



**PERBEDAAN KUALITAS SEDIAAN GINJAL MARMUT PADA PROSES
DEPARAFINISASI MENGGUNAKAN MINYAK KAYU PUTIH PADA
PEWARNAAN HE (*Hematoxylin eosin*)**



Tri Murti Kumala Dewi
G0C017070

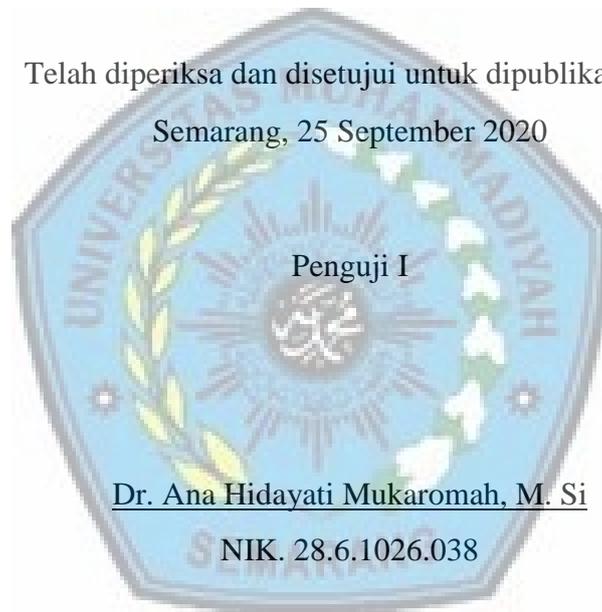
**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
TAHUN 2020**

PERNYATAAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

PERBEDAAN KUALITAS SEDIAAN GINJAL MARMUT PADA PROSES DEPARAFINISASI MENGGUNAKAN MINYAK KAYU PUTIH PADA PEWARNAAN HE (*Hematoxylin eosin*)

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan
Semarang, 25 September 2020



Penguji I

Dr. Ana Hidayati Mukaromah, M. Si

NIK. 28.6.1026.038

Penguji II

Fitri Nuroini, M.Sc

NIK. 28.6.1026.312

SURAT PERNYATAAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Tri Murti Kumala Dewi

NIM : G0C017070

Fakultas : Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

Program Studi : D III Analis Kesehatan

Jenis Penelitian : Karya Tulis Ilmiah

Judul : Perbedaan Kualitas Sediaan Ginjal Marmut Pada Proses Deparafinisasi Menggunakan Minyak Kayu Putih Pada Pewarnaan He (*Hematoxylin eosin*)

Email : trimurtikumaladewi@gmail.com

Dengan ini saya menyatakan bahwa saya menyetujui untuk:

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan karya tulis ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan.
2. Memberikan hak menyimpan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk *softcopy* untuk kepentingan akademis kepada aPerpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta.
3. Bersedia dan menjamin menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 25 September 2020

(Tri Murti Kumala Dewi)

PERBEDAAN KUALITAS SEDIAAN GINJAL MARMUT PADA PROSES DEPARAFINISASI MENGGUNAKAN MINYAK KAYU PUTIH PADA PEWARNAAN HE (*Hematoxylin eosin*)

