



**PERASAN KULIT JERUK NIPIS SEBAGAI DEPARAFINISASI PADA  
PENGECATAN HE**



*Manuscript*

**Siti Aenun**

**G1C014008**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG  
2018**

**PERNYATAAN PERSETUJUAN**

*Manuscript* dengan judul

**PERASAN KULIT JERUK NIPIS SEBAGAI DEPARAFINISASI PADA  
PENGECATAN HE**

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, 2 Oktober 2018



Arya Iswara, M. Si. Med  
NIK. 28.6.1026.224

# PERASAN KULIT JERUK NIPIS SEBAGAI DEPARAFINISASI PADA PENGECATAN HE

Siti Aenun <sup>1\*</sup>, Sri Sinto Dewi <sup>2</sup>, Arya Iswara <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Departemen Sitohistoteknologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

---

## Info Artikel

---

### Keywords:

deparafinisasi, perasan kulit jeruk nipis, HE

---

## Abstrak

---

Deparafinisasi adalah suatu tahap sebelum proses pewarnaan (*Staining*) dengan menggunakan xylol untuk menjernihkan jaringan yang dapat mengganggu pewarnaan sediaan. Deparafinisasi biasanya menggunakan xylol untuk melarutkan parafin yang berupa lemak. Xylol memiliki efek toksik, mudah menguap dan terbakar. Penggunaan xylol pada proses deparafinisasi pengecatan HE diganti dengan perasan kulit jeruk nipis. Tujuan penelitian mengetahui konsentrasi dan intensitas pengecatan HE yang paling baik. Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif menggunakan 27 sampel dengan 9 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang 3 kali dengan perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 1%, 2%, 3% waktu 1', 2', 3' dan 3 sampel sebagai kontrol. Hasil pengecatan HE dengan proses deparafinisasi menggunakan xylol diperoleh hasil 3+, menggunakan perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 1% waktu 1', 2', 3' diperoleh hasil 1+, perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 2% waktu 1', 2', 3' diperoleh hasil 2+, sedangkan perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 3% waktu 1', 2', 3' diperoleh hasil 3+. Simpulan adalah perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 3% dengan waktu rendam 1', 2', 3' dapat digunakan sebagai alternatif pengganti xylol pada proses deparafinisasi.

## Pendahuluan

Deparafinisasi adalah suatu tahap sebelum proses pewarnaan (*Staining*) dengan menggunakan xylol untuk menjernihkan jaringan dari berbagai komponen biokimia yang dapat mengganggu pewarnaan sediaan. Larutan yang digunakan pada proses deparafinisasi harus dapat menyatu dengan larutan alkohol sehingga dapat mendesak keluar dan menggantikan suasana jaringan pada proses deparafinisasi. Deparafinisasi biasanya menggunakan xylol dan toluol untuk melarutkan parafin yang berupa lemak (Sumanto, 2014).

Xylol juga disebut sebagai "*Xylene*" atau *dimethylbenzene* merupakan hidrokarbon sintesis aromatik yang berperan penting dilaboratorium patologi sejak bertahun-tahun (Ananthaneni et al. 2014). Xylol memiliki

efek toksik diantaranya neurotoksisitas akut, merusak jantung dan ginjal, hepatotoksitas, diskrasia darah yang fatal, eritema kulit, kulit kering, kulit mengelupas, infeksi sekunder, dan juga memiliki efek karsinogenik (Pandey et al. 2014). Xylol umumnya digunakan sebagai proses clearing atau deparafinisasi dalam histopatologi dan imunohistokimia. Xylol memiliki karakteristik mudah menguap dan terbakar. Kelebihan dari xylol membuat jaringan cepat menjadi transparan dan bekerja cepat. Namun xylol memiliki kekurangan diantaranya harga relatif mahal, bersifat toksik, berbahaya bagi tubuh manusia dan menyebabkan pengerutan jaringan jika terlalu lama direndam (Kunhua et al. 2012).

Jeruk nipis termasuk salah satu genus citrus dari spesies *Citrus aurantiifolia* merupakan jenis tanaman perdu yang

---

### \*Corresponding Author:

Siti Aenun

Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273.

E-mail: [aenunabhan6@gmail.com](mailto:aenunabhan6@gmail.com)

memiliki dahan dan ranting. Tanaman jeruk umumnya menyukai tempat-tempat yang dapat memperoleh sinar matahari langsung. Jeruk nipis mengandung saponin, flavonoid dan minyak atsiri. Mengandung minyak atsiri dengan komponen siral, limonene, feladren, dan glikosida hedperidin. Buah jeruk juga mengandung zat bioflavonoid, pectin, enzim, protein, lemak dan pigmen (karoten dan klorofil). Sari buah jeruk nipis mengandung asam sitrat 7-7,6% dan minyak atsiri limonene (Khanifah, 2015). Salah satu langkah untuk menghilangkan sisa parafin dengan perasan kulit jeruk nipis sebagai pengganti xylol karena terkandung asam sitrat yang dapat melarutkan lemak serta relatif lebih murah dan aman (Saputri et al. 2015)

### Bahan dan Metode

Metode penelitian ini menggunakan jenis eksperimental. Bahan menggunakan jaringan payudara dengan 27 sampel dari jaringan payudara dengan 9 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang 3 kali dengan perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 1%, 2%, 3% waktu 1', 2', 3' dan 3 sampel sebagai kontrol.

### Analisis Data

Analisis data merupakan bagian yang sangat penting dalam penelitian, karena dengan adanya analisis data dapat diuji kebenarannya untuk selanjutnya dapat diambil suatu kesimpulan. Data yang diperoleh ditabulasikan dan dianalisis secara deskriptif.

### Prosedur Penelitian

Jaringan yang telah dipotong dari blok parafin dengan ketebalan 3-4 mikron, sebelumnya preparat ditetesi dengan albumin, kemudian dilakukan deparafinisasi dengan xylol I, II, III sebagai kontrol selama 5 menit. (*Rehidrasi*) Preparat masuk ke alkohol 95%, 80%, 70% masing-masing 5 menit. Tahapan berikutnya, preparat dialiri air mengalir 3 menit, dilanjutkan dengan pengecatan Inti sel, preparat masuk ke dalam hematoksilinselama 5 menit setelah itu preparat dialiri dengan air mengalir selama ± 3 menit, dilanjutkan dengan merendam

kedalam alkohol asam 1% sebanyak 1-2 kali celupan, kemudian preparat dicuci dengan air mengalir, selanjutnya preparat dimasukkan ke larutan STWS (blueing) selama 5 menit, cuci dengan air mengalir. Kemudian masukkan kedalam larutan eosin 0,5% selama 2-3 menit, cuci dengan air mengalir. Bersihkan tepi-tepi preparat dengan kain kassa, kemudian keringkan diatas hot plate. Celupkan preparat kedalam larutan xylol, kemudian tetesi dengan canada balsam dan tutup dengan deck glass (Thermo Scientific, 2011)

Pranata, 2017, mengatakan proses deparafinisasi menggunakan perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 1% waktu 1', 2', 3' masing-masing 2 kali, konsentrasi 2% waktu 1', 2', 3' masing-masing 2 kali, dan konsentrasi 3% waktu 1', 2', 3' masing-masing 2 kali pada suhu 60°C, kemudian dilakukan rehidrasi dengan aquadest suhu 60°C selama 30 detik, dilanjutkan cuci dengan aquadest suhu ruang selama 1 menit. Sediaan direndam dengan aquadest selama 3 menit. Tahap berikutnya dengan pengecatan inti sel dengan hematoksilin selama 15 menit kemudian bilas air mengalir ± 3 menit dilanjutkan dengan memasukkan kedalam larutan eosin selama 5 menit, bilas air mengalir ± 3 menit kemudian *mounting*.

### Penilaian Pengecatan HE

Penilaian pengecatan HE dengan menggunakan kriteria pada tabel 1.

Tabel 1. Kriteria Penilaian Pengecatan HE

Skor	Penilaian
(1+) Skala tidak baik	warna biru pada inti sel tidak ada, warna merah ( <i>eosin</i> ) pada sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas serta warna pada preparat tidak seragam.
(2+) Skala kurang baik	warna biru pada inti sel kurang jelas, warna merah ( <i>eosin</i> ) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang, serta keseragaman warna pada preparat kurang.
(3+) Skala baik	warna biru terang jelas pada inti sel, warna merah ( <i>eosin</i> ) pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam.

