

Mikroskopis Preparat Mus Musculus Jaringan Ginjal yang Dideparafinisasi dengan Minyak Zaitun pada Pengecatan Hematoxylin Eosin (HE)

Microscopic of Mus Musculus Kidney Preparation Deparaffinized with Olive Oil in Eosin Hematoxylin (HE) Staining

**ELA NUR PRATIWI
DESY ARMALINA**

Laboratorium Klinik Cito Semarang
Jl. Indraprasta No.81-83, Pindrikan Lor, Kec. Semarang Tengah, Kota Semarang
Email: elanurpratiwi24@gmail.com

Abstrak

Deparafinisasi adalah suatu tahap sebelum proses pewarnaan (staining) untuk menghilangkan/melarutkan parafin sehingga penyerapan warna pada sediaan jaringan menjadi maksimal. Deparafinisasi biasa dilakukan menggunakan *xylol* dan toluol. *Xylol* memiliki efek toksik diantaranya neurotoksitas akut, merusak jantung dan ginjal, hepatoksitas, diskrasia darah yang fatal, eritema kulit, kulit kering, kulit mengelupas, dan juga memiliki efek karsinogenik. Efek toksisitas minyak zaitun lebih rendah dibanding *xylol*. Minyak yang memiliki sifat non polar dapat menghilangkan sisa parafin yang terdapat pada jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran mikroskopis sediaan jaringan ginjal mencit yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun pada pewarnaan hematoxylin eosin (HE). Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen dengan yang dianalisis dengan pendekatan deskriptif. Hasil penilaian preparat yang dideparafinisasi dengan *xylol* dalam 80 lapang pandang didapatkan 100% preparat yang baik dan preparat yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun dalam 80 lapang pandang didapatkan 0% preparat yang tidak baik, 11,3% preparat yang kurang baik, dan 88,7% preparat yang baik. Sehingga dapat disimpulkan hasil yang lebih baik terdapat pada gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan *xylol*.

Kata Kunci : Deparafinisasi ; *Xylol* ; Minyak zaitun

Abstract

*Deparaffinization is a stage before the staining process to remove/dissolve paraffin so that the absorption of color in tissue preparations is maximized. Deparaffinization is usually carried out using xylol and toluol. Xylol has toxic effects including acute neurotoxicity, heart and kidney damage, hepatotoxicity, fatal blood dyscrasias, skin erythema, dry skin, peeling skin, and also has a carcinogenic effect. The toxicity effect of olive oil is lower than that of xylol. Oils that have non-polar properties can remove the remaining paraffin contained in the tissue. The purpose of this study was to determine the microscopic appearance of the kidney tissue preparations of mice deparaffinized with olive oil on hematoxylin eosin (HE) staining. The type of research used is experimental research which is analyzed with a descriptive approach. The results of the assessment of preparations deparaffinized with xylol in 80 visual fields obtained 100% good preparations and preparations deparaffinized with olive oil in 80 visual fields obtained 0% poor preparations, 11.3% poor preparations, and 88.7% good preparation. So it can be said that better results are found in the microscopic picture of the kidney preparations of mice (*Mus musculus*) deparaffinized with xylol.*

Keywords: Deparaffinization ; *Xylol* ; Olive Oil



1. Pendahuluan

Histoteknik adalah suatu metode untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui proses tertentu sehingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisa (Jusuf, 2009). Struktur dan komposisi molekul dapat dipertahankan pada jaringan agar tetap sama seperti di dalam tubuh, sediaan jaringan harus dibuat sedemikian rupa sehingga menghasilkan sediaan jaringan mikroskopis yang ideal (Khristian & Inderiati, 2017). Rangkaian proses dalam pembuatan sediaan jaringan dikemas dalam 9 tahapan, yaitu: fiksasi, dehidrasi, pembedahan, penanaman, pembuatan, pemotongan, folating, deparafinasi, pewarnaan. Hasil penelitian sebelumnya tentang gambaran histologi jaringan hepar mencit yang difiksasi larutan *carnoy* dengan variasi waktu menyebutkan bahwa preparat terbaik dihasilkan dari fiksasi dengan larutan *carnoy* dengan durasi 4 jam (Afrida & Priyatno, 2021).

