

BAB I

SKRIPSI

**PERBEDAAN KUALITAS PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN (HE)
ORGAN GINJAL TIKUS PUTIH MENGGUNAKAN XYLOL DAN
EKSTRAKASAM KANDIS SEBAGAI AGEN DEPARAFINISASI**



Oleh :

SEPHIA

MAGRIANI

NIM : 1913353042

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM
MEDISFAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS**

BAB I
INDONESIA PADANG 2023

BAB I



a) Tempat/Tgl: Padang Sago, 02 September 2001; b) Nama Orang Tua: (Ayah) Johan.B (Ibu) Martias; c) Program Studi: DIV Teknologi Laboratorium Medis/TLM; d) Fakultas: Ilmu Kesehatan; e) No NIM: 1913353042; f)Tgl Lulus: ; g) Prediksi Lulus: Pujian ; h) IPK: 3,57; i) Lama Studi: 4 Tahun ; j) Alamat: ; Lubuk Napa, Nagari Batu Kalang, Kecamatan Padang Sago, Kabupaten Padang Pariaman, Provinsi Sumatra Barat

PERBEDAAN KUALITAS PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN (HE) ORGAN GINJAL TIKUS PUTIH MENGGUNAKAN XYLOL DAN EKSTRAK ASAM KANDIS SEBAGAI AGEN DEPARAFINISASI

SKRIPSI

Oleh: Sephia Magriani

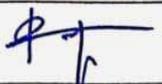
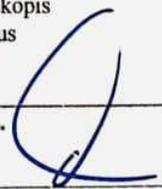
Pembimbing: 1. Def Primal, M.Biomed; 2. Rita Permatasari, M.Biotek

Abstrak

Deparafinisasi merupakan tahap awal pada proses pewarnaan dengan tujuan menghilangkan parafin yang serupa dengan lemak pada jaringan. Asam kandis (*Garcinia xanthochymus*) mengandung senyawa asam hidroksi sitrat yang merupakan turunan asam sitrat yang diduga dapat menghilangkan lemak pada jaringan. Tujuan dari penelitian ini mengetahui kualitas hasil pewarnaan hematoksin eosin preparat ginjal tikus putih yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan asam kandis konsentrasi 3%,5%,7% dengan lama waktu 5 menit dan 10 menit. Penelitian secara eksperimental menggunakan sampel sediaan organ ginjal tikus putih sejumlah 24 preparat. Skor penilaian (1) dinyatakan tidak baik, (2) dinyatakan kurang baik, dan (3) dinyatakan baik. Proses pewarnaan HE pada tahap deparafinisasi menggunakan ekstrak asam kandis konsentrasi 3%,5%,7% dengan lama waktu 5 menit dan 10 menit dan xylol sebagai kontrol. Hasil kualitas sediaan pewarnaan HE preparat ginjal tikus putih yang dideparafinisasi mendapatkan hasil yang paling baik yaitu preparat asam kandis konsentrasi 7% dalam waktu 10 menit mendapat skor 2 dengan (*mean rank=14,00*). Sedangkan hasil yang didapatkan paling tidak baik yaitu preparat asam kandis konsentrasi 3% waktu 5 menit mendapatkan skor 1 dengan (*mean rank=8,00*). Nilai *mean rank* yang semakin tinggi menunjukkan bahwa kualitas lebih baik, begitu pula sebaliknya jika *mean ranknya* semakin rendah menunjukkan kualitas pewarnaan preparat yang tidak baik juga. Analisis data menggunakan *Shapiro wilk* didapatkan nilai signifikan p sebesar 0,000 (<0,05), maka dilanjutkan dengan uji *Kruskall Wallis* dan mendapatkan nilai signifikan p sebesar 0,003 (<0,05). Kesimpulan hasil adalah pewarnaan yang mendekati kualitas sediaan xylol yaitu asam kandis 7% dengan waktu 10 menit. Saran yang dapat diberikan yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan deparafinisasi ekstrak asam kandis dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan lama waktu yang lebih lama.

Kata Kunci : Deparafinisasi, Asam Kandis, Pewarnaan HE, Kualitas Mikroskopis

Skripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan lulus pada Agustus 2023 Abstrak telah disetujui oleh penguji.

