

**PERBEDAAN VARIASI pH *EOSIN* PADA PEWARNAAN *HEMATOXYLIN*
EOSIN TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN
SITOPLASMA SEL HEPAR MENCIT**

SKRIPSI

Disusun Untuk Memenuhi Persyaratan Mencapai Gelar
Sarjana Terapan Kesehatan



Oleh :
Intan Nadiyah
11180720N

**PROGRAM STUDI D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi :

**PERBEDAAN VARIASI pH *EOSIN* PADA PEWARNAAN *HEMATOXYLIN*
EOSIN TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN
SITOPLASMA SEL HEPAR MENCIT**

**Disusun oleh
Intan Nadiyah
11180720N**

Surakarta, 18Juli 2022

Menyetujui,

Pembimbing Utama



dr. Ratna Herawati, M.Biomed

NIS.01200504012108

Pembimbing Pendamping



Suwanto, SKM, S.Tr.Kes, M.Kes

NIP.196511171991031007




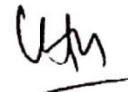
LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi:

PERBEDAAN VARIASI pH *EOSIN* PADA PEWARNAAN *HEMATOXYLIN EOSIN* TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN SITOPLASMA SEL HEPAR MENCIT

Oleh
Intan Nadiyah
11180720N

Surakarta, 29 juli 2022
Menyetujui,

	Tandatangan	tanggal
Penguji I : Prof. Dr. Marsetyawan HNE S, M.Sc., Ph.D		29-07-2022
Penguji II: dr. Rusnita, SP.PA		29-07-2022
Penguji III: Suwarto, SKM, S.Tr.Kes, M.Kes		25-07-2022
Penguji IV: dr. Ratna Herawati, M.Biomed		24-08-2022

Mengetahui,




Prof. Dr. Marsetyawan HNE S, M.Sc., Ph.D
NIDK. 88930900187

Ketua Program Studi
D4 Analis Kesehatan




Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si., M.si
NIS. 01201304161170

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini yang berjudul Perbedaan variasi pH *Eosin* Pada Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* Terhadap Gambaran Histologi Inti Sel Dan Sitoplasma Sel Hepar Mencit adalah hasil pekerjaan saya sendiri dn tidak terdapat kara yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana di suatu perguruan tinggi sepanjang pegetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan plagiat dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain,maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 30 Agustus 2022



Intan Nadiyah
NIM. 11180720N

HALAMAN PERSEMBAHAN

(5)Sungguh, bersama kesukaran itu pasti ada kemudahan, (6) Sungguh, bersama kesukaran itu pasti ada kemudahan. (7) Oleh karena itu, jika kamu telah selesai dari suatu tugas, kerjakan tugas lain dengan sungguh sungguh, (8) dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu memohon dan mengharap.

(AL-Qur an; Surat Asy Syarh Ayat 5-8)

1. Allah SWT yang memberikan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sesuai harapan
2. Kedua orang tua tercinta, bapak Samani dan ibu Heni yang telah memberikan do'a, semangat dan dukungan baik materil maupun spiritual.
3. Saudara kandung saya kakak angga dan adek faris yang selalu memberikan semangat dan dukungannya selama penyusunan skripsi ini.
4. dr. Ratna Herawati, M.Biomed., dan Suwarto, SKM, S.Tr.Kes, M.Kes selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, semangat dan motivasinya selama penyusunan skripsi.
5. Teman seperjuangan Melisa, Dina, Sesil, Fauzia dan teman-teman angkatan 2018 yang telah memberikan semangat dan dukungan selama penyusunan skripsi ini.
6. Sahabatku Essy, Mira, Gita, Taszha, Nurul, Putri dan Rasyid yang telah memberikan semangat hingga skripsi ini dapat diselesaikan.

7. *Last but not least, I wanna thank me for believing in me, I wanna thank for doing all this hard work, I wanna thank me for having not days off, I wanna thank me for never quitting, for being me at all times*

Penulis berharap laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat sebagai pengetahuan dan ilmu-ilmu mengenai bidang sitohistoteknologi bagi para pembaca akhir kata penulis ucapkan terima kasih.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur kita panjatkan kepada Allah SWT. Zat yang hanya kepada-Nya memohon pertolongan. Alhamdulillah atas segala pertolongan, rahmat, dan kasih sayang-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsinya yang berjudul “PERBEDAAN VARIASI pH EOSIN PADA PEWARNAAN *HEMATOXYLIN EOSIN* TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN SITOPLASMA SEL HEPAR MENCIT”. Shalawat dan salam kepada Rasulullah SAW. yang senantiasa menjadi sumber inspirasi dan teladan terbaik untuk umat manusia. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Terapan Kesehatan Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis mendapatkan bimbingan, saran serta dukungan dari beberapa pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis dengan rasa hormat menyampaikan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang memberikan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sesuai harapan.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. dr. Marsatyawan HNE Soesatyo, M.Sc,Ph.D, Selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si., M.Si., SelakuKetua Program Studi D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.

