



**ARTIKEL ILMIAH**

**PENGARUH LAMA DEKALSIFIKASI DENGAN LARUTAN  
HCL 8% TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN SEDIAAN  
SAFRANIN O GIGI TIKUS**

*Karya Tulis Ilmiah Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar  
Ahli Madya Teknologi Laboratorium Medis (AMd.Kes)*



Oleh

**AGNES SRIVEGA YULANDA**

**NIM. 2000222045**

**PRODI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS PROGRAM DIPLOMATIGA**

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN**

**UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA**

**PADANG**

**2023**



## **PENGARUH LAMA DEKALSIFIKASI DENGAN LARUTAN HCL 8% TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN SEDIAAN SAFRANIN O GIGI TIKUS**

Agnes Srivega Yulanda <sup>1</sup>, Dr.TOFRIZAL,P,Hd.,Sp.PA.M.Biomed<sup>2</sup>

Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat, Indonesia

Email : [srivegaagnes12@gmail.com](mailto:srivegaagnes12@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Dekalsifikasi merupakan suatu teknik untuk menghilangkan mineral dari tulang atau jaringan terkalsifikasi lainnya dilakukan untuk observasi histopatologi tulang dan jaringan yang mengandung tulang, sehingga blok paraffin yang berkualitas bagus bisa disiapkan dan melindungi semua elemen mikroskopis yang penting. Dekalsifikasi bertujuan untuk menghilangkan mineral pada tulang agar lembut dan mudah untuk diiris tipis dengan alat mikrotom dan juga pewarnaan jaringan dapat menjadi lebih merata. Dekalsifikasi pada penelitian ini menggunakan larutan HCl 8% karena dapat menghilangkan mineral-mineral keras seperti kalsium dari jaringan dengan cukup efisien dan dapat membantu memelihara integritas struktural sampel, memungkinkan pengamatan yang akurat dan interpretasi yang tepat dari berbagai komponen jaringan. HCl 8% dapat membantu memastikan bahwa pewarnaan histologis pada sampel jaringan akan memberikan hasil yang lebih merata dan optimal. Pewarnaan jaringan pada penelitian ini menggunakan safranin O. Safranin O dapat memberikan kontras yang baik dengan struktur selular tertentu, membantu dalam membedakan berbagai komponen dalam sampel jaringan. Ini dapat membantu dalam mengidentifikasi dan memvisualisasikan dengan jelas sel-sel tertentu atau struktur dalam jaringan.

Kata kunci :	Dekalsifikasi, HCL 8%, Safranin O
--------------	-----------------------------------



## ABSTRACT

Decalcification is a technique to remove minerals from bone or other calcified tissues, performed for histopathological observation of bone and mineral-containing tissues, allowing the preparation of high-quality paraffin blocks while preserving all essential microscopic elements. The purpose of decalcification is to soften the bone by removing its minerals, making it easy to thinly section using a microtome, and also to achieve more uniform tissue staining. Decalcification in this study employs an 8% HCl solution because it efficiently eliminates hard minerals like calcium from the tissue, while maintaining the sample's structural integrity, enabling accurate observations and interpretations of various tissue components. The use of 8% HCl ensures that histological staining of the tissue samples yields more even and optimal results. The tissue staining in this research employs Safranin O. Safranin O provides excellent contrast with specific cellular structures, aiding in distinguishing various components within the tissue sample. This assists in clearly identifying and visualizing specific cells or structures within the tissue.

Keywords :	Decalcification, HCL 8%, Safranin O
------------	-------------------------------------

## PENDAHULUAN

Histologi merupakan suatu ilmu yang mempelajari tentang struktur jaringan secara rinci pada sedian yang telah dipotong hingga tipis menggunakan mikroskop yang berguna untuk mempelajari fungsi fisiologi sel dan bentuk histopatologi untuk menegakkan diagnosis suatu penyakit (Koesoemah, Hetty Anggrawati; Dwiastuti, 2017) . Metode untuk membuat preparat histologi yaitu metode histoteknik yang merupakan suatu teknik dilaboratorium patologi anatomi untuk membuat sajian histologi melalui rangkaian proses jaringan yang dimulai dari pemotongan jaringan pada organ hingga menjadi preparat yang siap diamati dan dianalisa dibawah mikroskop yang digunakan untuk kegiatan eksperimental.

