



Available online at : <http://ojs.rajawali.ac.id/index.php/JKR>

Jurnal Kesehatan Rajawali

| ISSN (Print) 2085-7764 | ISSN (Online) 2776-558X |



PROSES DEPARAFINASI SEDIAAN JARINGAN GINJAL DENGAN DAN TANPA PEMANASAN MENGGUNAKAN MINERAL OIL PADA PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN

Maya Damayanti¹, Tulus Ariyadi^{2*}, Rostanti Ayuning Tyas²

¹Instalasi laboratorium Patologi Anatomi RSUD Tugurejo Semarang, Indonesia

²Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, Indonesia

ARTICLE INFORMATION

Received: November, 05, 2021

Revised: January, 19, 2022

Accepted : January, 25, 2022

Available online: Februari, 08, 2022

KEYWORDS

Mineral oil, Deparafinisasi, Hematoksilin-Eosin

CORRESPONDENCE

E-mail: mustoels@unimus.ac.id

A B S T R A C T

Hematoxylin Eosin (HE) staining aims to provide easy reading of tissue preparations. One of the steps for Hematoxylin Eosin staining is using xylol in the deparaffinization process. This process is to remove paraffin from the tissue and clearing process before mounting so that it can absorb the dye well and looks clear. Xylol is known as a non-polar solution that has many uses but has a toxic effect on health. Mineral Oil is a potential alternative to xylol for deparaffinization and clearing because it has the same non-polar properties.

Objective: to measure the quality of kidney tissue staining in the deparaffination process using mineral oil at room temperature and 50°C.

Research method: type of research is descriptive. Samples came from the kidneys of male guinea pigs which were divided into 3 groups. The assessment of the quality of the staining was carried out based on the Standar Operating Procedures on the results of HE staining at the Anatomical Pathology Laboratory Installation, Dr Kariadi Hospital, Semarang. As a quality control, the staining uses the results of the deparaffin process and clearing using xylol.

Results and discussion: The process of deparaffinization and clearing using xylol obtained 100% tissue quality with good results, on mineral oil without heating at 0% room temperature the results were not good, on mineral oil with heating temperature of 50°C 100% good results. The conclusion is that the use of mineral oil with heating is better and almost the same as the control.



Available online at : <http://ojs.rajawali.ac.id/index.php/JKR>
Jurnal Kesehatan Rajawali

| ISSN (Print) 2085-7764 | ISSN (Online) 2776-558X |



INTRODUCTION

Proses untuk menghilangkan parafin sebelum proses pewarnaan agar penyerapan warna maksimal pada pewarnaan jaringan disebut dengan deparafinisasi. Reagen yang dipakai adalah xylool, toluen, benzol atau kloroform. Bagian jaringan harus dilakukan proses deparafinisasi terlebih dahulu dengan xylool dan kemudian dicuci dalam pengenceran alkohol bertingkat untuk menghilangkan pelarut organik dan parafin yang ada dalam jaringan (Kalantari, Bayani, & Ghaffari 2016).

Proses untuk menghilangkan parafin sebelum proses pewarnaan agar penyerapan warna maksimal pada pewarnaan jaringan disebut dengan deparafinisasi. Reagen yang dipakai adalah xylool, toluen, benzol atau kloroform. Bagian jaringan harus dilakukan proses deparafinisasi terlebih dahulu dengan xylool dan kemudian dicuci dalam pengenceran alkohol bertingkat untuk menghilangkan pelarut organik dan parafin yang ada dalam jaringan (Kalantari, Bayani, & Ghaffari 2016).

Proses deparafinisasi menjadi salah satu tahapan penting dalam pewarnaan sediaan jaringan. Salah satu sifat parafin yaitu tidak dapat larut dalam air (hidrofobik) sehingga parafin harus larut menggunakan pelarut nonpolar. Pelarut nonpolar yang banyak digunakan dalam proses deparafinisasi adalah xylool. Selain deparafinisasi, tahapan pada pewarnaan yang membutuhkan xylool dalam prosesnya yaitu pada tahap clearing. (Akmalia, 2018).

Xylene atau dimetilbenzena disebut juga xylool termasuk dalam golongan benzena dengan rumus molekul $\text{CH}_3\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$. Xylool diproduksi melalui metilasi toluena dan benzena. Cairan ini tidak berwarna, dibuat dari minyak bumi atau aspal cair, sifatnya mudah dan sering dipakai sebagai pelarut (Jacobson, G dan McLean, 2003). Disamping kegunaan Xylool banyak juga efek toksisitas xylool itu sendiri diantaranya menghirup uap xylool dapat mempengaruhi sistem syaraf pusat (SSP) dengan gejala pusing, mual dan sakit kepala. Selain itu dapat menyebabkan neurotoksisitas akut, merusak jantung dan ginjal, hepatoksisitas, diskrasia darah yang fatal, eritema kulit, kulit kering, kulit mengelupas (Kandyala et al, 2010). Selain dampak buruk yang ditimbulkan bagi kesehatan, harga xylool dipasaran juga terbilang cukup mahal.

Salah satu penelitian dilakukan oleh Buesa dan Maxim pada tahun 2009 menggunakan minyak mineral murni sebagai agen pengganti xylool melakukan proses deparafinisasi dan clearing pada suhu 50°C menjadikannya pengganti yang lebih aman dan lebih murah daripada xylool. Dalam hal ini mineral oil memiliki fungsi yang

hampir mirip dengan xylool yaitu dapat melunturkan parafin agar preparat dapat berwarna. Di sisi lain mineral oil memiliki persamaan dengan xylool yaitu keduanya berasal dari minyak bumi, bersifat non polar dan sama-sama sebagai bahan pelarut yang berasal dari senyawa turunan gugus alkana. Gugus aktif dan sifat non polar inilah yang diduga terdapat potensi untuk melarutkan parafin sehingga terdapat kemungkinan bahwa mineral oil juga dapat dijadikan sebagai pengganti xylool pada tahap deparafinisasi.

METODE

Penelitian ini bersifat eksperimen kausi dimana hasil penelitian yang dilakukan di bandingkan dengan kontrol yang menggunakan xylool sebagai standart prosedur baku deparafinasi. Hasil yang di dapatkan di uraikan secara deskriptif menggunakan bantuan tabel dan gambar. Penelitian dilakukan di laboratorium sitohistoteknologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Waktu Penelitian dilakukan mulai Maret 2021 sampai Agustus 2021

Objek penelitian ini adalah jaringan ginjal mencit (*Mus musculus L.*) yang telah difiksasi dengan NBF 10% sedangkan subyek penelitian berupa sediaan preparat ginjal yang telah di lakukan pemotongan menggunakan mikrotome ketebalan 5 mikron.

Jaringan ginjal yang telah di potong dengan ukuran 1×1 cm dilakukan fiksasi dengan NBF 10 selama 24 jam. Proses selanjutnya adalah melakukan prosesing jaringan dari mulai Dehidrasi, Clearing, Embedding dan Bloking menggunakan tissue processor leica tp 1020. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dilakukan dengan ketebalan 5 mikron menggunakan mikrotom leica rm 2125.

Tahap selanjutnya adalah melakukan proses deparafinasi dimana preparat ginjal di bagi dalam 3 kelompok yaitu menggunakan xylool sebagai kontrol, menggunakan mineral oil pada suhu ruang dan menggunakan mineral oil yang dihangatkan pada suhu 50°C , proses deparafinasi ini dikerjakan selama 15 menit.

Proses pewarnaan HE dilakukan menggunakan prosedur standar namun pada saat clearing preparat di masukkan ke dalam staining jar yang berisi xylool, mineral oil suhu kamar dan mineral oil suhu 50°C sesuai saat dilakukan proses deparafinasi. Pengamatan mikroskopis dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi menggunakan skor penilaian sebagai berikut :

Table 1. Skor penilai preparat sediaan ginjal. (Julianti. 2017)

No	Deskripsi	Skala Ordinal	Skor
1.	Kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel tidak jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma tidak jelas, serta warna preparat tidak baik	Tidak Baik	1
2.	Kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel terlihat kurang jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma kurang, serta warna preparat kurang baik tetapi masih dapat didiagnosis.	Kurang Baik	2
3.	Kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel terlihat sangat jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma, serta warna pada preparate dan sediaan dapat didiagnosis dengan jelas	Baik	3

RESULTS AND DISCUSSION

Berdasarkan hasil kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin terhadap penyerapan dan kualitas warna dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2. Hasil kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin menggunakan mineral oil sebagai alternatif pengganti xylol tahap deparafinisasi dan tahap clearing.

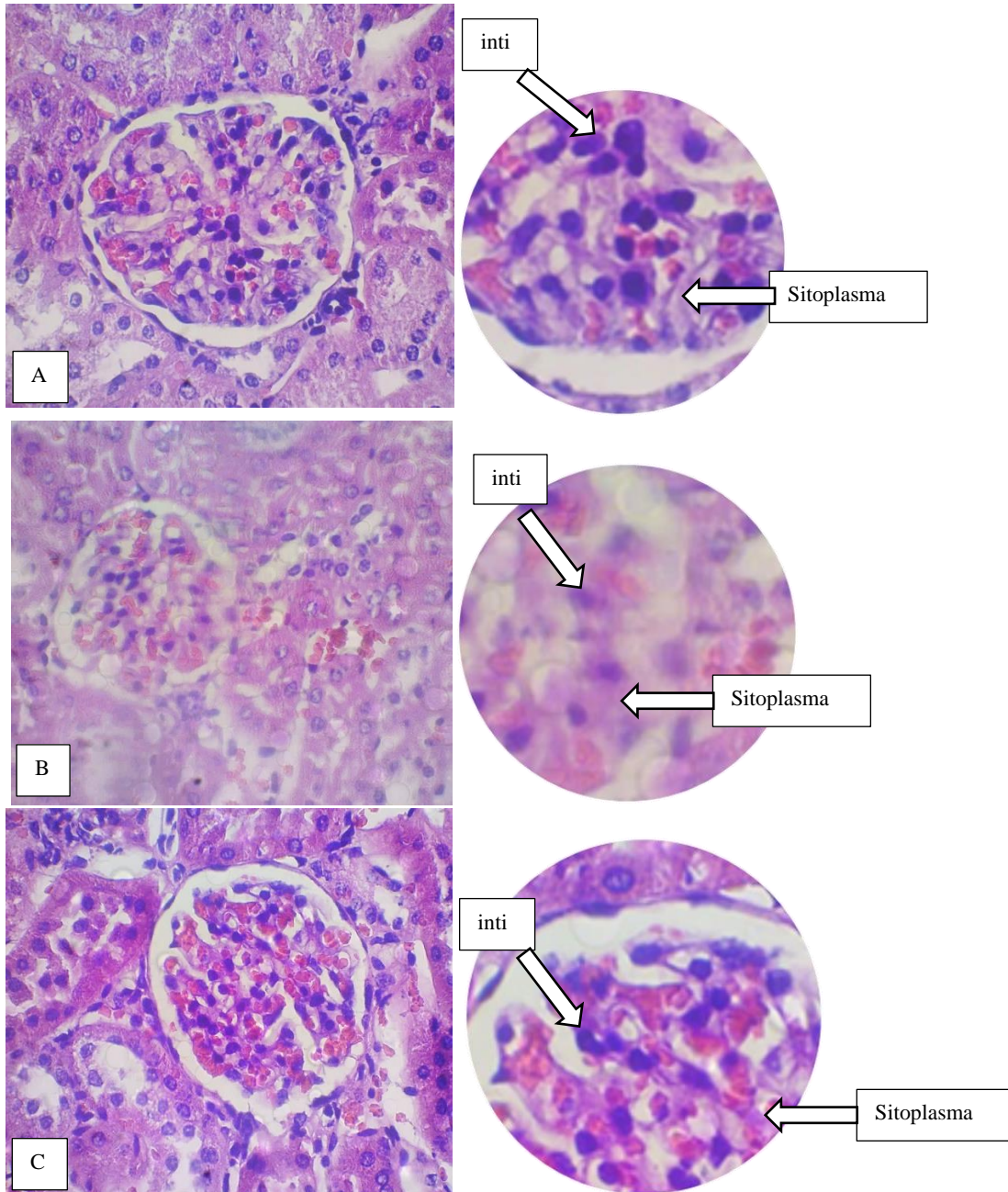
Kategori	Skor	Xylol (kontrol)	Mineral Oil Suhu 50°C dengan waktu 10 Menit	Mineral Oil Suhu Ruang dengan waktu 10 Menit
Tidak Baik	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Kurang Baik	2	0 (0%)	0 (0%)	10 (100%)
Baik	3	10 (100%)	10 (100%)	0 (0%)

Berdasarkan hasil skor penilaian yang telah dilakukan dari pemeriksaan mikroskopik pada jaringan ginjal diberikan skor sebagai berikut :

Skor 1 (tidak baik) jika kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel tidak jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma tidak jelas, serta warna preparat tidak baik menunjukkan hasil 0 sampel.