5. dr. Ratna Herawati, M.Biomed., selaku dosen pembimbing utama dan Suwanto, SKM, S.Tr.Kes, M.Kes selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, arahan, semangat dan motivasinya selama penyusunan skripsi ini.
6. Segenap Dosen pengajar, karyawan dan staff Laboratoritum Universitas Setia Budi yang telah memberikan ilmu pengetahuan khususnya pada program studi Analis Kesehatan.
7. Kedua orang tua tercinta, Bapak Samani dan Ibu Heni yang telah memberikan do'a serta semangat dalam penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan. Oleh karena itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak serta diharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Surakarta, 13 Juli 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	<i>Halaman</i>
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi penulis.....	4
1.4.2 Bagi pembaca	4
1.4.3 Bagi institusi.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Histologi.....	5
2.2 Histoteknik	6
2.2.1 Tahap fiksasi	7
2.2.2 Tahap Dehidrasi	10
2.2.3 Tahap penjernihan (<i>Clearing</i>)	12
2.2.4 Tahap <i>blocking</i> dan Tahap <i>Embedding</i>	14
2.2.5 Tahap pemotongan jaringan (<i>sectioning</i>).....	15
2.2.6 Tahap Pewarnaan (<i>staining</i>).....	15
2.2.7 Tahap penutupan sediaan (<i>Mounting</i>).....	16
2.3 Pewarnaan	17
2.3.1 Definisi	17

	2.3.2	Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).....	19
	2.3.3	Pengaruh pH Eosin.....	23
	2.4	Gambaran Histologis Hepar Mencit.....	24
	2.5	Landasan Teori.....	25
	2.6	Kerangka Pikir Penelitian	28
	2.7	Hipotesis.....	27
BAB III		METODE PENELITIAN	28
	3.1	Rancangan Penelitian	28
	3.2	Waktu Dan Tempat Penelitian	28
	3.3	Populasi Dan Sampel	30
	3.4	Variable Penelitian	31
	3.4.1	Variabel bebas	31
	3.4.2	Variabel terikat.....	31
	3.5	Alat Dan Bahan	31
	3.5.1	<i>Trimming</i> (potong basah)	31
	3.5.2	Pembuatan jaringan	32
	3.5.3	Pengeblokan	32
	3.5.4	Pemotongan parafin.....	32
	3.5.5	Penangkapan pita.....	32
	3.5.6	Pewarnaan	32
	3.5.7	Mounting	33
	3.5.8	Pembacaan preparat.....	33
	3.5.9	Hewan uji	33
	3.6	Prosedur Penelitian.....	33
	3.6.1	<i>Tissue Processor</i>	33
	3.6.2	Pengeblokan	34
	3.6.3	Pengirisan jaringan (<i>sectioning</i>).....	34
	3.6.4	Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).....	34
	3.7	Teknik Pengumpulan Data.....	35
	3.8	Alur Penelitian	36
BAB IV		HASIL DAN PEMBAHASAN	37
	4.1	HASIL.....	37
	4.2	Pembahasan.....	39
BAB V		KESIMPULAN DAN SARAN	43
	5.1	Kesimpulan	43
	5.2	Saran.....	43
		DAFTAR PUSTAKA	44
		LAMPIRAN.....	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1. Histologis hepar mencit (Agata <i>et al.</i> , 2017).	25
Gambar 2. 2. Kerangka Pikir Penelitian.....	28
Gambar 3. 1. Kerangka Alur Penelitian.....	36
Gambar 4. 1. gambaran mikroskopis preparat hepar mencit dengan perbesaran 400x.....	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4. 1. Deskripsi Hasil Pembacaan Preparat Histologi Hepar Mencit	39

DAFTAR SINGKATAN

AB : *Alcian Blue*

BNF : *Buffer Neutral Formalin*

HE : *Hematoxylin Eosin*

MM : *Milimeter*

pH : *Potensial Hydrogen*

μm : *Mikrometer*

INTISARI

Nadiyah, I. 2021 Perbedaan variasi pH *Eosin* Pada Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* Terhadap Gambaran Histologi Inti Sel Dan Sitoplasma Sel Hepar Mencit. Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.