Tri Murti Kumala Dewi¹⁾, Fitri Nuroini²⁾, Ana Hidayati Mukaromah²⁾

¹⁾Program studi DIII Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

email: trimurtikumaladewi@gmail.com

²⁾Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

email : fitrinuroini@unimus.ac.id

Abstrak

Deparafinisasi merupakan proses awal sebelum dilakukan pewarnaan pada sediaan jaringan. Proses deparafinisasi bertujuan menghilangkan parafin yang masih terdapat pada jaringan. Xylol merupakan larutan umum digunakan sebagai agen deparafinisasi karena memiliki sifat non polar dan pelarut organik sehingga dapat melunturkan parafin. Xylol memiliki dampak kurang baik bagi kesehatan karena itu perlu bahan alternatif pengganti xylol. Minyak Kayu Putih merupakan minyak atsiri berasal dari tanaman Kayu Putih, memiliki senyawa α -terpinol sebanyak 87,7%. Kandungan α -terpinol minyak kayu putih memiliki kelarutan sama dengan alkohol dan bersifat asam PH 5 dapat memperjelas inti sel diproses pewarnaan. Minyak kayu putih memiliki sifat non polar hanya larut dalam alkohol. sehingga dapat digunakan untuk menghilangkan sisa parafin yang terdapat dalam jaringan. Tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui perbedaan kualitas sediaan jaringan yang dideparafinisasi dengan xylol dan minyak kayu putih. Metode penelitian eksperimental dengan rancangan cross sectional. Sampel menggunakan ginjal marmut melalui processing jaringan diolah 30 sediaan dengan pewarnaan HE. Kualitas sediaan dinilai dengan sistem skoring kemudian dianalisis dengan uji statistik. Hasil sediaan dideparafinisasi dengan xylol berkualitas baik 100% (Sebagai kontrol) dan sediaan dideparafinisasi Minyak kayu putih berkualitas baik 86,7%. Kesimpulan sediaan jaringan dideparafinisasi dengan xylol dan minyak kayu putih menunjukkan tidak ada perbedaan kualitas sediaan berdasarkan uji statistik.

Kata kunci : HE, deparafinisasi, xylol, minyak kayu putih

Abstract

Deparaffinization is the initial process before staining the tissue preparations. The deparaffinization process aims to remove any paraffins that are still present in the tissue. Xylol is a common solution used as a deparaffinizing agent because it has non-polar properties and is an organic solvent so that it can dissolve paraffins. Xylol has a bad impact on health because it needs an alternative material to replace xylol. Eucalyptus oil is an essential oil derived from the eucalyptus plant, which has α -terpinol as much as 87.7%. The α -terpinol content of eucalyptus oil has the same solubility as alcohol and is acidic. PH 5 can clarify the cell nucleus in the staining process. Eucalyptus oil has non polar properties only soluble in alcohol. so that it can be used to remove the remaining paraffin in the network. The research objective was to determine the differences in the quality of the deparaffinized tissue preparations with xylol and eucalyptus oil. Experimental research method with cross sectional design. The sample used

guinea pig kidneys through tissue processing and processed 30 preparations with HE staining. The quality of the preparations was assessed by a scoring system and then analyzed by statistical tests. The results of the preparation were deparaffinized with 100% good quality xylol (as control) and the deparaffinized preparation. Good quality eucalyptus oil was 86.7%. The conclusion that deparaffinized tissue preparations with xylol and eucalyptus oil showed no difference in the quality of the preparations based on statistical tests.

Keywords : HE, deparaffinization, xylol, eucalyptus oil



PENDAHULUAN

Histoteknik adalah metode pembuatan sediaan histologi dari spesimen jaringan hewan atau manusia melalui serangkaian proses tertentu sehingga siap dianalisis menggunakan metode parafin (Jusuf, 2009). Tahapan pembuatan sediaan yaitu, pencucian, fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, penanaman, penyayatan, penempelan, deparafinisasi, pewarnaan dan mounting (Alwi, *et.al.*, 2016).

Pewarnaan merupakan proses pemberian warna yang kontras pada komponen seluler untuk membedakan satu sel dengan sel yang lain. Pewarnaan HE terdiri dari hematoksilin mewarnai inti menjadi biru dan eosin mewarnai sitoplasma menjadi merah (Mescher, 2017). Tahap awal sebelum melakukan pewarnaan yaitu deparafinisasi dengan tujuan menjernihkan dan menghilangkan parafin dari jaringan menggunakan larutan *xylol* (Prabin, *et.al.*, 2009). *Xylol* merupakan cairan agen deparafinisasi sebagai pelarut organik yang dapat melunturkan parafin (Bancroft, *et.al.*, 2012). *Xylol* dapat

menyebabkan dampak kurang baik bagi kesehatan (Pandey, *et.al.*, 2014).

Oleh karena itu perlu adanya bahan alternatif alami pengganti *xylol* yang lebih aman.

Terpenes merupakan polimer isoprena ditemukan dalam esensial oil dari tanaman bergamot, pinus, cengkeh dan Minyak kayu putih. Minyak kayu putih merupakan tanaman penghasil minyak atsiri yang mengandung senyawa utama *Terpenes* 88,7%. *Terpenes* memiliki sifat non polar hanya larut dalam alkohol dan dapat melunturkan parafi pada sediaan jaringan (Kristian, 2018). Kelebihan *terpenes* dalam minyak kayu putih dibandingkan *xylol* yaitu tidak beracun, tidak berbau menyengat, kemampuan menyerap air kecil, mudah didapatkan dan lebih ekonomis (Brug S.L., 1947).