Skor 2 (kurang baik) kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel terlihat kurang jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma kurang,serta warna preparat kurang baik tetapi masih dapat didiagnosis menunjukkan hasil 100% pada jaringan yang menggunakan mineral oil dengan suhu ruang.

Skor 3 (baik) kualitas warna jaringan pada ginjal, warna biru pada inti sel terlihat sangat jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma, serta warna pada preparat dan sediaan dapat didiagnosis dengan jelas menunjukkan hasil 100% pada jaringan yang menggunakan mineral oil dengan suhu 50°C dan juga xylol sebagai kontrol.



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Hematoksilin eosin menggunakan xylol (A); Hasil Pewarnaan Hematoksilin eosin menggunakan Mineral oil tanpa pemanasan dengan waktu 10 menit (B); Hasil Pewarnaan Hematoksilin eosin menggunakan mineral oil dengan pemanasan 50°C dengan waktu 10 menit (C).

Kualitas pewarnaan hematoksilin eosin preparat jaringan ginjal (glomerulus) dengan menggunakan xylol : tampak inti dan sitoplasma terlihat sangat jelas dan mendapat skor 3 (Gambar 2.A). Pewarnaan hematoksilin eosin preparat jaringan ginjal (glomerulus) dengan menggunakan Mineral oil tanpa pemanasan dengan waktu 10 menit : tampak inti dan sitoplasma sedikit terwarnai namun tampak sedikit blur, kurang jelas dan mendapat skor 2 (Gambar 2.B). Pewarnaan hematoksilin eosin preparat jaringan ginjal (glomerulus) dengan menggunakan mineral oil dengan pemanasan 50°C dengan waktu 10 menit: tampak inti dan sitoplasma terlihat sangat jelas dan mendapat skor 3 (Gambar 2.C).



Available online at : <http://ojs.rajawali.ac.id/index.php/JKR>

Jurnal Kesehatan Rajawali

| ISSN (Print) 2085-7764 | ISSN (Online) 2776-558X |



Berdasarkan hasil pengamatan dan pembacaan secara mikroskopik yang dilakukan dilaboratorium patologi anatomi RS Nasional Diponegoro Semarang pada bulan juni 2021, menunjukkan gambaran mikroskopis preparat pada deparafinisasi dan clearing mineral oil dengan pemanasan 50°C dengan waktu 10 menit akan menunjukkan sediaan yang hasilnya baik dengan warna biru pada inti sel terlihat sangat jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma, serta warna pada preparat dan sediaan dapat didiagnosis dengan jelas sehingga mendapatkan skor 3. Sedangkan preparat pada deparafinisasi dan clearing dengan pewarnaan hematoksilin eosin dengan mineral oil tanpa pemanasan (suhu ruang) dengan waktu 10 menit akan menunjukkan sediaan yang hasilnya kurang baik dengan warna biru pada inti sel terlihat kurang jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma kurang,serta warna preparat kurang baik tetapi masih dapat didiagnosis. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Faridah et al (2019) menyimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kualitas pewarnaan xylol dan minyak mineral dengan pemanasan suhu 50°C dengan waktu 10 menit.

Pewarnaan Hematoksilin eosin terdapat beberapa tahapan, diantaranya tahapan deparafinisasi dan clearing. Deparafinisasi bertujuan untuk melarutkan parafin sehingga cat yang akan mewarnai jaringan dapat masuk dan preparat terwarnai dengan sempurna. Clearing bertujuan untuk menjernihkan dan melepaskan alkohol pada preparat. Kedua tahap ini dibutuhkan pelarut yang dapat melarutkan parafin dan menjernihkan preparat yaitu Xylol larutan yang bersifat nonpolar sehingga dapat dijadikan pelarut dalam proses deparafinisasi dan clearing pada pewarnaan hematoksilin eosin (Buesa & Peshkov,2009). Namun pada penggunaannya xylol dinilai memiliki efek yang buruk bagi kesehatan dan harga yang relatif mahal. Dengan alasan tersebut dibutuhkan pengganti xylol yang lebih aman dan terjangkau yaitu mineral oil. Mineral oil memiliki sifat yang sama dengan xylol yaitu bersifat nonpolar, selain itu mineral oil juga memiliki senyawa aktif Eroschenko, V. P. (2012). Atlas Histologi diFiore. Jakarta: EGC melarutkan sisa parafin pada preparat pada tahap deparafinisasi dan menjernihkan pada tahap clearing saat pewarnaan jaringan dengan hematoksilin eosin. Proses deparafinisasi dan clearing sangat penting dan harus dilakukan dengan baik menggunakan larutan yang dianggap mampu menjadi pengganti xylol yang memiliki sifat non polar dengan mempertimbangkan faktor – faktor yang berpengaruh terhadap pewarnaan karena jika terdapat ketidaksesuaian dalam deparafinisasi dan clearing akan berpengaruh terhadap hasil kualitas mikroskopik pada jaringan.