Deparafinisasi adalah suatu tahap sebelum proses pewarnaan (*staining*) untuk menghilangkan/melarutkan parafin sehingga penyerapan warna pada sediaan jaringan menjadi maksimal. Parafin merupakan campuran hidrokarbon yang tidak larut dalam air. Deparafinisasi biasa dilakukan menggunakan *xylol* dan toluol untuk melarutkan parafin yang berupa lemak (*Xylol* adalah pelarut organik yang sering digunakan di laboratorium patologi. Seringkali digunakan dalam tahapan *clearing* dan deparafinisasi. Kelebihan dari *xylol* membuat jaringan cepat menjadi transparan dan bekerja cepat. Namun *xylol* memiliki kekurangan diantaranya bersifat toksik, berbahaya bagi tubuh manusia dan menyebabkan pengerutan jaringan jika terlalu lama direndam. Kekurangan lain *xylol* adalah mudah terbakar, bersifat karsinogenik, dan tidak ramah lingkungan. Sehingga diperlukan bahan alternatif pengganti *xylol* yang lebih aman seperti minyak zaitun) minyak yang memiliki sifat non polar dapat menghilangkan sisa parafin yang terdapat pada jaringan. Udonkang et al., (2014) yang menyebutkan bahwa *xylol* dapat digantikan dengan minyak mineral yang dipanaskan sampai suhu 60°C. Halim (2018) dalam risetnya menyebutkan bahwa terdapat perbedaan hasil intensitas pengecatan hematoksilin eosin menggunakan *xylol* skor 3, asam cuka 1% skor 2, asam cuka 1,5% rata-rata skor 2, dan asam cuka 2% skor 3.

Minyak zaitun sendiri memiliki beberapa keunggulan yaitu mudah didapatkan di pasaran, minyak zaitun bersifat ramah lingkungan dan mempunyai efek toksik yang kecil, dan juga mempunyai kandungan asam oleat yang memiliki sifat serupa dengan eosin yang bersifat asam yang membuat inti dan sitoplasma terwarnai lebih baik dan lebih kontras. Berdasarkan penelitian sebelumnya (Nuroni et al., 2019) menunjukkan hasil kualitas pewarnaan jaringan ginjal marmut yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun menunjukkan hasil yang sama baiknya dengan jaringan yang dideparafinisasi dengan *xylol* sebagai gold standart, dapat diamati dan juga dibedakan antara inti dan sitoplasma begitu juga pada jaringan glomerulus. Bahkan menurut penelitian tersebut densitas warna sitoplasma yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun lebih tinggi daripada *xylol*.

2. Metode

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen yang dianalisis dengan pendekatan deskriptif. Desain penelitian yang digunakan dalam eksperimen ini adalah dengan pendekatan studi purposive sampling yaitu metode pengambilan sampel dengan menetapkan ciri-ciri khusus yang sesuai dengan tujuan penelitian sehingga diharapkan dapat menjawab masalah penelitian tersebut. Blok dibuat dari tahapan prosesing jaringan dimana organ ginjal mencit (*Mus musculus*) dilakukan fiksasi dengan NBF 10% selama 24 jam kemudian dilakukan dehidrasi bertingkat mulai dari alkohol (70%, 80%, 90%, 100%), setelah dilakukan dehidrasi dilakukan *clearing* menggunakan reagen *xylol* (*Xylol I,II*), kemudian dilakukan tahapan infiltrasi parafin I, II masing masing selama 1 jam, dan yang terakhir dilakukan *embedding*, kemudian blok ginjal yang sudah jadi dilakukan pemotongan dengan mikrotom ketebalan 4 mikron.

