) menggunakan Eosin 2% sebagai pewarna kontrol dengan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) pada konsentrasi 20%, 30%, dan 40%. Penelitian menggunakan 24 preparat feses positif STH yang dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dengan enam pengulangan pada setiap kelompok. Pengamatan dilakukan secara mikroskopis menggunakan metode natif pada perbesaran 10× dan 40×. Kualitas pewarnaan dinilai berdasarkan kejernihan latar belakang, penyerapan warna pada telur, kontras visual, dan kejelasan morfologi telur.

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Kayu Secang

Sebelum digunakan sebagai pewarna alternatif, ekstrak kayu secang terlebih dahulu dilakukan skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekundernya. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang mengandung flavonoid, tanin, dan triterpenoid, sedangkan alkaloid, saponin, dan steroid tidak terdeteksi. Hasil tersebut menjadi informasi awal mengenai keberadaan senyawa yang berpotensi memberikan karakter warna pada ekstrak yang digunakan sebagai pewarna preparat STH.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Kayu Secang

No	Golongan Senyawa	Hasil Pengamatan	Ket.
1	Alkaloid	Tidak terbentuk endapan	(-)
2	Flavonoid	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol	(+)
3	Tanin	Terbentuk warna hitam kehijauan	(+)
4	Saponin	Tidak terbentuk busa	(-)
5	Steroid	Tidak terbentuk warna hijau kebiruan	(-)
6	Triterpenoid	Terbentuk warna merah	(+)

Sumber: Data primer (2026).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang memiliki beberapa golongan senyawa yang terdeteksi melalui skrining fitokimia. Keberadaan flavonoid,

tanin, dan triterpenoid menjadi karakteristik kimia ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini. Dalam pembahasan penelitian, kandungan flavonoid dan tanin dikaitkan dengan kemampuan ekstrak menghasilkan warna serta mendukung visualisasi struktur telur cacing. Hasil ini juga sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilaporkan dalam skripsi bahwa ekstrak etanol kayu secang mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan senyawa fenolik.

Penyesuaian pH Ekstrak Kayu Secang

Ekstrak kayu secang sebelum digunakan untuk pewarnaan menunjukkan kondisi asam dengan pH awal antara 5,1 dan 5,2. Untuk memperoleh kondisi pewarnaan yang digunakan dalam penelitian, pH ekstrak dinaikkan menggunakan KOH 10% hingga mencapai pH 8,3 pada seluruh konsentrasi. Jumlah KOH yang dibutuhkan berbeda berdasarkan konsentrasi ekstrak. Ekstrak 20% membutuhkan 330 µl, ekstrak 30% membutuhkan 340 µl, sedangkan ekstrak 40% membutuhkan 670 µl.

Tabel 2. Hasil Pengukuran pH Ekstrak Kayu Secang Sebelum Dan Sesudah Penambahan KOH 10%

Konsentrasi Ekstrak	pH Awal	pH Setelah KOH 10%	Volume KOH 10%
Secang 20%	5,2	8,3	330 µl
Secang 30%	5,2	8,3	340 µl
Secang 40%	5,1	8,3	670 µl

Sumber: Data primer (2026).



Ekstrak 20% - sebelum KOH (pH 5,2)



Ekstrak 20% - sesudah KOH (pH 8,3)



Ekstrak 30% - sebelum KOH (pH 5,2)



Ekstrak 30% - sesudah KOH (pH 8,3)



Ekstrak 40% - sebelum KOH (pH 5,1)



Ekstrak 40% - sesudah KOH (pH 8,3)

Gambar 1. Pengukuran pH Ekstrak Kayu Secang Sebelum Dan Sesudah Penambahan KOH 10%

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa seluruh kelompok ekstrak mencapai pH akhir yang sama, yaitu 8,3. Namun, kebutuhan KOH meningkat pada ekstrak dengan konsentrasi lebih tinggi. Ekstrak 40% membutuhkan volume KOH hampir dua kali lipat dibandingkan ekstrak 20% dan 30%. Penyesuaian pH ini berkaitan dengan karakteristik pigmen kayu secang yang sensitif terhadap perubahan kondisi asam-basa. Dalam pembahasan penelitian, kondisi basa digunakan untuk meningkatkan intensitas warna sehingga menghasilkan kontras yang lebih baik pada preparat.

