

SKRIPSI

**PENGARUH LAMA WAKTU CLEARING PADA KUALITAS PEWARNAAN
HEMATOXYLIN EOSIN (HE) JARINGAN HATI TIKUS**



Oleh :
VADILA RISWANI
NIM:1913353050

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**



a) Tempat/Tgl: Teratak Air Hitam 08 November 2001; b) Nama Orang Tua: (Ayah) Riduan (Ibu) Riza Satipa; c) Program Studi: DIV Teknologi Laboratorium Medis/TLM; d) Fakultas: Ilmu Kesehatan; e) NIM: 1913353050; f)Tgl Lulus: ; g) Prediksi Lulus: ; h) IPK: 3,64 ; i) Lama Studi: 4 tahun ; j) Alamat: ; Teratak Air Hitam

PENGARUH LAMA WAKTU CLEARING TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN (HE) JARINGAN HATI TIKUS
SKRIPSI

Oleh: Vadila Riswani

Pembimbing: 1. dr Tofrizal, Sp.PA, M.Biomed, PhD ; 2. Rita Permatasari, M.Biotek

Abstrak

Clearing yaitu suatu tahapan untuk mengeluarkan sisa alkohol dari jaringan dan menggantikannya dengan larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Pewarnaan HE merupakan kombinasi dari 2 pewarnaan yaitu pewarnaan hematoxylin dan eosin. Jaringan hati digunakan pada penelitian ini dikarenakan jaringan hati merupakan organ terbesar dan umum digunakan pada penelitian klinis. Penelitian ini bertujuan untuk menilai gambaran mikroskopis jaringan hati yang diwarnai dengan HE dengan lama waktu 4, 6, dan 8 jam. Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratorium desain penelitian menggunakan *static group comparison*. Kelompok eksperimen adalah lama waktu clearing selama 4, 6, dan 8 jam, sebagai kontrol adalah lama waktu clearing selama 30 menit. Skor 1 menunjukkan hasil yang tidak baik karena warna biru tua pada inti sel tidak jelas, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas, dan warna pada preparat tidak seragam sehingga tidak bisa di diagnosis, skor 2 menunjukkan hasil yang kurang baik karena warna biru pada inti sel kurang jelas, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang jelas, dan warna pada preparat kurang seragam tetapi masih bisa di diagnosis, skor 3 menunjukkan hasil yang baik karena warna biru terang pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat, dan warna pada preparat seragam sehingga bisa di diagnosis. Hasil kualitas sediaan yang telah di clearing selama 30 menit yang merupakan kontrol menunjukkan hasil yang baik (mean rank = 19,50). Hasil kualitas sediaan yang telah di clearing selama 4 jam dan 8 jam menunjukkan hasil yang kurang baik (mean rank = 12,17). Hasil kualitas sediaan yang telah di clearing selama 8 jam menunjukkan hasil yang tidak baik (mean rank = 6,17). Nilai mean rank yang semakin tinggi menunjukkan hasil kualitas pewarnaan HE yang baik, begitupula sebaliknya. Kesimpulan dari penelitian ini terdapat perbedaan hasil dari clearing dengan lama waktu 30 menit, 4 jam, 6 jam, dan 8 jam.

Kata kunci : Clearing, Hematoxylin-Eosin, Jaringan Hati

Skrripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan lulus pada 23 Agustus 2023 Abstrak telah disetujui oleh penguji.