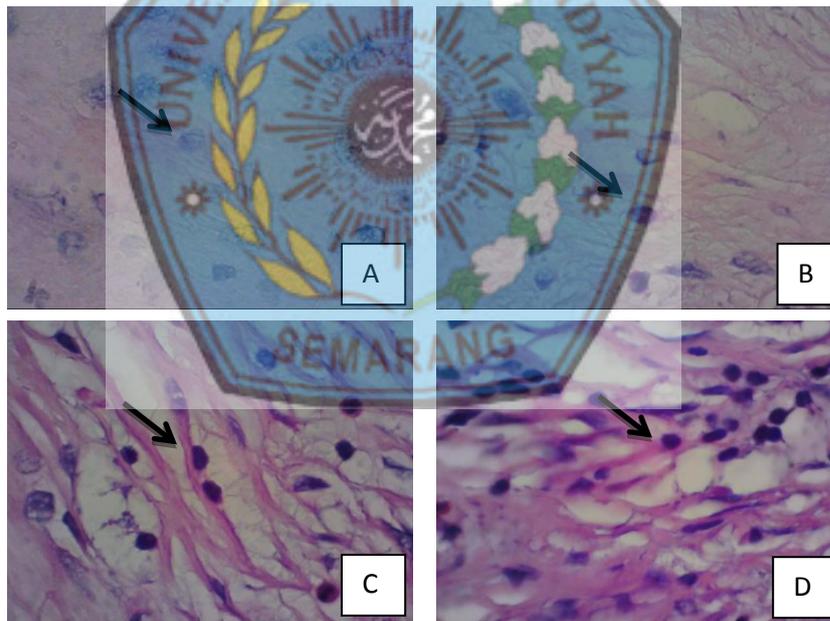
## Hasil

Hasil pengecatan HE tampak pada bagian inti sel dan sitoplasma yang akan dinilai berdasarkan intensitasnya yaitu kuat-lemahnya penyerapan cat. Penilaian pengecatan HE berdasarkan intensitasnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan pengecatan HE

Waktu(menit) Ulangan	Konsentrasi Perasan Kulit Jeruk Nipis								
	1%			2%			3%		
	1'	2'	3'	1'	2'	3'	1'	2'	3'
1	1+	1+	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+
2	1+	1+	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+
3	1+	1+	1+	2+	2+	2+	3+	3+	3+

Hasil pengamatan dari pengecatan HE dengan xylol dan perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 1,%, 2%, 3% dengan waktu rendam 1', 2', 3' dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Pengecatan HE menggunakan perasan kulit jeruk nipis

- A. Skor (1+) dengan konsentrasi 1%
- B. Skor (2+) dengan konsentrasi 2%
- C. Skor (3+) dengan konsentrasi 3%
- D. Kontrol (xylol) perbesaran 1000x

## Diskusi

Deparafinisasi merupakan suatu tahap dalam proses penghilangan parafin atau

pembebasan jaringan dari parafin. Jeruk nipis mengandung asam sitrat yang dapat

melarutkan lemak pada proses deparafinisasi sebagai pengganti xylol (Sentani et al, 2017).

Berdasarkan Tabel 4 hasil pewarnaan HE pada proses deparafinisasi menggunakan perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 1% dengan waktu rendam 1', 2', 3' didapat skor (1+) dengan warna biru pada inti sel tidak ada, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas serta warna pada preparat tidak seragam sehingga sediaan tidak bisa didiagnosis.

Konsentrasi 2% dengan waktu rendam 1', 2', 3' didapat skor (2+) warna biru pada inti sel kurang jelas, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna pada preparat kurang tetapi masih bisa didiagnosis.

Perasan kulit jeruk nipis pada konsentrasi 3% lebih baik hasil pengecatan HE dibandingkan konsentrasi 1% dan 2%. Konsentrasi 1% dan 2% lebih rendah sehingga belum bisa membersihkan parafin pada jaringan sedangkan konsentrasi 3% parafin sudah hilang sehingga pengecatan lebih jelas. Konsentrasi perasan kulit jeruk nipis 3% menghasilkan intensitas pengecatan HE yang sama dengan xylol sebagai kontrol. Semakin tinggi konsentrasi perasan kulit jeruk nipis maka skor penilaian meningkat sehingga intensitas warna yang didapat semakin jelas. Hal ini disebabkan karena kandungan asam sitrat yang semakin pekat sehingga lemak mudah dilarutkan.