Skor Kualitas Pewarnaan Telur STH

Kualitas pewarnaan dinilai menggunakan skala skor 1–5 yang mempertimbangkan kejernihan latar belakang, penyerapan warna pada telur, dan kejelasan morfologi telur. Hasil menunjukkan bahwa kelompok Eosin 2% memperoleh skor 5 pada seluruh enam preparat. Kelompok ekstrak secang 20% memperoleh skor antara 4–5, kelompok 30% memperoleh skor 3–5, sedangkan kelompok 40% memperoleh skor 4–5.

Tabel 3. Rekapitulasi Skor Kualitas Pewarnaan Telur STH

Sampel	Eosin 2%(Kontrol)	Secang 20%	Secang 30%	Secang 40%
Slide 1	5	4	4	5
Slide 2	5	4	3	4
Slide 3	5	4	4	5
Slide 4	5	5	5	4
Slide 5	5	4	4	4
Slide 6	5	5	5	5
Rata-rata	5,00	4,33	4,17	4,50
Median	5,0	4,0	4,0	4,5

Sumber: Data primer (2026).

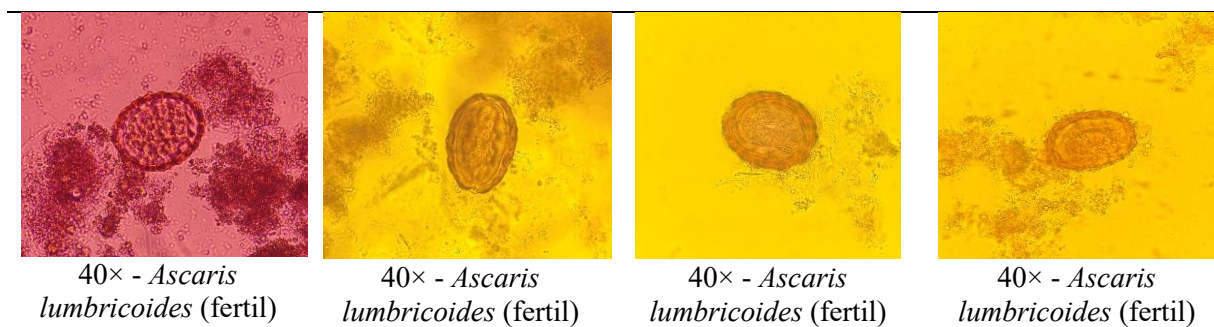
Berdasarkan Tabel 3, Eosin 2% menunjukkan skor paling konsisten dengan nilai 5 pada seluruh preparat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kelompok kontrol menghasilkan latar belakang yang terwarnai dengan baik serta morfologi telur yang terlihat jelas. Pada ekstrak secang 20%, skor berada pada rentang 4–5 dengan nilai rata-rata 4,33. Ekstrak secang 30% memiliki rata-rata terendah, yaitu 4,17, sedangkan ekstrak secang 40% menghasilkan rata-rata tertinggi di antara ketiga konsentrasi secang, yaitu 4,50.

Secara deskriptif, hasil tersebut menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi ekstrak kayu secang mampu menghasilkan kualitas pewarnaan yang relatif tinggi. Meskipun belum mencapai skor rata-rata Eosin 2%, seluruh kelompok secang memiliki skor di atas 4,00. Konsentrasi 40% menghasilkan nilai rata-rata paling tinggi, sehingga secara deskriptif menjadi konsentrasi yang memberikan hasil paling mendekati kontrol.