Histoteknik adalah metode atau cara untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisis. Sajian histologi yang baik

dapat digunakan untuk bahan pengajaran dan praktikum mahasiswa untuk mempelajari bentuk dan struktur jaringan tubuh tertentu, sebagai riset untuk mempelajari perubahan jaringan dan organ tubuh hewan percobaan, dan membantu menegakkan diagnosis penyakit yang diderita oleh seorang pasien. Tujuan tersebut dapat tercapai apabila sajian histologi yang dibuat dapat memberikan gambaran tentang bentuk serta susunan sel, inti sel dan sitoplasma, badan inklusi (glikogen, tetesan lemak, pigmen), susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan tubuh tersebut dalam kondisi hidup (Jusuf, 2009).

Salah satu proses pada pembuatan sedian histologi adalah pewarnaan. Pewarnaan merupakan suatu proses pewarnaan jaringan yang telah dipotong sehingga dapat diamati dibawah mikroskop. Pewarna sintesis seperti, eosin bersifat asam yang akan memoles unsur asidofilik jaringan seperti mitokondria. Sitoplasma dan kolagen akan berwarna merah muda saat

diwarnai dengan eosin (Junquera, 2007).

Pewarnaan Safranin O merupakan pewarna biologis yang digunakan dalam histologi dan sitologi. Safranin digunakan sebagai counterstain dalam beberapa protokol pewarnaan, mewarnai inti sel menjadi merah. Ini adalah counterstain klasik pada pewarnaan gram dan pewarnaan endospora. Fungsi pewarnaan safranin pada preparat yaitu untuk mempermudah pengamatan sel atau jaringan secara mikroskopis, karena bahan pewarna tersebut mempunyai afinitas yang tinggi terhadap organel sel sehingga dapat mewarnai sel atau jaringan yang akan di amati.

Safranin digunakan sebagai pewarna dalam beberapa pewarnaan preparat untuk memberika warna merah. penggunaan safranin memiliki kelemahan yaitu harganya yang mahal serta wrnanya sulit terserap pada preparat tertentu (Saroh, 2011). Selain itu pewarnaan safranin juga sulit dalam penyimpanan dan mudah rusak (Sunarmin, 2007). Penggunaan pewarna alternatif adalah salah satu

cara untuk menggantikan pewarnaan safranin yang mahal. Pewarnaan alternatif merupakan pewarnaan pengganti ang lebih efisien untuk menggantikan pewarnaan yang biasanya digunakan ( Gresby, 2013).

Bahan pewarna alternatif yang dapat digunakan adalah bahan pewarna dari alam. Bahan pewarna dari alam dapat diperoleh dari proses filtrasi bagian tanaman seperti buah, biji, daun, akar, kulit kayu, atau kelopak bunga (Nurwati, 2013)

Bersumber pada penjelasan diatas, maka penulis bermaksud melaksanakan penelitian dengan judul “Pengaruh lama dekalsifikasi dengan larutan hcl 8% terhadap kualitas pewarnaan sediaan safranin O gigi tikus”

## **METODE**

Jenis penelitian ini termasuk penelitian *study laboratoric*. Desain penelitian ini menggunakan Static Group Comparsion, yaitu satu kelompok dikenakan perlakuan tertentu kemudian diamati pengaruh hasil dari masing-masing variasi perlakuan pewarnaan. Penilaian kualitas sediaan pewarnaan safranin O. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Agustus 2023, di laboratorium Patologi Anatomi

Universitas Andalas Penilaian mikroskopik sediaan adalah berdasarkan kriteria Bern score.

## HASIL

Pengaruh lama dekalsifikasi dengan larutan hcl 8% terhadap kualitas pewarnaan sediaan safranin O gigi tikus sudah dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Andalas.