SIMPULAN

Berdasarkan Hasil Pengamatan pada penelitian dan pembahasan dapat disampaikan bahwa Mineral oil dengan suhu 50°C dengan waktu 10 menit dapat menggantikan xylol sebagai agen deparafinisasi dan clearing pada pewarnaan Hematoksilin-eosin, sehingga hasil penelitian ini sangat bermanfaat mengingat efek toksisitas dari xylol dan harga yang relatif mahal

ACKNOWLEDGEMENT

Terimakasih kepada LP2M Universitas Muhammadiyah Semarang, Program studi D3 TLM Unimus dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Tugurejo Semarang

DAFTAR PUSTAKA

1. Akmalia, U. (2018). Perbandingan Deparafinisasi Menggunakan Xylol dan Detergen Cair Sunlight Terhadap Kualitas
2. Bancroft, J., & Gamble, M. (2008). Theory and Practice of Histological Techniques. 6th edition. Churchill Livingstone, Cina: Elsevier.
3. Barber, G. W. (1942). Mineral-oil treatment of sweet corn for earworm control (Vol. 657). US Department of Agriculture.
4. Buesa, R. J., & Peshkov, M. V. (2009). Histology without xylene. *Annals of diagnostic pathology*, 13(4), 246-256.
5. Costa, P. M. (2017). The handbook of histopathological practices in aquatic environments: Guide to histology for environmental toxicology. Academic Press.
6. Christensen, A. J., & Ehlers, S. L. (2002). Psychological factors in end-stage renal disease: an emerging context for behavioral medicine research. *Journal of consulting and clinical psychology*, 70(3), 712.
7. Eroschenko, V. P. (2012). Atlas Histologi diFiore. Jakarta: EGC
8. Faridah, F., Ariyadi, T., & Nuroini, F. (2019). Perbedaan Densitas Warna Inti dan Sitoplasma Preparat Ginjal Marmut pada Proses Clearing Menggunakan Xylol dengan Minyak Gandapura (*Gaultheria Fragrantissima*) pada Pembuatan Sediaan Jaringan. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus (Vol. 2)*
9. Ganjali, H. (2012). Tissue processing : An overview. *Annals of Biological Research*, 3(11):5374–5378
10. Jacobson, G., & McLean, S. (2003). Biological Monitoring of low level occupational xylene exposure and the role of recent

- exposure . *Annals of Occupational Hygiene* , vol.47,no.4, pp. 331-336.
11. Julianti, (2017). Standart Operasional Prosedur Penilaian Jaringan berdasarkan Hasil Pewarnaan HE di Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi, RSUP dr. Kariadi Semarang
 12. Kalantari, N., Bayani, M., & Ghaffari, T. (2016). Deparaffinization of formalin-fixed paraffin-embedded tissue blocks using hot water instead of xylene. *Analytical Biochemistry*, 507, 71-73.
 13. Kandyala, R., Raghavendra, S. P. C., & Rajasekharan, S. T. (2010). Xylene: An overview of its health hazards and preventive measures. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, 14(1), 1.
 14. Kunhua, W., 2012. A novel non-toxic xylene substitute for histology., 9, pp.43-49
 15. Mayangsari, M. A., Nuroini, F., & Ariyadi, T. (2019). Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut pada Proses Deparafinasi Menggunakan Xylol dan Minyak Zaitun pada Pewarnaan HE. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus (Vol. 2)*.
 16. Morrison, D. S., irgen Schmidt, J., & Paulli, R. (1996). THE SCOPE OF MINERAL OIL IN PERSONAL CARE PRODUCTS ANO ITS ROLE IN COSMETIC FORMULATION. *J Appl Cosmetol*, 14, 111-118.
 17. Negi, A., Puri, A., Gupta, R., Chauhan, I., Nangia, R., & Sachdeva, A. (2013). Biosafe alternative to xylene: A comparative study. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, 17(3), 363.
 18. Ovalle, W. K., Nahirney, P. C., & Netter, F. H. (2013). *Netter's essential histology*.