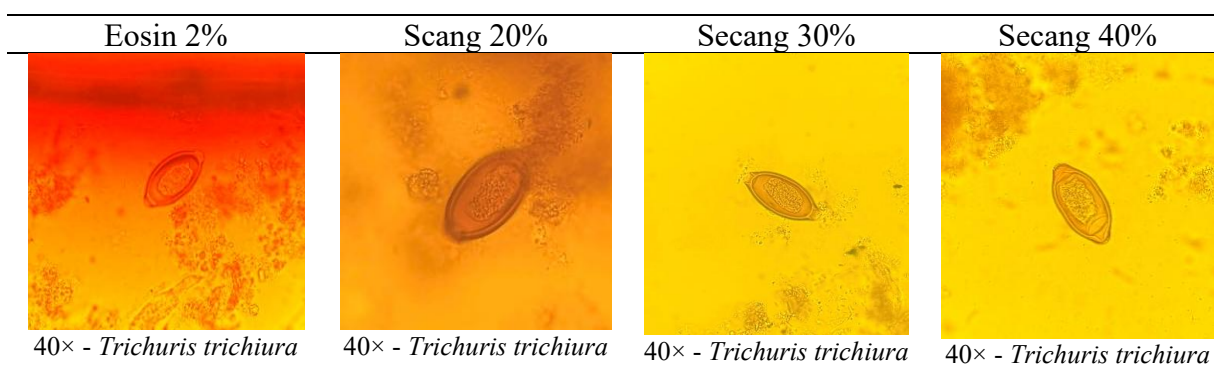
Hasil Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis dilakukan terhadap telur *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura*. Dokumentasi menunjukkan perbandingan visual antara preparat yang diberi Eosin 2% dan ekstrak kayu secang pada konsentrasi 20%, 30%, dan 40%. Pengamatan dilakukan pada perbesaran 40× dan dokumentasi setiap kelompok digunakan untuk menggambarkan perbedaan kualitas pewarnaan.

Eosin 2%	Secang 20%	Secang 30%	Secang 40%
----------	------------	------------	------------



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Telur *Ascaris lumbricoides*



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Telur *Trichuris trichiura*

Secara mikroskopis, ekstrak kayu secang pada ketiga konsentrasi tetap menghasilkan visualisasi morfologi telur STH yang dapat diamati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Eosin 2% menghasilkan kontras paling kuat, tetapi ekstrak secang juga memberikan latar belakang dan visualisasi morfologi yang memadai. Temuan ini mendukung skor kualitas pewarnaan yang relatif tinggi pada kelompok ekstrak secang.

Analisis Statistik

Analisis statistik diawali dengan uji normalitas Shapiro-Wilk. Hasil menunjukkan bahwa data kelompok secang 20% memiliki nilai signifikansi 0,001 dan kelompok secang 40% sebesar 0,004, sehingga keduanya tidak berdistribusi normal. Kelompok secang 30% memiliki nilai signifikansi 0,212 dan memenuhi asumsi normalitas. Kelompok Eosin 2% tidak dapat diuji normalitasnya karena seluruh nilai skor bersifat konstan, yaitu 5. Dengan demikian, keseluruhan data tidak memenuhi asumsi normalitas.

Tabel 4. Hasil Uji Normalitas Kelompok Pewarnaan

Kelompok Pewarnaan	df	Sig.	P-value>0.05
Eosin 2% (Kontrol)	6	-	-
Secang 20%	6	,001	<0.05
Secang 30%	6	,212	>0.05
Secang 40%	6	,004	<0.05

Sumber: Data primer (2026).

Uji homogenitas menggunakan Levene Test menghasilkan nilai signifikansi 0,002. Nilai tersebut lebih kecil daripada 0,05 sehingga varians antarkelompok dinyatakan tidak homogen.

Tabel 5. Hasil Uji Homogenitas

Homogenitas	Sig.	P-value>0.05
Skoring kelompok pewarnaan	,002	<0.05

Sumber: Data primer (2026).

Karena data tidak memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Hasil peringkat menunjukkan bahwa Eosin 2% memiliki *mean rank* tertinggi, yaitu 18,00, diikuti secang 40% sebesar 12,25, secang 20% sebesar 10,33, dan secang 30% sebesar 9,42.

Tabel 6. Peringkat Rata-Rata Kualitas Pewarnaan Setiap Kelompok

Kelompok Pewarnaan	N	Mean Rank
Eosin 2% (Kontrol)	6	18,00
Secang 20%	6	10,33
Secang 30%	6	9,42
Secang 40%	6	12,25
Total	24	

Sumber: Data primer (2026).

Tabel 7. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Parameter	Skor Kualitas Pewarnaan
Kruskal-Wallis H	6,937
df	3
Asymp. Sig.	0,074

Sumber: Data primer (2026).

Uji Kruskal-Wallis menghasilkan nilai H sebesar 6,937 dengan *df* 3 dan nilai signifikansi 0,074. Karena nilai $p > 0,05$, tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada kualitas pewarnaan antara Eosin 2%, ekstrak secang 20%, 30%, dan 40%. Walaupun *mean rank* Eosin 2% lebih tinggi dibandingkan seluruh kelompok secang, perbedaan tersebut belum mencapai tingkat signifikansi statistik pada taraf 5%.