Bahan yang diteliti adalah Integritas jaringan Intensitas pewarnaan safranin O. Preparat yang digunakan sebagai sampel uji diambil dari blok parafin gigi tikus menggunakan teknik histologi dengan Lama waktu yang digunakan pada proses dekalssifikasi pada gigi yang diukur dalam jam dan dibagi menjadi 4 perlakuan, yaitu, 6 jam, 12 jam, 24 jam, 48 jam. Lalu dibaca dengan menggunakan mikroskop cahaya. Penelitian dilakukan dengan menggunakan sampel gigi tikus tikus, dengan parameter yang di nilai adalah Integritas jaringan Intensitas pewarnaan safranin O menurut kriteria Bern score.

Untuk menilai pewarnaan dan morfologi sel tulang rawan pada pewarnaan safranin O. Kualitas

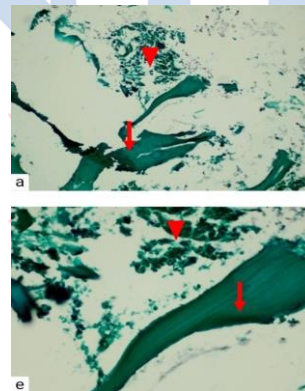
intensitas pewarnaan safranin pada jaringan secara mikroskopic, dinilai menggunakan skor Bern dalam 4 grade 0, 1, 2, 3 dan dikelompokkan menjadi dua yaitu buruk (grade 0-1) dan baik (grade 2-3)

Pewarnaan dengan grade 0 dan 1 dikategorikan sebagai buruk

Pewarnaan dengan grade 2 dan 3 dikategorikan sebagai baik.

### Gambar 1

- Gambaran histologis jaringan tulang gigi tikus yang di dekalsifikasi menggunakan HCL 8% selama 6 jam adalah sebagai berikut :



**Histologi Jaringan Gigi Tikus (*Rattus novvergicus wistar*)**

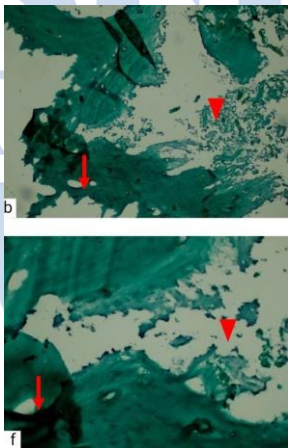
Berdasarkan Gambar 1 Histologi jaringan gigi tikus pada pewarnaan Saffranin O dekalsifikasi 6 jam Penilaian didasarkan dengan kriteria Bern score

Intensitas pewarnaan (1) tulang terwarnai, stroma sukar dinilai Morfologi sel (0). Sel tulang terwarnai, namun sebagian besar morfologi buruk. Sel stroma sukar dinilai

Skor akhir; 0 Buruk

### Gambar 2

Gambaran histologis jaringan tulang gigi tikus yang di dekalsifikasi menggunakan HCL 8% selama 12 jam adalah sebagai berikut :



### Histologi Jaringan Gigi

Tikus (*Rattus novergicus wistar*)

Berdasarkan Gambar 2

Histologi jaringan gigi tikus pada pewarnaan Saffranin 0 dekalsifikasi 12 jam

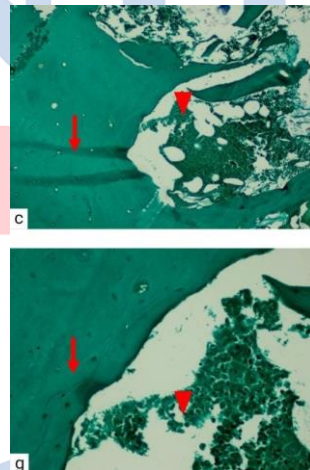
Penilaian didasarkan dengan kriteria Bern score

Intensitas pewarnaan (1) tulang terwarnai, stroma sukar dinilai Morfologi sel (0). Sel tulang terwarnai, namun sebagian besar morfologi buruk. Sel stroma sukar dinilai

Skor akhir; 0 Buruk.