Pengambilan sampel diambil dari populasi preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang telah dideparafinisasi dengan xylol dan minyak zaitun. Preparat dideparafinisasi dengan xylol I, II, II masing masing selama 10 menit, sedangkan untuk deparafinisasi menggunakan minyak zaitun I, II, III harus dipanaskan pada suhu 60°C dan perendaman dilakukan selama 10 menit juga. Masing-masing dibuat dengan jumlah yang sama hingga menghasilkan preparat histologi dengan jumlah tertentu yang dapat diamati secara mikroskopis sesuai kriteria inklusi dan eksklusi serta sesuai dengan kriteria penilaian mikroskopis sediaan. Dari setiap variasi diambil 16 buah preparat dan 16 buah preparat tersebut diambil dari 1 blok, untuk dilakukan penilaian kualitas sediaan mikroskopis jaringan. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali dengan 5 lapang pandang yang berbeda dan 100x untuk melihat kesereagaman warna. Pada setiap lapang pandang dilakukan penilaian kualitas mikroskopis dilihat dari inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna pada preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*). Kemudian dihitung bobot skor kualitas mikroskopis sediaan dari 5 lapang pandang di setiap preparat menggunakan model skoring kualitas sediaan histologi.

3. Hasil dan Pembahasan

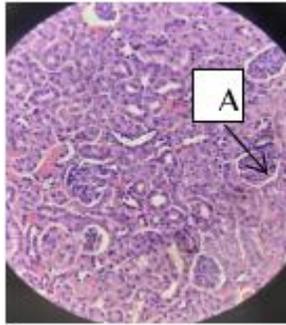
Hasil pengamatan sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan xylol dan minyak zaitun dilakukan perhitungan menggunakan tabel kriteria penilaian kemudian dikategorikan sesuai total skoring kualitas mikroskopis sediaan didapatkan hasil yang disajikan dalam tabel 1 sebagai berikut :

Tabel 1 Hasil pengamatan gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit (Mus musculus) yang dideparafinisasi dengan xylol dan minyak zaitun pada pewarnaan HE dalam 32 preparat dengan total 160 lapang pandang.

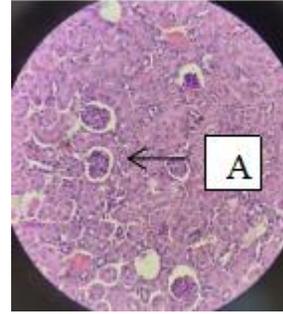
Gambaran Mikroskopis	Deparafinisasi	
	Xylol	Minyak zaitun
Tidak baik	0 (0%)	0 (0%)
Kurang baik	0 (0%)	9 (11,3%)
Baik	80 (100%)	71 (88,7%)
Jumlah lapang pandang	80	80

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa hasil pengamatan gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan xylol dalam 80 lapang pandang didapatkan 100% preparat yang baik. Pada jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun dalam 80 lapang pandang didapatkan 0% preparat yang tidak baik, 11,3% preparat yang kurang baik, dan 88,7% preparat yang baik.

Berikut adalah gambaran mikroskopis jaringan yang dideparafinisasi dengan xylol dan minyak zaitun yang dapat dilihat pada gambar 1 dan gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 1 Gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit yang dideparafinisasi dengan xylol A) inti dan sitoplasma jelas



Gambar 2 Gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun A) inti dan sitoplasma kurang jelas

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil pengamatan gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan xylol 100% preparat dengan skor baik, 0% kurang baik, dan 0% tidak baik presentase nilai didapatkan berdasarkan kriteria penilaian mikroskopis dari 80 lapang pandang dari 16 preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*). Jaringan yang dideparafinisasi dengan xylol menunjukkan hasil yang paling baik. Menurut (Hernandes, et al, 2017) Xylol memiliki tingkat kelarutan yang tinggi terhadap agen dehidran dan juga materi parafin. Menurut Kunhua, et al (2012) Xylol dapat memberi efek transparan pada jaringan. Sehingga hasil gambaran preparat ginjal mencit yang dideparafinisasi dengan xylol didapatkan skor 100% baik. Terdapat juga beberapa faktor yang mengakibatkan kegagalan proses deparafinisasi diantaranya adalah pemilihan suhu, proses yang tidak sesuai prosedur, penggunaan reagen yang tidak teratur dan tidak tepat sehingga proses pewarnaan terganggu karena air tidak dapat masuk ke dalam jaringan untuk mewarnai komponen sel (Miranti, 2010). Hasil penelitian lain menyebutkan bahwa adanya pemberian alkohol peroral secara terus menerus dapat menyebabkan perubahan terhadap morfologi eritrosit darah tepi (Hartono, Soewono, & Ratnaningsih, 2019).