Tujuan penelitian mengetahui perbedaan kualitas sediaan jaringan ginjal yang dideparafinisasi menggunakan minyak kayu putih sebagai pengganti *xylol* pada pewarnaan *Hematoxylin eosin*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan Cross Sectional. Penelitian dilakukan di Laboratorium Sitohistoteknologi Universitas Muhammadiyah Semarang pada bulan Agustus 2020. Subyek penelitian organ ginjal marmut jantan normal, kemudian dibuat sediaan menggunakan metode parafin sebanyak 30, 15 sediaan dideparafinisasi menggunakan *xylol* dan sebanyak 15 sediaan yang lain dideparafinisasi menggunakan Minyak kayu putih I, II, dan III yang dipanaskan pada suhu 60°C selama 10 menit. Minyak kayu putih yang digunakan berasal dari produksi minyak kayu putih PT. Dragon Prima Farma dengan kadar 100%. Prosedur prosesi jaringan sesuai dengan prosedur di

laboratorium Sitohistoteknologi Unimus.

Kualitas sediaan dibaca dan diamati menggunakan sistem skoring yang kemudian dianalisis menggunakan uji statistik normalitas *Shapiro Wilk* kemudian dilanjutkan uji *Mann Whitney*.

HASIL

Hasil pengamatan dari 15 sediaan jaringan ginjal marmut yang dideparafinisasi menggunakan *xylol* dan 15 sediaan yang dideparafinisasi menggunakan Minyak Kayu Putih

diperoleh hasil perwarnaan yang disajikan pada Tabel 1. berikut:

Tabel 1. Hasil pengamatan berdasarkan kategori jaringan ginjal marmut menggunakan larutan *xylol* dan Minyak Kayu Putih sebagai agen deparafinisasi

Kategori	Skor	<i>Xylol</i>	Minyak Kayu Putih
Tidak Baik	1	0	0
Kurang Baik	2	0	2
Baik	3	15	13
Total		15	15

Sumber: Data primer (2020)

Presentasi Kualitas Sediaan Ginjal pada Pewarnaan HE



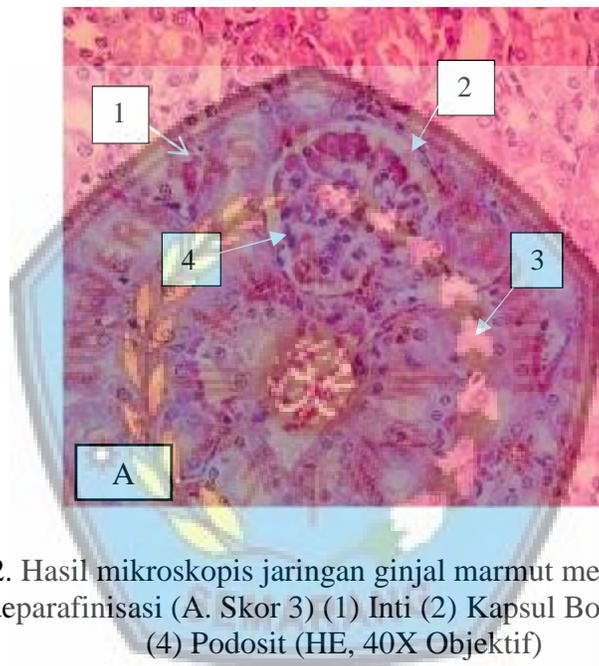
Sumber: Data primer (2020)

Gambar 1. Diagram Kualitas Deparafinisasi Menggunakan *Xylol* dan Minyak Kayu Putih

Berdasarkan gambar diagram di atas diperoleh hasil kualitas yang dideparafinisasi menggunakan *xylol* dengan kualitas baik sebanyak 100 %. Sedangkan kualitas yang

dideparafinisasi menggunakan Minyak Kayu Putih didapatkan hasil dengan kualitas kurang baik sebanyak 13,3 % dan kualitas baik sebanyak 86,7 %.

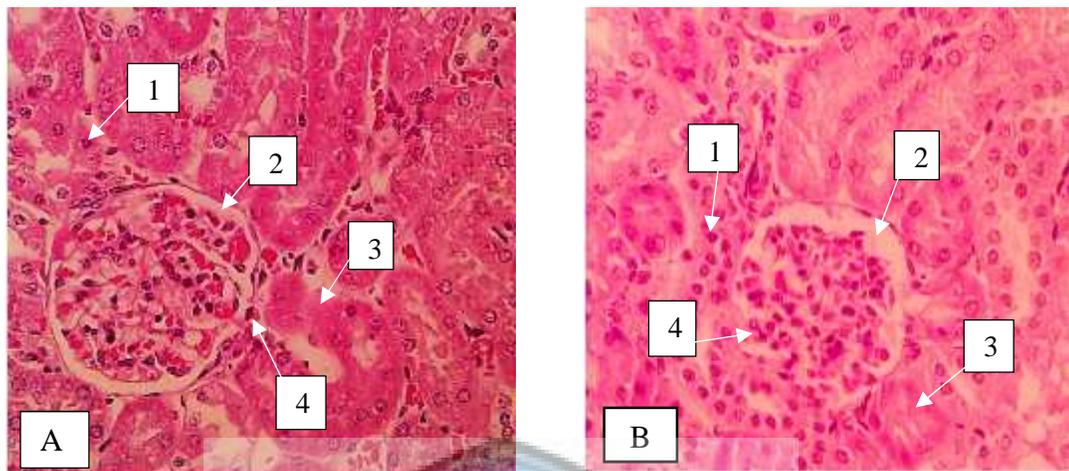
Gambar Kualitas Sediaan Ginjal pada Pewarnaan HE



Gambar 2. Hasil mikroskopis jaringan ginjal marmut menggunakan *xylol* sebagai agen deparafinisasi (A. Skor 3) (1) Inti (2) Kapsul Bowman (3) Sitoplasma (4) Podosit (HE, 40X Objektif)

Gambar mikroskopis jaringan ginjal marmut menggunakan *xylol* sebagai agen deparafinisasi pada gambar (A. Skor 3) menunjukkan inti sel jelas berwarna biru keunguan,

sitoplasma jelas berwarna merah muda, warna sediaan seragam dan dapat didiagnosa.



Gambar 3. Hasil mikroskopis jaringan ginjal marmut menggunakan larutan minyak kayu putih (*Melaleuca cajuput oil*) sebagai agen deparafinisasi (A. Skor 3) dan (B. Skor 2). (1) Inti (2) Kapsul Bowman (3) Sitoplasma (4) Podosit (HE, 40X Objektif).

Gambar mikroskopis jaringan ginjal marmut menggunakan minyak kayu putih sebagai agen deparafinisasi pada gambar (A. Skor 3) tampak inti sel jelas berwarna biru keunguan, sitoplasma jelas berwarna merah, warna sediaan yang seragam dan dapat didiagnosa dengan baik. Gambar (B Skor 2) tampak inti sel berwarna biru kurang jelas, sitoplasma berwarna merah muda kurang, warna sediaan kurang seragam tetapi masih dapat didiagnosa.

Uji normalitas menggunakan *Shapiro wilk* diperoleh nilai signifikan 0,00 yang berarti $p\text{ value} < 0,05$

menunjukkan hasil data yang berdistribusi tidak normal. Data yang berdistribusi tidak normal dilanjutkan dengan Uji *MannWhitney* diperoleh hasil signifikansi 0,539 maka $p\text{ value} > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan kualitas sediaan jaringan ginjal marmut pada proses deparafinisasi menggunakan *Xylol* dan Minyak kayu putih (*Melaleuca cajuput oil*) pada pembuatan sediaan jaringan dengan pewarnaan hematoksilin eosin.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) terhadap kualitas sediaan jaringan ginjal marmut pada proses deparafinisasi menggunakan larutan *Xylol* menunjukkan hasil mikroskopis yang baik sebanyak 100 % dapat dilihat pada diagram Gambar 1. dengan rata-rata densitas warna pada inti dan sitoplasma serta warna sediaan yang seragam dan dapat didiagnosis. Kualitas sediaan jaringan yang baik disebabkan oleh faktor yang dapat berpengaruh terhadap proses deparafinisasi. Penggunaan *xylol* sebagai penggunaan deparafinisasi pada 15 sediaan jaringan ginjal marmut memberikan efek transparan serta hasil yang baik setelah sediaan dilakukan proses pewarnaan jaringan. Hasil sediaan yang transparan disebabkan karena *xylol* merupakan agen dehidran dan materi parafin yang baik dan umum digunakan di laboratorium sebagai pembuatan sediaan histologi.

Kualitas sediaan jaringan ginjal marmut yang telah dideparafinisasi menggunakan Minyak kayu putih (*Melaleuca*

cajuput oil) menunjukkan gambaran mikroskopis yang sama baiknya atau tidak ada perbedaan dengan *xylol*. Hasil sediaan yang dideparafinisasi menggunakan Minyak kayu putih dengan hasil baik sebanyak 86,7% dengan rata-rata densitas warna inti dan sitoplasma serta warna sediaan yang seragam dan dapat didiagnosis sebanyak 13 sediaan jaringan. Sebanyak 13,3 % atau 2 sediaan jaringan diperoleh hasil dengan kriteria kurang baik diberi skor 2 yaitu densitas warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma kurang, serta keseragaman warna pada inti sel kurang tetapi masih dapat didiagnosis. Kualitas sediaan jaringan yang baik dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang dapat berpengaruh terhadap hasil kualitas pada proses deparafinisasi. Minyak kayu putih (*Melaleuca cajuput oil*) memiliki sifat non polar yang dapat melarutkan lemak atau parafin yang masih terkandung dalam sediaan jaringan. Minyak kayu putih memiliki kandungan utama -terpinol yang memiliki nilai kelarutan terhadap alkohol sama sehingga dapat larut dalam alkohol (Widiyanto, Ari,

2014). Cairan Minyak kayu putih yang bersifat asam dengan PH 5 dapat membantu memperjelas inti sel jaringan pada proses pewarnaan hematoxilin (Kristian, Eric, 2018).

Hasil kurang baik pada pewarnaan *Hematoxylin Eosin* dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhi pewarnaan yaitu penghilangan terhadap parafin yang tidak sempurna, waktu pewarnaan yang tidak sesuai, proses menghilangkan warna yang terlalu kuat, pemotongan jaringan yang terlalu tebal sehingga zat warna kurang terserap dengan baik (Chan, John, 2014).

Minyak kayu putih (*Melaleuca cajuput oil*) tidak mempunyai kemampuan untuk melunturkan lemak atau parafin pada suhu ruang seperti *xylol*, sehingga perlu adanya pemanasan pada suhu 50-60° C. Peningkatan suhu dapat menyebabkan lemak dan parafin pada jaringan dapat luntur dengan mudah. Kenaikan suhu juga dapat meningkatkan laju difusi molekul minyak sehingga dapat menyebabkan menurunnya viskositas cairan dan parafin dapat luntur dengan cepat.

Parafin merupakan campuran senyawa hidrokarbon yang terbuat dari minyak atau lemak yang memiliki sifat polar (Candle Making, A., *et al.*, 2014). Parafin jika dipanaskan akan melunturkan lemak tetapi tidak menghilangkan dan jika parafin berada disuhu kamar akan kembali mengeras dan sulit untuk diwarnai. Minyak kayu putih pada saat dipanaskan pada suhu 50-60° C dapat menyebabkan parafin luntur dan hilang meskipun dikeluarkan pada suhu kamar.

KESIMPULAN

Sediaan jaringan ginjal yang dideparafinisasi menggunakan *xylol* dan minyak kayu putih tidak ada perbedaan atau memiliki kualitas yang sama berdasarkan uji statistik.

REFERENSI

- Aisyatussoffi, Nadya., *et.all.* 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Ikan Gabus *Chana striata* Pada Struktur Histologi Pankreas Dan Kadar Glukosa Darah Mencit *Mus musculus* Hiperglikemik. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 2(1) : 2337-3520.

- Bsc, Rene J & Pehkov, M. V. 2009. Histology Without Xylene. *Annals of Diagnostic Pathology*. 10 (13) : 246-256
- Bancroft, John. D., et. all. 2012. *Theory and Practice of Histological Techniques*. 7th ed, Book: China
- Buesa, Rene J. 2000. Mineral Oil: The Best Xylene Substitute For Tissue Processing Yet?. *The Journal of Histotechnology*. 23(2) : FL 33140
- Erwin, Y. et all. 2019. Perbedaan Kualitas Preparat Hati Marmut pada Proses Deparafinisasi Menggunakan Xilol dan Minyak Zaitun pada Pewarnaan HE. *Jurnal penelitian unimus*. 2(5): 2654-766X
- Farin, F.A. et all. 2019. Perbedaan Densitas Warna Inti dan Sitoplasma Preparat Ginjal Marmut pada Proses Clearing Menggunakan Xylol Dan Minyak Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) Pada Pembuatan Sediaan Jaringan. *Jurnal penelitian unimus*. 2(5): 2654-766X
- Th, Karim. 1992. Peranan Eter dan Morfin Dalam Anestesi. *Cakrawala Pendidikan*. 1(2) : 61-69.
- Halim, R. 2018. Asam Cuka Sebagai Agen Deparafinisasi Pada Pengecatan Hematoksin Eosin (HE). *Skripsi*. Fakultas ilmu keperawatan dan kesehatan Universitas Muhammadiyah, Semarang.
- Helfiansah, R. & Sastrohamidjojo, H. 2012. Isolasi, Identifikasi Dan Permukiman Senyawa 1,8 Sineol Minyak Kayu Putih (*Melaleuca leucandendrom*). *Asean Journal Of Systems Engineering*. 1(1): 19-24
- Ismawati, I., et all. 2019. Efek Alfa Lipoat Terhadap Insiulititis Pada Tikus Diabetes Metitus Tipe 2. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*. 16(2) : 58-63.
- Junqueira, L. C & Jose, C. *Histologi Dasar Teks & Atlas*. 10th ed, Book: Jakarta
- Kristanto, E. & Wangko, S. 2015. Patofisiologi Rigor Mortis. *Jurnal Biomedik*. 6(3)1-7.
- Mayangsari, M. A. et all. 2019. Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut pada Proses Deparafinisasi Menggunakan Xylol dan Minyak Zaitun pada Pewarnaan HE. *Jurnal penelitian unimus*. 2(4): 2654-766X
- Nadu, Tamil. 2018. Comparing The Efficiency of Coconut Oil and Palm Oil With Xylene As A Clearing Agent In Conventional Hematoxylin and Eoin Histopathological Staining Procedure. *Tesis*. Oral Pathology and Microbiology University Medical, Hindia
- Ramamoorthy, A. et all. 2016. Natural Alternatives For Chemicals Used In Histopathology Lab-A Literature Review. *Journal of*

- Clinical And Diagnostic Research*. 10(11) : EE01-EE04
- Ramadani, R. 2016. Senyawa Kimia Bahan Alami Terpenoid. *Tarbawi Jurnal Ilmu Pendidikan*. 1(1): 1-9
- Sari, P. R.2015. Studi Awal Histoteknik Perfusi PBS-Formalin Dan Gambaran Histologi Organ Hepar, Pankreas Dan Ginjal Tikus *Strain Sprague Dawley*, Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Swamy, S. R. G., *et al.* 2015. Bio-Friendly Alternative For Xylene- Carrot Oil, Olive Oil, Pine Oil, Rose Oil. *Journal of Clinical And Diagnostic Research*. 9(11) :ZC16-ZC18
- Safrida. 2012. Deteksi Senyawa Mukopolisakarida Dengan Pewarna *Alcian Blue* Pada Ovarium Dan Uterus Tikus Putih *Rattus Norvegicus*. *Jurnal Edukasi dan Sains Biologi*. I(1) : 2302-1705.
- Sudisma, I.G.N., *et al.* 2012. Anaestesi Infuse Gravimetric Ketamin Dan Propofol Pada Anjing. *Jurnal Veteriner*. 13(2) : 189-198
- Setyawati, A. 2015. Struktur Histologi, Hati, Ginjal Dan Pankreas Mencit *Mus Musculus* Dengan Perlakuan Ekstrak Batang Akar Kuning *Fibraurea tinctoria* Selama *Organogenesis*. Tesis Universitas Agrikultural Bogor, Bogor.
- Widiyanto, A & Sirarudin, M., 2014. Sifat Fisikokimia Minyak Kayu Putih *Asteromyrtus brasii*. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 32(4) : 243-25