Pewarnaan histologi adalah sebuah teknik pemberian warna terhadap organel sel agar dapat diamati tujuan dari pewarnaan sendiri agar jaringan terlihat jelas dan dapat dibedakan bagian-bagiannya menggunakan mikroskop. pH standar pewarna *Eosin* adalah pH 4-5 menampilkan warna merah muda pada sitoplasma sedangkan pH di bawah 4 menampilkan warna merah tua pada sitoplasma sebaliknya pH di atas 5 menampilkan warna merah muda pucat pada sitoplasma. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan gambaran histologi inti sel dan sitoplasma sel hepar mencit dengan variasi pH *Eosin* pada pewarnaan histologi rutin.

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif yaitu menjelaskan gambaran hasil pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) pada hepar mencit dengan variasi pH *Eosin* yang berbeda. Perlakuan I pewarnaan *hematoxylin eosin* menggunakan pH *Eosin* 5 sebagai kontrol, perlakuan II pH *eosin* 3 sebagai variasi pH di bawah batas standar dan perlakuan III pH *eosin* 6 sebagai variasi pH di atas standar kemudian hasil pewarnaan dibaca secara mikroskopis.

Hasil pembacaan mikroskopis pada perlakuan I *Eosin* dengan pH 5 sebagai kontrol pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) hasil pewarnaan pada inti sel berwarna biru keunguan serta sitoplasma berwarna merah muda, perlakuan II variasi pH *eosin* 3 terlihat inti sel berwarna biru keunguan sitoplasma berwarna merah muda dan bergranula tetapi dapat dibedakan antara inti dan sitoplasma, perlakuan III dengan variasi pH *eosin* 6 terlihat inti sel berwarna biru dan sitoplasma berwarna biru muda karena tidak terwarnai oleh eosin. Dapat disimpulkan perbedaan pH *eosin* pada pewarnaan *hematoxylin eosin* menyebabkan perbedaan gambaran histologi inti sel dan sitoplasma sel hepar mencit.

Kata kunci : Perbedaan variasi pH *Eosin*, Pewarnaan *Hematoxylin Eosin*, Gambaran Histologi, Hepar Mencit

ABSTRAK

Nadiyah, I. 2021 Differences in Eosin pH Variations in Hematoxylin Eosin Staining on Histological Features of Cell Nucleus and Cytoplasm of Mice Liver Cells. Health Analyst D-IV Study Program, Faculty of Health Sciences, Setia Budi University, Surakarta.

Histological staining is a technique of giving color to cell organelles so that they are easily observed under a microscope. The standard pH of Eosin dye is pH 4-5 displaying a pink color in the cytoplasm while pH below 4 displaying a dark red color on the contrary displays a pH above 5 a pale pink color on the program. This study aims to determine the differences in the histological features of the nucleus and liver cells of mice with variations in pH of Eosin on routine staining.

This study used a descriptive method, namely to describe the results of Hematoxylin Eosin (HE) staining on the liver of mice with different pH variations of Eosin. Treatment I for hematoxylin eosin staining used pH Eosin 5 as a control, treatment II pH eosin 3 as a pH variation below the standard limit and treatment III pH eosin 6 as a pH variation above the standard then the staining results were read microscopically.

The results of microscopic reading on Eosin I treatment with pH 5 as a control for Hematoxylin Eosin (HE) staining resulted in purplish blue cell nucleus staining and pink image, treatment II variations in pH of eosin 3 showed a purplish blue cell nucleus with pink color and granular but can be distinguished between the nucleus and the program, treatment III with variations in pH of eosin 6 showed that the cell nucleus was blue and light blue because it was not stained by eosin.

Keywords : Eosin pH difference, Hematoxylin Eosin staining, Histological description, Mice liver

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Histoteknik merupakan metode pembuatan sajian histologi yang berasal dari specimen tertentu melalui rangkaian proses sehingga menjadi sebuah sajian yang siap dianalisis. histoteknik merupakan sebuah teknik laboratorium yang biasa digunakan pada kegiatan eksperimental. Hasil pemeriksaan pada teknik ini yaitu sebuah spesimen mikroskopik setelah dilakukan proses pewarnaan sesuai yang di butuhkan dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) (Rina, 2013).

Pewarnaan histologi adalah sebuah teknik pemberian pewarna pada bagian organel sel agar mudah diamati menggunakan mikroskop tujuan pewarnaan yaitu agar jaringan tampak jelas sert dengan mudah dibedakan bagian-bagiannya menggunakan mikroskop (Idris *et al*, 2018). Salah satu tahap dalam proses pembuatan preparat histologi adalah *staining* atau proses pemberian warna pada jaringan bertujuan untuk memudahkan pengamatan menggunakan mikroskop yang berguna untuk membedakan bagian jaringan yang di amati seperti inti sel, sitoplasma dan lain-lain (Ellyawati, 2018).