Tanda Tangan	1. 	2. 	3. 
Nama Terang	Def Primal, M,Biomed	Rita Permatasari, M.Biotek	dr. Tofrizal, Sp.PA,M.Biomed, PhD

Mengetahui
Ketua Program Studi :
Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si

BAB I

ENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Histologi merupakan ilmu yang mempelajari tentang jaringan dan teknik yang disebut dengan mikroteknik atau histoteknik (Sari & Rahmawati, 2021). Teknik tersebut dimulai dari pemotongan pada jaringan untuk mendapatkan organ-organ tertentu kemudian mengolahnya hingga menjadi sampel yang siap untuk diperiksa, serta diamati dibawah mikroskop (Sari & Rahmawati, 2021). Langkah terakhir dalam pembuatan preparat histologi adalah pewarnaan (Staining). Pewarnaan adalah proses pewarnaan jaringan yang tujuannya untuk memudahkan pengamatan dibawah mikroskop supaya bagian-bagian pada jaringan seperti sitoplasma dan nukleus terlihat jelas dan dapat dibedakan. Pewarnaan yang paling umum digunakan yaitu Hematoksilin-Eosin (HE) (Mayangsari et al., 2019). Hematoksilin bersifat basa, artinya hematoksilin akan mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoksilin mewarnai inti sel dan struktur asam lainnya dari sel menjadi biru. Sementara itu eosin bersifat asam sehingga akan mewarnai komponen jaringan asidofilik seperti granula sekretoris, mitokondria, dan kolagen bewarna merah muda (Khoiri et al., 2022).

Langkah pewarnaan hematoksilin eosin pada sediaan jaringan meliputi deparafinisasi, rehidrasi, pewarnaan hematoksilin, dehidrasi, pewarnaan eosin, clearing dan fiksasi. Langkah pertama dalam pewarnaan adalah proses deparafinisasi.

Deparafinisasi merupakan langkah awal dalam proses pewarnaan (staining) yang tujuannya untuk menghilangkan parafin dari kaca atau jaringan (Rusiana et al., 2021). Tujuan deparafinisasi adalah untuk menghilangkan sisa parafin dari jaringan agar zat warna menyerap secara maksimal kedalam jaringan. Jika parafin masih tersisa pada jaringan maka pewarnaan tidak akan merata sepenuhnya (Sari & Rahmawati, 2021). Reagen yang paling umum digunakan pada proses deparafinisasi adalah xylol.

Xylol merupakan bahan kimia dengan rumus $C_6H_4(CH_3)_2$ yang memiliki nama lain xylol dan dimetilbenzene (Yulya Putri Wulandari, Fitri Nuroini, 2022). Xylol terdiri atas tiga campuran isomer hidrokarbon aromatic yang terikat dengan benzene, banyak digunakan dalam bidang industri dan juga teknologi kesehatan sebagai agen pelarut. Xylol banyak digunakan karena memiliki banyak keunggulan, seperti sebagai pelarut yang baik untuk lilin parafin dan larutan organik. Xylol memiliki sifat mudah menguap dan mudah terbakar, dan xylol memiliki kelemahan yaitu bersifat racun dalam jangka panjang yang dapat menimbulkan bahaya bagi tubuh manusia seperti mual, iritasi mata, muntah bila terhirup, harganya relatif mahal, beracun, dan menyebabkan penyusutan jaringan jika direndam terlalu lama (Rusiana et al., 2021). Oleh karena itu, pencarian agen deparafinisasi pengganti xylol yang mampu menghemat biaya, waktu, serta dapat meningkatkan kualitas lingkungan sangat dibutuhkan. Salah satu larutan alternatif pengganti xylol sebagai agen deparafinisasi jaringan yang sudah diteliti sebelumnya. Menurut penelitian Faiz Laila Rusdiana et.,all (2021) menggunakan daun belimbing wuluh yang mengandung

senyawa saponin triterpenoid yang dapat melunturkan lemak asam sitrat yang mampu menghilangkan parafin sebagai pengganti xylol dan didapatkan hasil bahwa kualitas sediaan preparat pewarnaan HE menggunakan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 5% dan 7,5% memiliki perbedaan jika dibandingkan dengan *xylol* dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3%. Kualitas sediaan preparat pewarnaan HE antara *xylol* dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3% tidak terdapat perbedaan. Sehingga daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3% baik digunakan sebagai agen deparafinisasi pengganti *xylol* pada proses deparafinisasi pada pewarnaan HE. Asam kandis memiliki ciri khas yang berasa asam serta juga mengandung senyawa asam hidroksi sitrat (HCA) yang mampu melarutkan lemak.