Tanda Tangan	1.	2.	3.
Nama Terang	dr. Tofrizal, Sp.PA, M.Biomed, PhD	Rita Permatasari, M.Biotek	dr. Meta Zulyati Oktora, Sp.PA, M.Biomed

Mengetahui

Ketua Program Studi :

Dr. Apt. Dewi Yudianta Shinta, M.Si (

BAB I

PENDAHULUAN

1.2 Latar Belakang

Clearing merupakan salah satu tahapan yang digunakan untuk membersihkan sisa-sisa alkohol dengan agen tertentu sebelum *embedding* dengan lilin parafin (Vinda Refalita, 2020). Clearing bertujuan untuk membuat jaringan menjadi jernih dan transparan sehingga mudah diidentifikasi di bawah mikroskop. Biasanya air pada jaringan akan tergantikan oleh alkohol pada tahapan dehidrasi, namun tidak dapat bersatu dengan parafin, sehingga diperlukan tahap yang bisa memudahkan penyerapan parafin pada jaringan tahapan tersebut adalah *clearing* atau penjernihan (Vinda Refalita, 2020).

Pewarnaan HE merupakan pewarnaan utama dalam bidang histologi. Pewarnaan HE merupakan kombinasi dari dua pewarnaan yaitu hematoxylin dan eosin. Hematoxylin digunakan untuk mewarnai inti sel atau nukleus yang akan memberikan warna biru, sedangkan eosin mewarnai sitoplasma yang akan memberikan warna merah atau merah muda (Mescher, 2010). Kombinasi pewarnaan ini pertama kali ditemukan oleh A. Wissowzsky pada tahun 1876

Jaringan hati digunakan pada penelitian ini dikarenakan jaringan hati merupakan organ terbesar dan umum digunakan pada penelitian klinis (Vinda Refalita, 2020). Secara histologis, jaringan hati tersusun dari sel hepatosit, sel Duktus billaris, dan sel vaskuler (Sander,2017).

Dari penelitian yang sudah dilakukan oleh Vinda Refalita (2020) tentang “gambaran mikroskopis sediaan jaringan dengan waktu clearing 2 jam dan 4 jam”. Didapatkan hasil gambaran mikroskopis sediaan jaringan dengan waktu clearing 4 jam menunjukkan rata-rata inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna yang baik. Gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit dengan waktu clearing 2 jam pada suhu ruang menunjukkan rata-rata inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna yang kurang baik.

Oleh karena itu, penulis tertarik untuk meneliti tentang “pengaruh lama waktu clearing pada kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) jaringan hati tikus”. Tujuannya adalah untuk melihat apakah dengan perlakuan lama waktu clearing pada jaringan hati menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) akan membuat kualitas pewarnaan jaringan hati yang baik atau malah membuat kualitas pewarnaan jaringan hati yang buruk.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimanakah pengaruh lama waktu clearing pada kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) jaringan hati?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui lama waktu clearing pada pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) jaringan hati

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk menilai kualitas gambaran mikroskopis sediaan jaringan dengan lama waktu 30 menit, 4 jam, 6 jam dan 8 jam
2. Untuk menganalisis pengaruh lama waktu clearing dengan 4 perlakuan waktu yaitu 30 menit, 4 jam, 6 jam dan 8 jam

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Sebagai latihan bagi penulis untuk membuat suatu karya tulisan ilmiah. Serta sebagai sarana belajar untuk menerapkan ilmu yang didapat selama kuliah di universitas perintis indonesia terkhusus pada program studi Diploma Empat Analisis Kesehatan dan menambah wawasan tentang informasi waktu yang bagus untuk clearing pada pewarnaan HE pada jaringan hati.

1.4.2 Bagi Institusi

Sebagai literatur di bidang sitohistoteknologi bagi institusi kesehatan khususnya program studi analisis kesehatan serta sebagai bahan bacaan di perpustakaan untuk menambah informasi bagi mahasiswa/i Universitas Perintis Indonesia.

1.4.3 Bagi Tenaga Teknis Laboratorium

Dapat menjadikan ini sebagai informasi yang akurat dalam menentukan waktu yang bagus untuk clearing pada pewarnaan HE pada jaringan hati.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Mikroskopis Jaringan Hati Tikus

Dari penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan 4 kelompok perlakuan clearing yang berbeda yaitu clearing dengan selama 30 menit, 4 jam, 6 jam dan 8 jam. Penggunaan kelompok perlakuan yang berbeda ini bertujuan untuk melihat ada atau tidak adanya pengaruh lama waktu clearing pada pewarnaan HE jaringan hati tikus.

Berdasarkan hasil dari gambaran mikroskopis dan hasil penilaian kualitas sediaan jaringan hati tikus. Di dapatkan pada perlakuan clearing selama 30 menit menunjukkan hasil baik, dimana terdapat warna biru terang pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat, dan warna pada preparat seragam sehingga bisa untuk di diagnosis. Pada perlakuan clearing 4 jam menunjukkan hasil kurang baik, dimana warna biru pada inti sel kurang jelas, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang jelas, dan warna pada preparat kurang seragam, tetapi masih bisa di diagnosis. Pada perlakuan clearing 6 jam menunjukkan hasil kurang baik, dimana warna biru pada inti sel kurang jelas, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang jelas, dan warna pada preparat kurang seragam, tetapi masih bisa di diagnosis. Pada perlakuan clearing 8 jam menunjukkan hasil tidak baik, dimana warna biru tua pada inti sel tidak jelas, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas, tampak sitoplasma menjadi jernih dan menyulitkan analisis.

Pembuatan sediaan jaringan merupakan tahapan berurutan untuk memudahkan pemotongan, pewarnaan dan pengamatan jaringan sebagai penegak diagnosa (Carson, 2009). Clearing merupakan tahapan penting dalam pemrosesan jaringan untuk menggantikan sisa reagen dehidrasi sebelum di infiltrasi dengan parafin (Alwahaibi et.al, 2018). Agen *clearing* dipilih untuk menggantikan agen dehidrasi agar dapat berikatan dengan parafin. Dalam proses infiltrasi dengan suhu 58-60⁰C agen *clearing* akan menguap kemudian parafin akan mengisi matriks jaringan. Apabila jaringan mendapatkan *clearing* yang sempurna maka hasilnya akan transparan atau tembus cahaya.

Jaringan yang dilakukan *clearing* menggunakan *xylol* akan menunjukkan hasil yang baik karena *xylol* memiliki daya penetrasi yang cepat serta senyawa yang terkandung didalamnya dapat berfungsi sebagai dealkoholisasi yang menghilangkan sisa-sisa alkohol dari proses dehidrasi sehingga jaringan menjadi jernih dan tembus pandang (Maulidya, Anggi. 2019). Penggunaan *xylol* 2-4 jam menunjukkan kondisi yang kurang baik dalam menjernihkan jaringan, paparan *xylol* yang terlalu lama akan dapat mengakibatkan jaringan menjadi keras dan rapuh sehingga sulit untuk dipotong dan sulit untuk di analisis dibawah mikroskop (Alwahaibi et al 2020).

5.2 Gambaran Kualitas Jaringan Hati Tikus

Jaringan yang di *clearing* menggunakan *xylol* akan memberikan hasil yang baik, karena *xylol* memiliki daya penetrasi yang cepat. Kandungan senyawa yang terdapat di dalam akan berfungsi sebagai proses penghilangan sisa alkohol dari

jaringan dan menggantikannya dengan larutan yang dapat berikatan dengan paraffin, sehingga jaringan terlihat jernih dan tembus pandang. (maulidya, Anggi, Nur, 2019). Proses pengeluaran alkohol dari dalam jaringan sangat krusial, karena apabila dalam jaringan masih tertinggal sedikit alkohol maka parafin tidak akan bisa masuk kedalam jaringan, sehingga menyebabkan jaringan sulit untuk dipotong di mikrotom (kallista mauren, 2019).

Hasil inti sel yang berwarna biru disebabkan reaksi ikatan antara reagen hematoxylin yang bersifat basa dengan inti sel dengan pH asam karena adanya Asam Ribonukleat (RNA) sedangkan warna merah pada sitoplasma dikarenakan reaksi ikatan antara eosin yang bersifat asam sehingga mampu mewarnai sitoplasma yang bersifat basa (Vinda Refalita, 2020).