Analisis Mann-Whitney kemudian digunakan untuk membandingkan kelompok Eosin 2% dengan masing-masing konsentrasi ekstrak secang. Pada perbandingan Eosin 2% dengan secang 20%, *mean rank* masing-masing adalah 8,50 dan 4,50. Nilai Asymp.

Sig. adalah 0,019, sedangkan *Exact Sig.* sebesar 0,065. Karena jumlah sampel setiap kelompok hanya enam, hasil *Exact Sig.* digunakan dalam interpretasi dan menunjukkan $p > 0,05$. Dengan demikian, tidak terdapat perbedaan bermakna antara Eosin 2% dan secang 20%.

Tabel 8. Perbandingan Eosin 2% Dan Secang 20% Dengan Uji Mann-Whitney

	Jenis Pewarna	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor Hasil Pemeriksaan	Eosin 2% (Kontrol)	6	8,50	51,00
	Secang 20%	6	4,50	27,00
	Total	12		

Sumber: Data primer (2026).

Pada perbandingan Eosin 2% dan secang 30%, kedua kelompok memiliki *mean rank* masing-masing 8,50 dan 4,50. Nilai Asymp. Sig. sebesar 0,021, sedangkan *Exact Sig.* sebesar 0,065. Nilai *Exact Sig.* yang lebih besar dari 0,05 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara Eosin 2% dan secang 30%.

Tabel 9. Perbandingan Eosin 2% Dan Secang 30% Dengan Uji Mann-Whitney

Skor Hasil Pemeriksaan	
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	27,000
Z	-2,345
Asymp. Sig. (2-tailed)	,019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,065 ^b

Sumber: Data primer (2026).

Pada perbandingan Eosin 2% dengan secang 40%, *mean rank* masing-masing sebesar 8,00 dan 5,00. Nilai Mann-Whitney U sebesar 9,000, Z sebesar -1,915, Asymp. Sig. sebesar 0,056, dan *Exact Sig.* sebesar 0,180. Nilai *Exact Sig.* tersebut lebih besar dari 0,05 sehingga tidak terdapat perbedaan bermakna antara Eosin 2% dan ekstrak secang 40%.

Tabel 10. Perbandingan Eosin 2% Dan Secang 40% Dengan Uji Mann-Whitney

	Jenis Pewarna	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor Hasil Pemeriksaan	Eosin 2% (Kontrol)	6	8,50	51,00
	Secang 30%	6	4,50	27,00
	Total	12		

Sumber: Data primer (2026).

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang memiliki karakteristik yang mendukung pemanfaatannya sebagai pewarna alternatif pada pemeriksaan telur STH. Skrining fitokimia menunjukkan keberadaan flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Dalam pembahasan penelitian, keberadaan flavonoid dan tanin dikaitkan dengan pembentukan warna dan kemampuan ekstrak memberikan visualisasi terhadap struktur telur. Temuan tersebut sejalan dengan penelitian yang dikutip dalam skripsi yang melaporkan adanya flavonoid, tanin, saponin, dan senyawa fenolik dalam ekstrak etanol kayu secang. Senyawa brazilin sebagai komponen pewarna kayu secang dapat mengalami oksidasi menjadi brazilein yang menghasilkan warna merah hingga merah jingga. Karakter warna tersebut memberikan kontribusi terhadap pewarnaan latar belakang preparat dan membantu meningkatkan kontras terhadap struktur telur.

Penyesuaian pH merupakan tahapan penting dalam menghasilkan karakter warna ekstrak secang yang digunakan pada penelitian. Ekstrak awal berada pada kondisi asam dengan pH 5,1–5,2, kemudian seluruh kelompok disesuaikan hingga pH 8,3 menggunakan KOH 10%. Kondisi tersebut digunakan untuk memperoleh intensitas warna yang lebih kuat. Hasil penelitian juga memperlihatkan bahwa kebutuhan KOH meningkat pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi. Ekstrak 40% membutuhkan 670 μ l KOH, sedangkan ekstrak 20% dan 30% masing-masing membutuhkan 330 μ l dan 340 μ l. Perbedaan kebutuhan tersebut menunjukkan adanya perbedaan karakteristik ekstrak pada masing-masing konsentrasi dalam proses penyesuaian pH.