Saat ini dalam praktikum dan penelitian di bidang histologi menggunakan preparat jaringan organ untuk pengamatan kesulitan terjadi dalam mempelajari preparat histologi karena tampilan dari pewarnaan yang memungkinkan timbulnya artefak/kotoran yang tidak dapat dibedakan dari

struktur histologi yang di cari. Sediaan jaringan dianggap baik apabila sediaan mampu menggambarkan gambaran sel atau jaringan seperti saat sel atau jaringan tersebut masih terdapat di dalam tubuh. Interpretasi hasil pemeriksaan histologik sangat ditentukan oleh hasil visualisasi gambaran preparat histologi. Permasalahan yang sering dijumpai di dalam laboratorium histologi adalah kualitas gambar yang kurang baik, di sebabkan oleh metode pengecatan yang kurang optimal.

Tahap proses pembuatan preparat histologi terdiri dari fiksasi, *dehidrasi, clearing, impregnasi, embedding, cutting*, dan *staining*. Metode pewarnaan histologi di bedakan menjadi dua jenis, berdasarkan fungsinya yaitu pewarnaan umum dan pewarnaan khusus. *Hematoksin Eosin (HE)* merupakan pewarnaan jaringan secara umum untuk melihat morfologi jaringan dan sangat diperlukan dalam diagnosa medis dan penelitian. Pada pewarnaan ini terlihat inti sel yang bersifat asam terwarnai oleh hematoksin atau asidofilik, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa terwarnai oleh Eosin atau basofilik. Penggunaan pewarnaan ini dapat memvisualisasikan dengan sangat kontras pada bagian setiap inti dan sitoplasma sehingga gambar sel dan jaringan bisa diamati bagiannya dengan baik (Gamble, 2012). Selanjutnya Pada tahap pewarnaan eosin ada beberapa hal yang perlu di perhatikan seperti lama pewarnaan, konsentrasi pewarna, kualitas pewarna, dan pH pewarna agar mendapatkan hasil pewarnaan preparat yang baik. sejauh ini penelitian hanya berfokus pada lama pewarnaan sehingga faktor lain perlu di teliti.

Menurut Rolls,G.(2016), larutan *eosin* digunakan pada pH 5,0 untuk mendapatkan hasil yang optimal, penambahan beberapa tetes asam asetat dapat digunakan untuk menurunkan pH *eosin*.pH optimum untuk pewarnaan eosin adalah bersifat asam (pH 4-5) hasil pewarnaan terlihat jelas antara inti dan sitoplasma yang berwarna merah muda sedangkan pH di bawah 4 akan menimbulkan warna yang cenderung merah tua pada sitoplasma sehingga tidak bisa di bedakan antara inti sel dan sitoplasma pada preparat sebaliknya pH di atas 5 akan menurunkan hasil pewarnaan membuat gambaran preparat tidak terlihat jelas pada sitoplasma yang merah muda pucat(Sudhakaran *etal.*, 2018). Hasilpewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) di pengaruhi oleh pewarna Eosin yang berperan sebagai pewarna asam mewarnai sitoplasma menjadi warna merah muda. Menggunakan variasi *eosin*pH 3 akan menampilkan sitoplasma merah tua sebaliknya variasi *eosin* pH 6mendekati kondisi basa membuat sitoplasma tidak terwarnai.

Sehubungan dengan hal tersebut, peneliti mempertimbangkan untuk melakukan penelitian dengan judul “Perbedaan variasi pH*Eosin* Pada Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* Terhadap Gambaran Histologi Inti Sel dan Sitoplasma Sel Hepar Mencit” hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai standar tehnik pewarnaan jaringan rutin *Hematoxylin Eosin* (HE) sehingga dapat diperoleh kondisi preparat yang bisa mewakili visualisasi dari sajian histologi dari jaringan yang di amati dan bermanfaat dalam mempelajari subyek histologi secara struktur tubuh, maupun berkaitan dengan fungsinya.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian bagaimana perbedaan variasi pH *eosin* pada pewarnaan *hematoxylin eosin* terhadap gambaran histologi inti sel dan sitoplasma sel hepar mencit ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian tersebut adalah untuk mengetahui perbedaan variasi pH *eosin* pada pewarnaan *hematoxylin eosin* terhadap gambaran histologi inti sel dan sitoplasma sel hepar mencit ?

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi penulis

Dapat meningkatkan ilmu pengetahuan, keterampilan dan pengalaman dibidang sitohistoteknologi.

1.4.2 Bagi pembaca

Sebagai informasi mengenai Perbedaan pH eosin terhadap gambaran jaringan hepar mencit pada pewarnaan histologi rutin.

1.4.3 Bagi institusi

1. Menambah sumber bacaan dan informasi bagi mahasiswa.
2. Menambah referensi bacaan bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE).