



ARTIKEL ILMIAH

PENGARUH JENIS LARUTAN DEKALSIFIKASI TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN SEDIAAN SAFRANIN O TULANG SENDI LUTUT TIKUS

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



PRODI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS PROGRAM DIPLOMA TIGA

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA

PADANG

2023

PENGARUH JENIS LARUTAN DEKALSIFIKASI TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN SEDIAAN SAFRANIN O TULANG SENDI LUTUT TIKUS

Rahma Nur Savitri ¹, dr.Tofrizal,P.hd,Sp.PA,M.Biomed ²

Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat, Indonesia

Email : amaliaananda@gmail.com

ABSTRAK

Analisis histologi jaringan biologis yang terkalsifikasi pada gigi dan tulang tetap sulit, karena gigi dan tulang bersifat jaringan yang keras. Penilaian histologi jaringan yang sangat termineralisasi biasanya memerlukan dekalsifikasi sebagai langkah awal untuk menghilangkan ion kalsium/garam dalam jaringan yang terkalsifikasi untuk menanamkannya kedalam parafin untuk dipotong dan menodai. Dekalsifikasi merupakan proses penghilangan garam kalsium dari jaringan dengan menggunakan bahan kimia, sehingga tulang menjadi lunak, dan dapat dilakukan pembuatan preparat histologis untuk kepentingan pengamatan mikroskopis tulang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis larutan dekalsifikasi terhadap kualitas pewarnaan sediaan safranin O. metode penelitian ini yaitu menggunakan metode eksperimental laboratorium. Hasil pewarnaan saffranin O pada tulang sendi lutut tikus hewan coba memperlihatkan perbedaan pada jenis larutan dekalsifikasi jaringan pada kelompok dengan dekalsifikasi asam nitrat tampak jaringan tidak terpotong sempurna sebagian jaringan terlepas, trabekula tulang dapat terwarnai walaupun tidak intact, tulang rawan terwarnai pucat intensitas pewarnaan Safranin O rendah morfologi sel buruk. Pada kelompok dekalsifikasi HCL 8%, tampak jaringan terpotong baik, trabekula tulang dapat terwarnai, tulang rawan terwarnai pucat, intensitas pewarnaan safranin O rendah, morfologi sel baik. Pada kelompok dekalsifikasi EDTA tampak jaringan sebagian terpotong baik, sebagian kecil rusak, trabekula tulang dapat terwarnai, tulang rawan terwarnai baik, intensitas pewarnaan safranin O sedang, morfologi sel baik. Pada kelompok dekalsifikasi HCL 8% +Asam Nitrat, tampak jaringan terpotong baik, trabekula tulang terwarnai, tulang rawan terwarnai baik, intensitas pewarnaan safranin O sedang, morfologi baik.

Kata kunci : Tulang, Dekalsifikasi, Safranin o



ABSTRACT

Histological analysis of calcified biological tissue in teeth and bones remains difficult, because teeth and bones are hard tissues. Histological assessment of highly mineralized tissue usually requires decalcification as a first step to remove calcium ions/salts in calcified tissue to embed it in paraffin for sectioning, and staining. Decalcification is the process of removing potassium salts from tissue using chemicals, so that the bones become soft, and histological preparations can be made for the purpose of microscopic observation of bones. This research aims to determine the effect of the type of decalcification solution on the quality of the staining of safranin O preparations. Method This research uses laboratory experimental methods. The results of safranin O staining on the knee joint bones of test animals show differences in the type of tissue decalcification solution. In the group with nitric acid decalcification, it appears that the tissue is not completely cut, some of the tissue is detached, the bone trabeculae can be stained even though they are not intact, the cartilage is pale, the intensity of the Safranin O staining is low, the cell morphology is poor. In the 8% HCL decalcification group, the tissue appeared well cut, bone trabeculae could be stained, cartilage was pale, safranin O staining intensity was low, cell morphology was good. In the EDTA decalcification group, the tissue was partially cut well, a small portion was damaged, the bone trabeculae could be stained, the cartilage was stained well, the intensity of the safranin O staining was moderate, and the cell morphology was good. In the 8% HCL + Nitric Acid decalcification group, the tissue appeared well cut, the bone trabeculae were stained, the cartilage was well stained, the safranin O staining intensity was moderate, and the morphology was good.

Keywords : Bone, Decalcification, Safranin o

PENDAHULUAN

Analisis histologi jaringan biologis yang terkalsifikasi pada gigi dan tulang tetap sulit, karena gigi dan tulang bersifat jaringan yang keras. Penilaian histologi jaringan yang sangat termineralisasi biasanya memerlukan dekalsifikasi sebagai langkah awal untuk menghilangkan ion kalsium/garam dalam jaringan yang terkalsifikasi untuk menanamkannya kedalam parafin untuk dipotong dan menodai.

Dekalsifikasi adalah proses penghilangan garam kalsium dari jaringan dengan menggunakan bahan kimia, sehingga tulang menjadi lunak dan dapat dibuat preparat histologis untuk pemeriksaan mikroskopis tulang. (Sangeetha *et al.*, 2013; Gupta *et al.*, 2014).

Penggunaan agen dekalsifikasi yang tidak tepat dapat merusak struktur jaringan, sering terlihat dengan hilangnya pewarnaan sitoplasma dan nukleat jaringan untuk analisis histopatologi. Efek agen dekalsifikasi dipengaruhi oleh konsentrasi larutan, suhu, waktu pempararan, dan tingkat penetrasi. Oleh karena itu, penting untuk menentukan titik akhir dekalsifikasi yang khusus untuk agen yang umum digunakan. Ada beberapa pendekatan telah digunakan untuk menguji titik akhir dekalsifikasi, termasuk pengujian fisik dengan probing atau bending untuk mendeteksi kekerasan, pengujian mekanis dengan tusuk jarum, deteksi kimia ion kalsium dalam larutan dekalsifikasi, uji gelembung, dan deteksi radiografi

kalsium dalam specimen. Namun, kerugian seperti pembuatan artefak, penghancuran detail seluler, dan pembacaan positif palsu dapat ditemui saat menggunakan uji fisik dan kimia.

Dari permasalahan diatas dapat dilihat bahwa proses pembuatan mikroskop sangatlah penting, pengerjaannya membutuhkan ketelitian, kompetensi yang sangat tinggi serta ditunjang dengan kemampuan dan hobi yang dibuat dengan unsur seni yang dimiliki oleh setiap orang. Proses penampilan histologi suatu preparat histologi pada umumnya meliputi beberapa tahapan, yaitu: persiapan jaringan, pengolahan jaringan, eksisi jaringan dan pewarnaan jaringan. Mengingat pentingnya setiap tahapan dalam hasil pemeriksaan, maka sangat penting bagi kami untuk bekerja dengan hati-hati dan teliti agar persiapan sesuai dengan apa yang kami harapkan. (wahyuni, 2013).

Pewarna yang dapat digunakan adalah pewarna yang dapat memperindah jaringan dan organ tumbuhan atau hewan. Proses pewarnaan dapat menggunakan pewarna yang stabil dan sesuai dengan kebutuhan pewarnaan. Pewarna harus dapat diserap oleh bagian-bagian sediaan untuk membedakan dengan jelas bagian-bagian jaringan dan organ, yang dapat dibagi menjadi dua kelompok: pewarna asam dan pewarna basa.

Hemotoxylin dan safranin termasuk dalam zat warna asam, yang dapat menodai inti dan jaringan kayu, sedangkan zat warna dasar,

yaitu eosin dan rapid green, tidak dapat menodai inti dan jaringan kayu, tetapi bagian lain dari kain. (Moebadi, 2011).

Bagaimana dengan pengaruh jenis dekalsifikasi dengan pewarnaan sediaan? Dan apakah berpengaruh dengan hasil pemeriksaan?

Berdasarkan masalah yang ditemukan diatas maka peneliti ingin mengetahui pengaruh jenis larutan dekalsifikasi terhadap kualitas pewarnaan sediaan safranin O pada tulang sendi lutut tikus.

METODE

Jenis penelitian ini termasuk penelitian *study laboratoric*. Desain penelitian ini menggunakan *Static Group Comparison*, 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, dilaboratorium Patologi Anatomi Universitas Andalas. Penilaian mikroskopik sediaan adalah berdasarkan kriteria bern score.

HASIL

Penelitian ini dilakukan di Universitas Andalas. Total sampel yang digunakan 6 sampel disetiap perlakuan dalam penelitian ini.

Tabel 4.1 penilaian skorn bern pewarnaan safranin O pada

tulang sendi lutut tikus

No	kelo mp ok	Perla kuan	Skorn bern						Rerata kualita s	
			Sa mp el 1	Sa mp el 2	Sa mp el 3	Sa mp el 4	Sa mp el 5	Sa mp el 6		
1	Kel om pok 1	Asa m Nitrat	1,5	1,5	1	1,5	1,5	1,5	1,42	Buruk
2	Kel om pok 2	HCL 8%	1,5	2	2	1,5	1,5	1,5	1,67	Baik
3	Kel om pok 3	HCL 8% + Asa m Nitrat	2	2	2,5	2	2,5	2	2,17	Baik
4	Kel om	EDTA	3	2	3	2	2	3	2,50	Baik

Berdasarkan tabel diatas gambaran hasil pewarnaan saffranin O pada tulang sendi lutut tikus hewan coba memperlihatkan perbedaan pada jenis larutan dekalsifikasi jaringan.pada kelompok dengan dekalsifikasi asam nitrat tampak jaringan tidak terpotong sempurna sebagian jaringan terlepas,trabekula tulang dapat terwarnai walupun tidak intact, tulang rawan terwarnai pucat intensitas pewarnaan Safranin O rendah morfologi sel buruk. Pada kelompok dekalsifikasi HCL 8%, tampak jaringan terpotong baik, trabekula tulang dapat terwarnai, tulang rawan terwarnai pucat,intensitas pewarnaan safranin O rendah, morfologi sel baik. Pada kelompok dekalsifikasi EDTA tampak jaringan sebagian terpotong baik, sebagian kecil rusak, trabekula tulang dapat terwarnai, tulang rawan terwarnai baik, intensitas pewarnaan safranin O sedang, morfologi sel baik. Pada kelompok dekalsifikasi HCL 8%

+Asam Nitrat, tampak jaringan terpotong baik, trabekula tulang terwarnai, tulang rawan terwarnai baik, intensitas pewarnaan safranin O sedang, morfologi baik.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian pengaruh jenis dekalsifikasi terhadap kualitas pewarnaan sediaan safranin O tulang sendi lutut tikus maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan kualitas pewarnaan safranin O berdasarkan jenis larutan dekalsifikasi tulang sendi lutut hewan coba.
2. Kualitas pewarnaan safranin O paling baik ditemukan pada kelompok EDTA.

DAFTAR PUSTAKA

- Aigner T, Schmitz N. 2011. Pathogenesis and pathology of osteoarthritis. Dalam: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (Editor). *Rematologi: Osteoarthritis and related disorders*. Ed ke-5. Philadelphia.Mosby Ltd. Hlm.1741-1759.
- Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. edisi ke-5 Edinburgh:
- Churchill Livingstone; 2002.
- Britannica. Diakses pada 2021.Nitric acid.
- Caruso V, Cummaudo M, Maderna E, Cappella A, Caudullo G, Scarpulla V, Cattaneo C. 2017. A comparative analysis of microscopic alterations in modern and ancient undecalcified and decalcified dry bones. *American Journal of Physical Anthropology* 17: 1-7.
- CDC. Diakses pada 2021.Nitric Acid.
- Choi, S. and J.M. Regenstein. 2000. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. *Journal of Food Science*. 65(2): 194-199.
- Fernandes MI, Gaio EJ, Rosing CK, Oppermann RV, Rado PV. 2007. Microscopic qualitative evaluation of fixation time and decalcification media in rat maxillary periodontium. *Brazilian Oral Research* 21(2): 134-139.
- Jeffery, G. H.; Basset, J.; Mendham, J.; Denney, R. C.

- (1989). Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis, 5th ed. Harlow: Longman Scientific & Technical. hlm. 309–312. ISBN 0-582-44693-7.
- K RIDWAN. *Badan Pusat Statistik*. (2018).
- Kapila, S. N., Natarajan, S., Boaz, K., Pandya, J. A., & Yinti, S. R. 2015. Driving the Mineral out Faster: Simple Modifications of the Decalcification Technique. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 9(9): 93-97.
- Keith L. Moore, Anne M.R. Agur, (2002). Anatomi dan fisiologi dasar. Jakarta : EGC. [4]
- Sommerville, I. (2007). Software Engineering, (8th Edition).
- Khristian, E., & Inderiati, D. 2017. Sitohistoteknologi. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Kim, Jong-Joo; Kim, You-Sam; Kumar, Vijay (2019-07-01). "Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies". *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*.
- Malekbala, M.R., S.M. Soltani, S. Kazemi, & S.Hosseini. 2012. Equilibrium and Kinetic Studies of Safranin Adsorption on Alkali-Treated Mango Seed Integuments. *International Journal of Chemical Engineering and Application*. 3: 160-16.
- Mayo Clinic. Diakses pada 2021. Chemical burns: First aid.
- National Pollutant Inventory. Diakses pada 2021. Nitric Acid.
- Nur Rachmansari Novita, dkk (2020). *Pengaruh penggunaan larutan dekalsifikasi Na₂EDTA asam formiat 10% dan biodec-r terhadap kualitas sediaan histologi pada specimen tulang*, POLTEKKES KEMENKES SURABAYA.
- Renshaw S. Immunohistochemistry: methods express. Bloxham: Scion Publishing; 2007.
- Rolls GO, Farmer NJ, Hall JB. Histopathologic techniques. Artifacts in



histological and cytological preparations. Wetzlar: Leica Microsystems; 2008.

Snell, R.S. 2012. Anatomi Klinik Berdasarkan Sistem. Dialihbahasakan oleh. Suguharto L. Jakarta: EGC.

Wang LJ, Tang R, Bonstein T, Bush P, Nancollas GH. Enamel demineralization in primary and permanent teeth. *J Dent Res*. 2006;85(4):359–63.

William L. Jolly (1984), *Modern Inorganic Chemistry*, McGraw-Hill, hlm. 177.





SURAT PERNYATAAN PENULIS ARTIKEL

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Amalia Ananda Fitri
NIP/ NO. BP : 2000222046
Instansi/ Afiliasi : Universitas Perintis Indonesia
Alamat Rumah : Sungai Betung Mudik, kec Gunung Kerinci, kab Kerinci, prov jambi
No. telp/ HP : 085210428053
E-mail : amaliaananda@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa artikel dengan judul : Pengaruh Jenis Larutan Dekalsifikasi Terhadap Kualitas Pewarnaan Sediaan Safranin O Tulang Sendi Lutut Tikus

Dengan penulis :

1. dr.Tofrizal,P.Hd,Sp.PA,M.Biomed
2. Def Primal,M.Biomed
3. Amalia Ananda Fitri

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 etik atau mempertimbangkan aspek etika penelitian yang dapat dipertanggungjawabkan (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 ke tim Jurnal Kesehatan Perintis dan tidak akan kami tarik kembali.
 8. Tulisan telah ditulis mengikuti template Jurnal Kesehatan Perintis.
- Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Padang, September 2023

Penulis I

Penulis II

Penulis III

(dr.Tofrizal,P.hD,Sp.PA,M.Biomed) (Def Primal,M.Biomed) (Amalia Ananda Fitri)