### Gambar 3

Gambaran histologis jaringan tulang gigi tikus yang di dekalsifikasi menggunakan HCL 8% selama 24 jam adalah sebagai berikut :



### Histologi Jaringan Gigi

Tikus (*Rattus novergicus wistar*)

Berdasarkan Gambar 3

Histologi jaringan gigi tikus pada

pewarnaan Saffranin O dekalsifikasi  
24 jam

Intensitas pewarnaan (2) tulang  
terwarnai sel stroma dapat trewarnai  
sedang

Morfologi sel (2). Morfologi sel  
tulang dan sel stroma dapat dinilai

Skor akhir; 2; Baik

pewarnaan Saffranin O dekalsifikasi  
48 jam

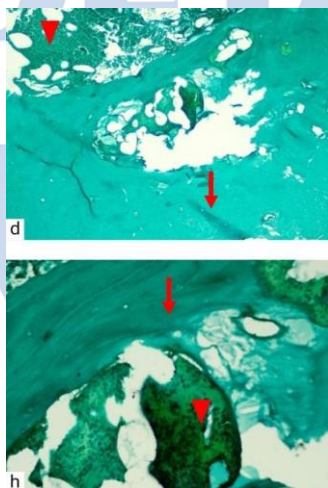
Intensitas pewarnaan (2) tulang  
terwarnai sel stroma dapat trewarnai  
sedang

Morfologi sel (2). Morfologi  
sel tulang dan sel stroma dapat

dinilai , Skor akhir; 2; Baik.

#### Gambar 4

Gambaran histologis  
jaringan tulang gigi tikus  
yang di dekalsifikasi  
menggunakan HCL 8%  
selama 48 jam adalah  
sebagai berikut :



#### Histologi Jaringan Gigi

Tikus (*Rattus novvergicus wistar*)

Berdasarkan Gambar 4  
Histologi jaringan gigi tikus pada

Gambar diatas merupakan  
Histologi jaringan tulang alveolar  
rahang hewan coba memperlihatkan  
trabekula tulang alveolar, (↓) dan  
stroma, (▼). Perlakuan dengan  
dekalsifikasi 6 jam (a, e) konsentrasi  
4% . Safranin O. Panel atas objective  
10x, tengah objective 40x.

#### PEMBAHASAN

Dekalsifikasi merupakan suatu  
teknik untuk menghilangkan mineral  
dari tulang atau jaringan  
terkalsifikasi lainnya dilakukan  
untuk observasi histopatologi tulang  
dan jaringan yang mengandung  
tulang, sehingga blok paraffin yang  
berkualitas bagus bisa disiapkan dan  
melindungi semua elemen  
mikroskopis yang penting. Persoalan  
muncul sealama pematangan dan



pemrosesan jaringan sebab kandungan mineral pada struktur matriks ekstraselular organik padat yang berisi bahan kolagen dan nonkolagen. Mineral, paling utama dalam bentuk garam tidak larut kalsium dan fosfor yang disebut hidroksiapatit (HA), sebanyak enam puluh lima persen dari jaringan tulang. Kristal HA terkait pada matriks protein organik memberikan kekerasan tulang dan menjadi penyebab resistensi saat pemotongan jaringan menggunakan mikrotom biasa. (Culling, C. F. A., 1965).

Metode dekalsifikasi sekarang terkenal dengan prosedur yang melelahkan dan seringnya hilangnya imunokreativitas, yang bisa menghambat pemahaman tentang remodeling tulang saat perkembangan penyakit tulang. Maka dari itu, pengembangan metode dekalsifikasi yang efisiensi merupakan tantangan berkelanjutan untuk pemrosesan berkualitas tinggi dari sampel tulang yang dihaluskan paraf. Protokol dekalsifikasi yang efisien akan memungkinkan penghilangan garam anorganik yang

tidak bisa larut dari jaringan tulang, yang akan melunakkan tulang dan gigi supaya mudah dipotong.

Sekarang, ada beberapa larutan dekalsifikasi yang tersedia yang melingkup asam anorganik dan organik, cairan netral yang mengandung zat pangkhealt, atau campuran larutan. Pendekatan dekalsifikasi yang ideal adalah mempertahankan morfologi dan antigenisitas jaringan. Suhu pemrosesan yang rendah, keasaman rendah dari larutan dekalsifikasi, dan pengocokan sampel secara terus menerus berkontribusi pada dekalsifikasi yang efisien dan menjaga struktur jaringan dan antigenis sampel.