Parafin merupakan lemak yang sering digunakan dalam proses *blocking* agar mudah dipotong, namun dalam pengecatan HE harus dihilangkan dengan asam sitrat dalam hal ini dengan perasan kulit jeruk nipis. Pada penelitian sebelumnya menggunakan sabun cuci piring Sunlight® dengan bahan dari jeruk nipis untuk mengangkat kotoran berupa minyak atau lemak konsentrasi 1,5%, 2%, 2,5% suhu 90°C selama 1 menit pada proses deparafinisasi (Pranata, 2017) dan proses deparafinisasi juga menggunakan larutan pencuci piring dan air lemon suhu 90°C selama 1 menit (Ananthaneni, 2014). Perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 3% dengan waktu rendam 1', 2', 3' suhu 60°C merupakan konsentrasi yang paling baik untuk

mendapatkan hasil intensitas pewarnaan yang sama dengan kontrol (xylol).

Hasil pewarnaan HE menunjukkan pewarnaan yang baik pada konsentrasi 3% waktu 1', 2', 3'. Hasil kurang baik atau tidak baik jika proses deparafinisasi belum sempurna sehingga cat tidak bisa masuk pada jaringan. Pengecatan HE memiliki dua cat warna yaitu *hematoxylin* dan *eosin*. Inti sel yang bersifat asam akan menarik cat *hematoxylin* yang bersifat basa sehingga inti sel terwarnai biru. Sitoplasma yang bersifat basa akan menarik cat *eosin* yang bersifat asam sehingga sitoplasma terwarnai merah (Khristian & Inderiati, 2017). Keberhasilan dari suatu pewarnaan tergantung dari proses awal yang dilakukan. Proses awal salah satunya yang sangat menentukan keberhasilan pewarnaan adalah proses deparafinisasi (Sentani et al. 2017).

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 1% dengan waktu rendam 1', 2', 3' didapat hasil intensitas skala tidak baik (1+).
- Perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 2% dengan waktu rendam 1', 2', 3' didapat hasil intensitas skala kurang baik (2+).
- Perasan kulit jeruk nipis konsentrasi 3% dengan waktu rendam 1', 2', 3' didapat hasil intensitas skala baik (3+).
- Hasil pengecatan HE yang paling baik pada konsentrasi 3% dengan waktu rendam 1', 2', 3'.

### Referensi

- Ananthaneni, A., Namala, S., Guduru, V. S., Ramprasad, V. V. S., Ramisetty, S. D., Udayashankar, U., & Naik, K. K. 2014. Efficacy of 1.5% Dish Washing Solution and 95% Lemon Water in Substituting Perilous Xylene as a Deparaffinizing Agent for Routine H and E Staining Procedure: A Short Study. *Scientifica*, 2014.
- Khanifah, F. 2015. Efek Pemberian Air Perasan Jeruk Nipis terhadap

- Pencegahan Pembentukan, Penghambatan Pertumbuhan, dan Penghancuran Biofilm *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Khristian, E. & Inderiati, D. 2017. *Sitohistoteknologi*. Jakarta : Pusat Pendidikan Sumberdaya Manusia Kesehatan.
- Kunhua, W., Chuming, F., Tao, L., Yanmei, Y., Xin, Y., Xiaoming, Z., Xuezhong, G., & Xun, L. 2012. Novel Non-Toxic Xylene Substitute (SBO) for Histology. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternes Medicines*, 9(1), 43-49.
- Pandey, P., Dixit, A., Tanwar, A., Sharma, A., & Mittal, S. 2014. A Comparative Study to Evaluate Liquid Dish Washing Soap as an Alternative to Xylene and Alcohol in Deparaffinization and Hematoxylin and Eosin Staining. *Journal of laboratory physicians*, 6(2), 84.
- Pranata, A. 2017. Sabun Cuci Piring (Dishwashing Soap) sebagai Pengganti Xylol pada Proses DEPARAFINISASI Pengecatan Imunohistokimia HER2. Skripsi. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah, Semarang.
- Saputri, M. R. 2015. Penurunan Logam Berat Timbal (Pb) Ikan Nila (*Oreochromis nilotica*) Kali Surabaya Menggunakan Filtrat Jeruk Siam (*Citrus nobilis*). *LenteraBio*, 4(2).
- Sentani, R. S. A., Hafy, Z., & Subandrate, S. 2017. Hubungan Metode Deparaffinisasi dengan Kuantitas dan Kualitas Ekstrak DNA Hasil Isolasi dari Sampel Arsip Jaringan Dalam Blok Parafin Terfiksasi Formalin. *JURNAL KEDOKTERAN & KESEHATAN: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 4(1), 35-41.
- Sumanto, D. 2014. *Belajar Sitohistoteknologi untuk Pemula*. IAKIS. Semarang.
- Thermo Scientific. 2011. Gemini AS Operator Guide. [www.thermo.com/pathology](http://www.thermo.com/pathology).