Asam kandis (*Garcinia xanthochymus*), termasuk ke dalam tanaman genus *Garcinia* yang tersebar di daerah tropis Asia (Fitriana., 2014). Di Indonesia asam kandis banyak terdapat di Kalimantan, Sumatra, Jawa dan Bali. Buah asam kandis mempunyai kandungan fraksi etil asetat yang mengandung senyawa golongan fenolik, flavonoid, alkaloid, asam hidroksi sitrat, saponin dan asam askorbat, serta memiliki peran sebagai antioksidan. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (Rusiana et al., 2021).

Berdasarkan penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian terhadap beberapa larutan ramah lingkungan sebagai agen deparifinasi pengganti xylol. Maka dari itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai “Perbedaan Kualitas

Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) Organ Ginjal Tikus Putih Menggunakan Xylol dan Ekstrak Asam Kandis Sebagai Agen Deparafinisasi” .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang diatas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah untuk melihat Perbedaan Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) Organ Ginjal Tikus Putih Menggunakan Xylol dan Ekstrak Asam Kandis Sebagai Agen Deparafinisasi.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui Perbedaan Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) Organ Ginjal Tikus Putih Menggunakan Xylol dan Ekstrak Asam Kandis Sebagai Agen Deparafinisasi.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui kualitas gambaran mikroskopis sediaan ginjal tikus putih yang dideparafinisasi menggunakan ekstrak asam kandis dengan konsentrasi 3%,5%,7% dengan waktu 5 menit dan 10 menit.
2. Untuk menganalisis konsentrasi 3%,5%, 7% ekstrak asam kandis yang paling baik yang bisa dijadikan sebagai pengganti xylol pada tahap deparafinisasi.
3. Untuk menganalisis lama waktu ekstrak asam kandis 5 menit dan 10 menit yang paling baik yang bisa dijadikan sebagai pengganti xylol pada tahap deparafinisasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah keterampilan mengenai pemeriksaan sediaan jaringan histopatologi serta dapat memberikan sebuah inovasi bagi praktikan di laboratorium terkait mengenai larutan alternatif yang dapat digunakan sebagai pengganti xylol dalam proses deparafinisasi jaringan histopatologi.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Memberikan kontribusi tentang ada atau tidaknya pengaruh Kualitas Perbedaan Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) Organ Ginjal Tikus Putih Menggunakan Xylol dan Ekstrak Asam Kandis Sebagai Agen Deparafinisasi.

1.4.3 Bagi Tenaga Teknis Laboratorium

Sebagai bahan informasi dan masukan untuk teknisi laboratorium patologi anatomi mengenai prosedur pewarnaan Hematoksilin Eosin terutama deparafinisasi dapat juga menggunakan asam kandis, serta dapat melihat gambaran hasil yang didapat dari proses tersebut.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Kualitas Hasil Mikroskopis

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada seluruh total preparat, jaringan yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan ekstrak asam kandis 3%, 5%, 7% dengan waktu 5 menit mendapatkan penilaian yang baik dengan skor 3 yaitu pada xylol yang dijadikan sebagai kontrol. Sedangkan pada ekstrak asam kandis konsentrasi 3% dengan waktu 5 menit dan 10 menit mendapatkan penilaian tidak baik dengan skor 1. Kemudian pada ekstrak asam kandis 5% dengan lama waktu 5 menit dan 10 menit juga mendapatkan penilaian tidak baik dengan skor 1. Pada ekstrak asam kandis 7% dengan waktu 5 menit mendapatkan penilaian tidak baik dengan skor 1. Sedangkan pada ekstrak asam kandis 7% dengan waktu 10 menit mendapatkan penilaian kurang baik dengan skor 2. Presentase nilai tersebut didapat berdasarkan kriteria penilaian mikroskopis mulai dari bentuk sel, keseragaman warna, inti sel, dan sitoplasma pada setiap sediaan kemudian diambil nilai rata-rata keseluruhan total preparat tiap kelompok perlakuan.