Proses dekalsifikasi dapat menggunakan larutan asam seperti salah satunya yaitu menggunakan asam klorida 8%. Hydrochloric acid (HCL). HCL 8% adalah larutan asam hidroklorik dengan konsentrasi 8% yaitu 8 bagian asam hidroklorik per 100 bagian air. Dapat digunakan dalam pewarnaan jaringan laboratorium untuk mengubah pH dari jaringan yang akan diwarnai. Jaringan dalam keadaan basa. HCL juga dapat digunakan untuk menghilangkan zat-zat yang menghambat proses pewarnaan seperti kalsium dan magnesium.

Namun perlu diingat bahwa penggunaan HCL yang berlebihan dapat merusak jaringan yang akan diwarnai.

Berdasarkan gambar di atas didapatkan hasil Hasil :

Gambaran hasil pewarnaan safranin O pada tulang gigi rahang atas hewan coba memperlihatkan perbedaan pada perbedaan lama waktu dekalsifikasi jaringan.

Pada kelompok dengan dekalsifikasi 6 jam, tampak jaringan tidak terpotong sempurna, sebagian besar jaringan terlepas. Hanya sedikit jaringan trabekula tulang yang dapat dinilai, jaringan lunak terlepas akibat kerusakan saat pemotongan oleh karena jaringan keras dan kesan dekalsifikasi tak sempurna.. intensitas pewarnaan safranin O rendah. Morfology sel buruk

Pada kelompok dekalsifikasi 12 jam, jaringan lebih terdekalsifikasi. Sebagian jaringan lunak stroma dapat dipotong dan ditempelkan. Namun sebagian masih tampak rusak pada pewarnaan. intensitas pewarnaan safranin O rendah. Morfology sel buruk.

Pada kelompok dekalsifikasi 24 jam, jaringan lebih terdekalsifikasi. Jaringan lunak stroma dapat dipotong dan ditempelkan. Sebagian kecil stroma masih tampak rusak pada pewarnaan. intensitas pewarnaan safranin O sedang. Morfology sel sedang.

Pada kelompok dekalsifikasi 48 jam, jaringan lebih terdekalsifikasi. Jaringan lunak stroma dapat dipotong dan ditempelkan. Sebagian kecil stroma masih tampak rusak pada pewarnaan. intensitas pewarnaan safranin O sedang. Morfology sel sedang.

### **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh lama dekalsifikasi dengan larutan hcl 8% terhadap kualitas pewarnaan sediaan safranin O gigi tikus Terdapat perbedaan kualitas pewarnaan safranin O dengan lama dekalsifikasi tulang rahang atas dan gigi hewan coba.

Kualitas pewarnaan safranin O paling baik ditemukan pada lama waktu 24 dan 48 jam.



## DAFTAR PUSTAKA

- Hety Anggrawati, Putri Dwiastuti  
(2017) Histologi Anatomi  
Fisiologi Manusia.  
Kementrian Kesehatan  
Republik Indonesia
- Ahmad Aulia Jusuf. Bagian  
Histologi Fakultas  
Kedokteran Universitas  
Indonesia. 2009
- junqueira, L.C. dan Carneiro, J.  
2007. Histologi Dasar: Teks  
dan Atlas: 278-335. Edisi  
ke-10. Jakarta: EGC.
- Saroh, Siti. 2011. Pemanfaatan  
Ekstrak Kulit Buah Naga  
(*Hylocereus undatus*)  
& Ekstrak Ubi Jalar Varietas  
Ungu (*Ipomea*  
*batatas*) sebagai Pewarna  
Alami Untuk Pengamatan  
Stomata. Skripsi. Fakultas  
Keguruan dan Ilmu  
Kependidikan. Universitas  
Muhammadiyah  
Surakarta.
- Sunarmin. 2007. Safranin. Klaten :  
Polanharjo Press.
- Gresby, Aknesia. 2013. Pemanfaatan  
Filtrat Daun Jati Muda  
(*Tectoria grandis*)  
Sebagai Bahan Pewarna  
Alternatif Pembuatan  
Preparat Maserasi Batang  
Cincau Rambut  
(*Cyclea barbata*).  
Skripsi.  
Malang: Program Studi  
Pendidikan Biologi  
Jurusan Matematika dan Ilmu  
Pengetahuan Alam
- Fakultas Keguruan Dan Ilmu  
Pendidikan  
Universitas Muhammadiyah  
Malang
- Nurwanti, M., Budiono, J. D., & P,  
R. P. 2013. Pemanfaatan  
Filtrat Daun Muda  
Jati Sebagai Bahan  
Pewarnaan Alternatif  
Dalam Pembuatan  
Preparat Jaringan  
Tumbuhan. Jurnal  
Biologi Education , Vol. 2  
No. 1 Hal. 73.
- Bisri, Chasan, dkk. 2014. "Ekstrak  
Kelopak Bunga Rosella  
(*Hibiscus*  
*sabdariffa* L.) Sebagai  
Pewarnaan Alternatif Alami  
Preparat Section Tanaman  
Cabe merah Besar  
(*Capsicum annum*  
L.)". Skripsi. Fakultas  
Keguruan dan Ilmu  
Pendidikan Universitas  
Muhammadiyah  
Malang.
- Dorland's Illustrated Medical  
Dictionary, 32nd Edition.  
(2007)
- Erlich, P. (1877). Untersuchungen  
uber die Farbung der  
Gewebe. F.C.W. Vogel,  
Leipzig.
- Culling, C.F.A (1965). Handbook of  
Histopathological  
Techniques.
- Bancroft, J. D. & Gamble, M.  
(2008). Theory and Practice  
of Histological



Techniques. Churchill  
Livingstone, Edinburgh.

Llewellyn, J. (2007). Bone  
Histology: An  
Anthropological  
Perspective.  
Cambridge University Press,  
Cambridge.

Dewi, A.R., Purwanti, E., &  
Nurwidodo. (2017). Kualitas  
Preparat Section  
Organ Tanaman Srikaya  
(*Annona squamosa*)  
dengan Pewarna Alami Filtrat  
Daun Jati Muda  
(*Tectona grandis*) sebagai  
Sumber Belajar Biologi  
SMA. Seminar Nasional III.  
Universitas  
Muhammadiyah  
Malang.





## SURAT PERNYATAAN PENULIS ARTIKEL

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Agnes Srivega Yulanda  
NIP/ NO. BP : 2000222045  
Instansi/ Afiliasi : Universitas Perintis Indonesia  
Alamat Rumah : Arosuka, batang barus Kab. Solok, Sumatera Barat  
No. telp/ HP : 082284494847  
E-mail : [srivegaagnes12@gmail.com](mailto:srivegaagnes12@gmail.com)

Dengan ini menyatakan bahwa artikel dengan judul : Pengaruh Lama Dekalsifikasi Dengan Larutan Hcl 8% Terhadap Kualitas Pewarnaan Sediaan Safranin O Gigi Tikus

Dengan penulis :

1. Dr. Tofrizal, PhD. Sp.PA
2. Def Primal, M.Biomed.PA
3. Agnes Srivega Yulanda

1. Adalah karya asli bukan merupakan penjiplakan dari sumber manapun baik yang dipublikasikan maupun yang tidak dipublikasikan.
  2. Tidak pernah dipublikasikan sebelumnya atau akan dipublikasikan di media cetak lain.
  3. Telah mendapat persetujuan dari semua penulis.
  4. Isi tulisan tersebut sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.
  5. Telah mendapat persetujuan komite etika atau mempertimbangkan aspek etika penelitian yang dapat di pertanggungjawabkan (khusus untuk artikel penelitian).
  6. Tidak keberatan artikel tersebut di edit oleh dewan redaksi/ penyunting sepanjang tidak merubah maksud dan isi artikel.
  7. Tulisan tersebut kami serahkan ketim Jurnal Kesehatan Perintis dan tidak akan kami tarik kembali.
  8. Tulisan telah ditulis mengikuti template Jurnal Kesehatan Perintis.
- Demikian pernyataan ini saya buat dengans esungguhnya.

Padang, September 2023

**Penulis I**

**Penulis II**

**Penulis III**



(Dr. Tofrizal, PhD.Sp.PA) (Def Primal, M.Biomed.PA) (Agnes Srivega Yulanda)