Dari aspek kualitas pewarnaan, Eosin 2% tetap menghasilkan skor tertinggi dan paling konsisten, yaitu 5,00 pada seluruh preparat. Namun, ketiga konsentrasi ekstrak kayu secang juga menghasilkan skor yang relatif tinggi, yaitu 4,33 pada konsentrasi 20%, 4,17 pada konsentrasi 30%, dan 4,50 pada konsentrasi 40%. Dengan demikian, konsentrasi 40% merupakan konsentrasi ekstrak secang dengan kualitas pewarnaan terbaik secara deskriptif. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak dapat memengaruhi intensitas pewarnaan, meskipun peningkatan konsentrasi tidak menghasilkan pola peningkatan skor yang sepenuhnya linear karena konsentrasi 30% justru memiliki rata-rata lebih rendah dibandingkan 20% dan 40%.

Hasil pengamatan mikroskopis memperlihatkan bahwa telur *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura* tetap dapat divisualisasikan pada preparat yang diberi ekstrak

kayu secang. Eosin 2% menghasilkan kontras visual yang paling kuat, tetapi preparat dengan ekstrak secang juga memberikan latar belakang dan visualisasi morfologi yang memadai. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak secang pada konsentrasi yang diuji tidak menghilangkan karakteristik morfologis telur yang diperlukan untuk pemeriksaan mikroskopis. Temuan tersebut mendukung hasil penilaian skor yang menunjukkan bahwa seluruh kelompok secang memperoleh nilai rata-rata di atas 4,00.

Secara statistik, hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara empat kelompok pewarnaan. Uji Kruskal-Wallis menghasilkan $H=6,937$, $df=3$, dan $p=0,074$. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 sehingga perbedaan kualitas pewarnaan antarkelompok tidak signifikan secara statistik. Meskipun Eosin 2% memiliki *mean rank* tertinggi sebesar 18,00, kelompok secang masih menunjukkan rentang *mean rank* yang cukup berdekatan, yaitu 9,42–12,25. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbedaan kualitas pewarnaan secara deskriptif belum cukup kuat untuk dinyatakan sebagai perbedaan statistik yang bermakna.

Hasil uji Mann-Whitney juga mendukung temuan tersebut ketika nilai *Exact Sig.* digunakan sebagai dasar interpretasi. Perbandingan Eosin 2% dengan secang 20% menghasilkan *Exact Sig.* 0,065, perbandingan dengan secang 30% juga menghasilkan 0,065, sedangkan perbandingan dengan secang 40% menghasilkan 0,180. Ketiga nilai tersebut lebih besar dari 0,05. Dengan demikian, tidak terdapat perbedaan bermakna antara Eosin 2% dan masing-masing konsentrasi ekstrak secang.

Temuan tersebut memiliki arti penting dalam konteks pengembangan pewarna alternatif untuk pemeriksaan STH. Walaupun Eosin 2% menghasilkan kualitas visual paling tinggi, ekstrak kayu secang pada konsentrasi 20%, 30%, dan 40% tidak menunjukkan perbedaan statistik yang bermakna dibandingkan kontrol. Oleh karena itu, berdasarkan data penelitian ini, ekstrak kayu secang menunjukkan potensi sebagai alternatif pewarna dalam pemeriksaan telur STH metode natif. Hasil ini konsisten dengan penelitian terdahulu yang dikutip dalam skripsi mengenai pemanfaatan berbagai bahan nabati sebagai pewarna alternatif, termasuk daun miana, daun pacar kuku (*Lawsonia inermis*), daun andong, dan antosianin ubi ungu yang dilaporkan mampu memberikan kontras serta kejelasan morfologi telur STH.

Penelitian ini juga memperluas temuan penelitian dilakukan oleh (Fachsyar, 2021) yang menggunakan ekstrak kayu secang pada konsentrasi lebih tinggi, yaitu 50–90%.

Penelitian tersebut menunjukkan bahwa kayu secang mampu menghasilkan pewarnaan yang baik dengan morfologi telur cacing yang jelas. Penelitian saat ini memberikan informasi tambahan dengan menguji konsentrasi yang lebih rendah, yaitu 20%, 30%, dan 40%, serta membandingkannya secara langsung dengan Eosin 2%. Dengan demikian, penelitian ini memberikan gambaran mengenai kemampuan ekstrak secang pada konsentrasi rendah dalam mempertahankan kualitas visual pemeriksaan telur STH.

Dari ketiga konsentrasi yang diuji, konsentrasi 40% menunjukkan performa deskriptif paling baik dengan rata-rata skor 4,50 dan *mean rank* 12,25. Nilai tersebut masih berada di bawah Eosin 2%, tetapi secara statistik tidak berbeda bermakna berdasarkan uji Mann-Whitney dengan *Exact Sig.* 0,180. Oleh sebab itu, konsentrasi 40% dapat dipandang sebagai konsentrasi yang paling menjanjikan dalam rentang konsentrasi yang diuji, terutama karena memberikan kombinasi latar belakang yang relatif baik dan visualisasi morfologi telur yang jelas.

Meskipun demikian, interpretasi hasil perlu mempertimbangkan keterbatasan penelitian. Penilaian kualitas pewarnaan menggunakan sistem skoring semikuantitatif sehingga masih memungkinkan adanya subjektivitas pengamat. Selain itu, setiap kelompok hanya terdiri atas enam pengulangan. Ukuran sampel yang relatif kecil dapat memengaruhi kekuatan analisis statistik. Nilai $p=0,074$ pada uji Kruskal-Wallis juga menunjukkan bahwa hasil penelitian berada relatif dekat dengan batas signifikansi, sehingga penelitian dengan jumlah sampel yang lebih besar diperlukan untuk menguji kembali kecenderungan perbedaan kualitas pewarnaan tersebut. Penelitian lanjutan juga disarankan menggunakan metode yang lebih objektif, misalnya analisis citra digital, serta mengevaluasi stabilitas warna dan masa simpan ekstrak sebelum diterapkan secara rutin di laboratorium.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang mampu memberikan kualitas pewarnaan yang baik pada pemeriksaan mikroskopis telur STH. Eosin 2% tetap memberikan skor rata-rata tertinggi sebesar 5,00, tetapi ekstrak secang 20%, 30%, dan 40% masing-masing mencapai skor 4,33, 4,17, dan 4,50. Tidak ditemukannya perbedaan bermakna berdasarkan uji Kruskal-Wallis maupun analisis Mann-Whitney menggunakan *Exact Sig.* menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak kayu secang pada konsentrasi yang diuji menghasilkan kualitas pewarnaan yang secara statistik tidak berbeda dari Eosin 2%. Dengan demikian, konsentrasi 40% merupakan kelompok

ekstrak yang memberikan hasil paling baik secara deskriptif dan paling mendekati kualitas pewarna standar dalam penelitian ini.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai perbandingan pemeriksaan *Soil Transmitted Helminth* (STH) menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) sebagai alternatif Eosin 2%, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara penggunaan Eosin 2% dan ekstrak kayu secang konsentrasi 20%, 30%, dan 40% dalam pemeriksaan mikroskopis telur STH. Ekstrak kayu secang pada ketiga konsentrasi tersebut mampu memberikan hasil pewarnaan yang memadai untuk membantu visualisasi telur *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura*. Dari aspek kontras visual, ekstrak kayu secang mampu menghasilkan latar belakang dan pewarnaan yang memungkinkan morfologi telur STH tetap terlihat dengan jelas. Berdasarkan kualitas pewarnaan yang meliputi kejernihan latar belakang, penyerapan warna, kontras, dan kejelasan morfologi, konsentrasi 40% menunjukkan performa paling baik di antara konsentrasi ekstrak secang yang diuji dan paling mendekati kualitas Eosin 2%. Dengan demikian, ekstrak kayu secang, khususnya pada konsentrasi 40%, berpotensi digunakan sebagai pewarna alternatif Eosin 2% dalam pemeriksaan telur STH metode natif.

Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan jumlah sampel dan pengulangan yang lebih besar untuk meningkatkan kekuatan analisis serta melakukan standarisasi ekstrak berdasarkan kandungan pigmen aktif, pH, metode ekstraksi, lama pewarnaan, dan stabilitas penyimpanan. Penilaian kualitas pewarnaan juga sebaiknya dikembangkan menggunakan analisis citra digital atau metode objektif lainnya untuk mengurangi subjektivitas penilaian mikroskopis. Selain itu, konsentrasi 40% dapat diprioritaskan untuk penelitian lanjutan dengan membandingkan efektivitasnya pada lebih banyak spesies STH dan kondisi preparasi yang berbeda sebelum direkomendasikan sebagai reagen alternatif Eosin 2% dalam pemeriksaan laboratorium rutin.

DAFTAR PUSTAKA

Agrawal, A., et al. (2024). Prevalence and correlates of soil-transmitted helminths in schoolchildren aged 5 to 18 years in low- and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Public Health*, 12, Article 1283054. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1283054>

- Astuti, E. P., Hendri, J., Yuliasih, Y., Sulaeman, R. P., Isnani, T., Saputra, S., Nugroho, H. A., Dhewantara, P. W., & Murni, I. K. (2024). Prevalence and risk factors of soil-transmitted helminth infections among school-aged children in Garut, Indonesia: Insights from a six-year deworming intervention. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.
- Charisma, A. M., & Prasetyo, R. (2024). Hasil pemeriksaan telur Soil Transmitted Helminth menggunakan campuran pewarna alami dari daun miana dan kulit buah naga. *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*, 12(1). https://doi.org/10.36341/klinikal_sains.v12i1.4098
- Chen, J., Gong, Y., Chen, Q., Li, S., & Zhou, Y. (2024). Global burden of soil-transmitted helminth infections, 1990–2021. *Infectious Diseases of Poverty*, 13, Article 77. <https://doi.org/10.1186/s40249-024-01238-9>
- Clark, J. S. C., Kulig, P., Podsiadło, K., Rydzewska, K., Arabski, K., Białecka, M., Safranow, K., & Ciechanowicz, A. (2023). Empirical investigations into Kruskal-Wallis power studies utilizing Bernstein fits, simulations and medical study datasets. *Scientific Reports*, 13, Article 2352. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29308-2>
- Fachsyar, A. F. (2021). Potensi Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Sebagai Pengganti Safranin Pada Pewarnaan Gram Dan Eosin Pada Pemeriksaan Telur Cacing. *Rogram Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes*, 167–186.
- Fauziah, N., Ar-Rizqi, M. A., Hana, S., Patahuddin, N. M., & Diptyanusa, A. (2022). Stunting as a risk factor of soil-transmitted helminthiasis in children: A literature review. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2022, Article 8929025. <https://doi.org/10.1155/2022/8929025>
- Fauziah, N., Aviani, J. K., Agrianfanny, Y. N., & Fatimah, S. N. (2022). Intestinal parasitic infection and nutritional status in children under five years old: A systematic review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 7(11), Article 371. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7110371>
- Insuan, W., Sillawatthumrong, N., Chahomchuen, T., Khamchun, S., Chueahongthong, F., & Insuan, O. (2024). Brazilin content and potential biological properties of *Caesalpinia sappan* L. heartwood extracts from different extraction methods.

Discover Applied Sciences, 6, Article 509. <https://doi.org/10.1007/s42452-024-06222-4>

- Munawaroh, S., & Shofi, M. (2023). Modifikasi pewarna alami ekstrak etanol Sappan lignum pada pewarnaan Soil Transmitted Helminth pengganti eosin 2%. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(2), 1553–1562. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i2.9245>
- Ngamwonglumlert, L., & Devahastin, S. (2023). Brazilein as an alternative pigment: Isolation, characterization, stability enhancement and food applications. *Food Chemistry*, 398, Article 133898. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133898>
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., Chiewchan, N., & Raghavan, G. S. V. (2020). Color and molecular structure alterations of brazilein extracted from *Caesalpinia sappan* L. under different pH and heating conditions. *Scientific Reports*, 10, Article 12386. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69189-3>
- Rizki, Z., Ardhya, Y., & Fajarna, F. (2023). Optimasi penggunaan air perasan bunga asoka merah (*Ixora coccinea*) sebagai pengganti eosin pada pemeriksaan telur cacing Soil Transmitted Helminth. *Jurnal SAGO: Gizi dan Kesehatan*, 4(2), 271–277. <https://doi.org/10.30867/gikes.v4i2.1235>
- Salnus, S., Arwie, D., & Armah, Z. (2021). Ekstrak antosianin dari ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) sebagai pewarna alami pada pemeriksaan Soil Transmitted Helminths (STH) metode natif (direct slide). *Jurnal Kesehatan Panrita Husada*, 6(2), 188–194. <https://doi.org/10.37362/jkph.v6i2.649>
- Sunarpo, J. H., Ishartadiati, K., Al Aska, A. A., Sahadewa, S., & Sanjaya, A. (2023). The impact of soil-transmitted helminths infection on growth impairment: Systematic review and meta-analysis. *Healthcare in Low-resource Settings*, 11(2). <https://doi.org/10.4081/hls.2023.11742>