Hasil Pengamatan gambaran mikroskopis preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun didapatkan hasil kualitas preparat yang baik sebanyak 88,7%, preparat yang kurang baik sebesar 11,3% dan preparat yang tidak baik sebesar 0%. Preparat yang kurang baik adalah preparat yang inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warnanya kurang jelas. Keseragaman warna yang tidak begitu baik dikarenakan warna yang dihasilkan terlalu ringan atau warna hematoksilin yang berlebihan. Hal ini bisa disebabkan karena waktu pengecatan yang terlalu lama, ataupun ada endapan pada reagen yang menyebabkan keseragaman warna yang kurang baik. Hal ini sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Nuroni et,al, 2019) dimana jika dilihat secara mikroskopis ginjal marmut yang dideparafinisasi dengan xylol dan minyak zaitun menunjukkan kualitas pewarnaan yang relatif sama sama baik inti, sitoplasma dan glomerulusnya sama sama bisa dibedakan. Menurut (Nuroni et,al, 2019) kualitas jaringan ginjal yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun menunjukkan hasil yang cukup baik karena kandungan asam oleat dari minyak zaitun yang memiliki sifat serupa dengan eosin, sehingga eosin mampu mewarnai sitoplasma dengan baik. Asam oleat pada minyak zaitun juga memiliki kandungan lipid yang tidak jenuh yang kelarutannya bersifat non polar sehingga dapat melunturkan lilin parafin yang terdapat pada jaringan. Menurut Udonkang, et al (2014) xylol dapat diganti dengan minyak mineral yang dipanaskan suhu 60 derajat.

Gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun didapatkan intisel dan sitoplasma yang kurang jelas. Hasil yang kurang baik didapatkan karena faktor pewarnaan Hematokxylin-Eosin sebagai pewarna dasar. Pewarnaan inti yang tidak adekuat artinya kurang adekuatnya hematoksilin mewarnai bagian inti selulernya, penyebabnya bisa fiksasi yang tidak adekuat,deparafinisasi yang tidak

sempurna, waktu pewarnaan yang tidak tepat, atau juga proses penghilangan warna yang terlalu kuat. Ketepatan waktu tidak menjamin baiknya kualitas, karena waktu disesuaikan dengan ukuran dan jenis jaringan. Sedangkan sitoplasma yang diwarnai eosin kurang jelas disebabkan karena deparafinisasi yang kurang sempurna, fiksasi yang tidak adekuat sehingga membuat sitoplasma menjadi pucat.

Total nilai preparat yang dideparafinisasi dengan xylol dan minyak zaitun setelah diolah menggunakan SPSS dan diuji dengan uji descriptive statistik didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.1911 untuk total nilai jaringan yang dideparafinisasi dengan xylol dimana $p > 0,05$ artinya hasil yang didapatkan tidak homogen, sedangkan total nilai preparat jaringan yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun didapatkan nilai signifikansi sebesar 1.0396 dimana $p > 0,05$ yang artinya data yang didapat tidak homogen juga. Pada hasil preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun terdapat rentang data yang beragam, walau hasil mikroskopis baik namun memiliki banyak variasi sehingga hasil yang dihasilkan tidak homogen dan perlu adanya evaluasi lebih lanjut untuk menghasilkan distribusi data yang normal dan homogenitas serta menghasilkan kualitas yang baik.

4. Simpulan dan Saran

Simpulan

Gambaran mikroskopis preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan xylol didapatkan hasil kualitas preparat baik sebesar 100%, kurang baik 0%, dan tidak baik sebesar 0% dengan nilai signifikansi 0,1911 untuk total penilaian preparat yang dideparafinisasi dengan xylol. Gambaran mikroskopis preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun didapatkan hasil kualitas preparat baik sebesar 88,7% kurang baik 11,3%, dan tidak baik sebesar 0% dengan nilai signifikansi 1.0396 untuk total penilaian preparat yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun. Hasil gambaran mikroskopis preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan xylol didapatkan hasil baik sebanyak 100% dan yang dideparafinisasi dengan minyak zaitun sebesar 88,7%. Hasil yang lebih baik terdapat pada gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan xylol.

Saran

Bagi peneliti selanjutnya agar menyaring cat terlebih dahulu sebelum digunakan agar tidak timbul artifak akibat endapan cat pada jaringan dan memperhatikan waktu dalam deparafinisasi agar pengecatan HE adekuat.

5. Daftar Pustaka

- Afrida, A. D., & Priyatno, D. (2021). Gambaran Histologi Jaringan Hepar Mencit (*Mus Musculus*) yang Difiksasi dengan Larutan Carnoy dengan Variasi Waktu 4 Jam , 8 Jam dan 12 Jam. *Jaringan Laboratorium Medis*, 03(01), 37–42.
- Halim, Rahmidani, G1C217295. (2018). Asam Cuka Sebagai Agen Deparafinisasi pada Pengecatan Hematoksin Eosin (HE). Undergraduate thesis, Universitas Muhammadiyah Semarang. Retrieved October 25, 2020 from <http://repository.unimus.ac.id/>
- Hartono, R., Soewono, S., & Ratnaningsih, T. (2019). Pengaruh Pemberian Alkohol Peroral Terhadap Nilai Mean Corpuscular Volume, Morfologi Eritrosit Darah Tepi dan Normoblas Sumsum Tulang. *Jaringan Laboratorium Medis*, 1(1), 46–52. <https://doi.org/10.31983/jlm.v1i1.5161>
- Jusuf, A. A. (2009). Histoteknik Dasar. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Retrieved September 11 , 2020 from <https://staff.ui.ac.id/>
- Kandyala, R., Raghavendra, S. P., & Rajasekharan, S. (2010). Xylene: An Overview of It's Health Hazards and Preventive Measures. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 14(1), 1, Retrieved October 1, 2020 from

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
Khristian, E. (2017). Potensi Minyak Gandapura Sebagai Pengganti Xilol Dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit. Skripsi.STIKES Jendral Achmad Yani. Cimahi Retrieved October 19, 2020 from <http://repository2.stikesayani.ac.id>
- Khristian, E. & Inderiati, D. (2017). Sitohistoteknologi. DEPKES. Jakarta, Retrieved October 1, 2020 from <http://bppsdmk.kemkes.go.id/>
- Miranti, Ika Pawitra. (2010). Pengolahan Jaringan Untuk Penelitian Hewan Coba. Media Medika Muda (M3) (4). pp. 1-4. ISSN 1858-3318, artikel: Universitas Diponegoro, Retrieved October 19, 2020 from <http://www.m3undip.org>
- Nuroni, F., Mayangsari, M, A., Aryadi, T. (2019). Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut pada Proses Deparafinasi Menggunakan Xylol dan Minyak Zaitun pada Pewarnaan HE. Prosiding mahasiswa: Universitas Muhamadiyah Semarang. Retrieved October 8, 2020 from <http://prosiding.unimus.ac.id/>
- Udonkang, M. Eluwa M., Ekanem T.B., Asuquo O.R., Akpantah A.O. (2014). Bleached Palm Oil as Substitute For Xylene in Histology. JPCS, Vol (8), pp. Pp 8-17. Retrieved September 30, 2020 from <https://www.semanticscholar.org>