5.2 Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Perbedaan hasil pada larutan deparafinisasi ekstrak asam kandis konsentrasi 3%,5%,7% dengan waktu 5 menit dan 10 menit disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya antara lama waktu, konsentrasi,warna dan jaringan. Jika dibandingkan

dengan sediaan yang dideparafinisasi menggunakan xylol hasil mikroskopisnya memiliki afinitas jaringan yang baik dalam menyerap zat warna serta dalam processing jaringan dan pewarnaan dilakukan dengan baik, sedangkan pada deparafinisasi menggunakan ekstrak asam kandis konsentrasi 3%, 5% dan 7% afinitas antara warna dan jaringan tidak baik. Dari penelitian sebelumnya oleh (Rusiana et al., 2021) tentang perbedaan kualitas preparat ginjal tikus putih yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan daun belimbing wuluh dan asam sitrat dengan konsentrasi 3%,5%,7% didapatkan hasil tidak adanya perbedaan belimbing wuluh dan asam sitrat konsentrasi 3% dengan xylol sebagai kontrol. Karena faktor pH pada asam sitrat (citrun) pada konsentrasi 3% dengan nilai pH 3 yang memiliki nilai yang hampir mendekati nilai pH 5 pada *xylol* sebagai kontrol. Sehingga baik digunakan sebagai agen deparafinisasi pengganti xylol pada proses deparafinisasi. Sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan ekstrak asam kandis konsentrasi 7% dengan waktu 10 menit didapatkan hasil kurang baik, karena pada ekstrak asam kandis mengandung senyawa yang menyerupai agen fiksasi. Menurut penelitian (Adila et al., 2022) Asam kandis mengandung asam organik berupa asam hidroksisitat (HCA). Menurut (Rusiana et al., 2021) asam sitrat merupakan asam organik lemah yang mudah didapat dipasaran dengan harga terjangkau, selain berguna sebagai bahan campuran makanan, asam sitrat juga berfungsi sebagai cleaning solution yang ramah lingkungan. Serta asam sitrat dapat melunturkan lemak. Dan asam kandis memiliki kandungan saponin, struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (Rusiana et al.,

2021). Adanya perbedaan hasil antara penelitian sebelumnya dengan penelitian yang telah dilakukan

5.3. Uji Analisa Data

Berdasarkan dari analisa data menggunakan SPSS yang telah dilakukan pengujian hipotesa dengan cara melihat normalitas data. Signifikan data yang didapatkan tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan pengolahan data *Kruskal Wallis*. Diperoleh nilai *mean rank* yang mencerminkan dari kualitas sediaan histology ginjal tikus yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan asam kandis dari , nilai mean rank yang semakin tinggi menunjukkan bahwa kualitas lebih baik, begitu pula sebaliknya jika *mean ranknya* semakin rendah menunjukkan kualitas pewarnaan preparat yang tidak baik juga. Pada penelitian ini didapatkan persampel 6 preparat yang memberikan kualitas yang tidak baik berdasarkan nilai *mean rank* pada ekstrak asam kandis 3% dengan waktu 5 menit (*mean rank* = 8,00) dan waktu 10 menit (*mean rank* = 8,00). Pada ekstrak 5% dengan waktu 5 menit (*mean rank* = 8,00) dan waktu 10 menit (*mean rank* = 8,00). Sedangkan pada ekstrak 7% dengan waktu 5 menit (*mean rank* = 11,00) dan waktu 10 menit (*mean rank* = 14,00). Hasil menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap larutan pembanding. Namun berdasarkan nilai mean rank, kualitas pewarnaan yang hampir mendekati kualitas pembanding adalah larutan xylol dan asam kandis 7% dengan waktu 10 menit. Nilai *mean rank* yang semakin tinggi menunjukkan kualitas pewarnaan yang semakin baik yaitu mendekati kategori pewarnaan yang hampir baik,

yaitu ekstrak asam kandis % dengan waktu 10 menit. Dari hasil uji pada penelitian ini menggunakan *Kruskall Wallis* menunjukkan nilai signifikan p sebesar 0,003 ($<0,05$) maka H_a diterima dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan kualitas mikroskopis ginjal tikus putih yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan ekstrak asam kandis konsentrasi 3%, 5%, 7% dengan waktu 5 menit dan 10 menit.