Hasil inti sel yang kurang jelas disebabkan karena pewarnaan Hematoxylin tidak mewarnai bagian inti sel dengan sempurna, hal ini bisa disebabkan oleh proses *clearing* yang belum sempurna maupun kesalahan dalam tahap processing jaringan. Sedangkan sitoplasma dan jaringan ikat yang kurang jelas disebabkan oleh *clearing* yang adekuat sehingga membuat sitoplasma menjadi pucat (Erna Tri Prasetyawati, 2021).

Hasil yang kurang baik juga disebabkan oleh ketebalan pemotongan jaringan, biasanya jaringan dengan ketebalan <3 mm dibersihkan dengan selama 90 menit dalam suhu ruang, sedangkan jaringan antara 3 mm dan 5 mm dibersihkan dalam dua perubahan masing-masing selama 2-3 jam di suhu kamar, kemudian jaringan dengan

ketebalan 5 mm dan 8 mm dibersihkan menjadi dua perubahan masing-masing selama 3-5 jam di suhu kamar (Onyegebula, K.C et.al, 2017).

Hasil dari kualitas pewarnaan yang belum maksimal, berkemungkinan pada saat pewarnaan *xylol* dengan hematoxylin-eosin jaringan yang telah melewati tahap processing jaringan masih mengandung parafin, sedangkan di proses pewarnaan banyak menggunakan air, oleh sebab itu sebelum melakukan pewarnaan parafin dihilangkan dulu secara sempurna supaya jaringan tawarnai dengan sempurna (Khristian, 2017).

Pewarnaan sitoplasma dan jaringan ikat oleh eosin berperan sebagai pewarna asam yang mewarnai komponen jaringan yang yang tidak berinti sehingga bewarna merah sampai dengan merah muda. Pada pewarnaan sitoplasma fiksasi yang tidak adekuat juga bisa mempengaruhi hasil yang kurang baik atau hasil yang tidak baik. Akibat dari fiksasi yang buruk akan menyebabkan sitoplasma menjadi lebih pucat dan samar. Warna pada preparat yang tidak seragam juga bisa disebabkan oleh sitoplasma yang tidak tawarnai eosin, dehidrasi dengan alkohol terlalu lama, pemotongan yang terlalu tipis, waktu pewarnaan yang tidak adekuat (Aryadi dan Suryono, 2017).

5.3 Analisa Data

Berdasarkan dari analisa data menggunakan SPSS yang telah dilakukan pengujian hipotesa dengan cara melihat normalitas data (data tidak berdistribusi normal), dilanjutkan dengan uji *kruskal-wallis*. Diperoleh nilai *mean rank* yang merupakan cerminan dari kualitas sediaan hati tikus yang telah diberikan perlakuan

clearing selama 30 menit yang merupakan kontrol, 4 jam, 6 jam, 8 jam. Semakin tinggi nilai mean rank menunjukkan bahwa nilai kualitas pewarnaan semakin baik, dan semakin rendah nilai mean rank menunjukkan bahwa nilai kualitas pewarnaan semakin tidak baik. Pada penelitian ini menggunakan 6 preparat *clearing* 30 menit (mean rank = 19,50), pada *clearing* dengan waktu 4 jam menggunakan 6 preparat (mean rank = 12,17), dan pada *clearing* 6 jam menggunakan 6 preparat (mean rank = 12,17), dan pada *clearing* 8 jam menggunakan 6 preparat (mean rank = 6,27). Ini menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan terdapat perbedaan, dimana pada *clearing* 30 menit yang merupakan kontrol menunjukkan hasil yang baik, pada *clearing* 4 dan 6 jam menunjukkan hasil yang kurang baik, sedangkan pada *clearing* menunjukkan hasil yang tidak baik. berarti hasil yang paling mendekati dengan kontrol adalah perlakuan *clearing* 4 jam dan 6 jam dengan menunjukkan hasil yang kurang baik

