

**PERBEDAAN HASIL PEWARNAAN *HEMATOXYLIN-EOSIN*
(HE) PADA PREPARAT HATI MENCIT DENGAN PROSES
CLEARING MENGGUNAKAN MINYAK *GANDAPURA*
(*Gaultheria fragrantissima*), MINYAK ZAITUN
(*Olea europeae*) DAN *XYLOL***

SKRIPSI

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai
Gelar Sarjana Terapan Kesehatan



Oleh :
Sania Nurhalisa
11180737N

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

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi :

**PERBEDAAN HASIL PEWARNAAN *HEMATOXYLIN-EOSIN*
(HE) PADA PREPARAT HATI MENCIT DENGAN PROSES
CLEARING MENGGUNAKAN MINYAK *GANDAPURA*
(*Gaultheria fragrantissima*), MINYAK ZAITUN
(*Olea europeae*) DAN *XYLOL***

Oleh :
Sania Nurhalisa
11180737N

Surakarta, 25 Juli 2022

Menyetujui,

Pembimbing Utama



dr. Ratna Herawati, M.Biomed
NIS. 01200504012108

Pembimbing Pendamping



Suwarto, SKM, S.Tr.Kes, M.Kes
NIP. 196511171991031007

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi :

**PERBEDAAN HASIL PEWARNAAN *HEMATOXYLIN-EOSIN*
(HE) PADA PREPARAT HATI MENCIT DENGAN PROSES
CLEARING MENGGUNAKAN MINYAK *GANDAPURA*
(*Gaultheria fragrantissima*), MINYAK ZAITUN
(*Olea europeae*) DAN *XYLOL***

Oleh :
Sania Nurhalisa
11180737N

Surakarta, 28 Juli 2022

Menyetujui,

Tandatangan Tanggal

Penguji I : Prof. dr. Marstyan HNE
S, M. Sc., Ph. D
Penguji II : dr. Rusnita, Sp.PA



Penguji III: Suwanto, SKM, S.Tr. Kes,
M.Kes



Penguji IV : dr. Ratna Herawati,
M.Biomed



Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi



Prof. dr. Marstyan HNE S, M.Sc., Ph.D
NIDK. 8893090018

Ketua Program Studi
D4 Analis Kesehatan



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Pertama, Skripsi ini saya persembahkan untuk diri saya sendiri. Terimakasih sudah mau berjuang sampai saat ini meskipun dengan kebiasaan rasa menunda yang lebih serta rasa ngantuk yang tiada henti.

Kedua, Untuk kedua orang tuaku yang selalu mendoakanku dan mengusahakan segalanya untukku.

Ketiga, untuk Kakak dan Kedua adikku yang selalu menguatkan dan memberi semangat dalam keadaan apapun,

Keempat, untuk sahabat-sahabatku yang berperan penting dalam kehidupanku selama di Solo,

Kelima, untuk teman-teman semuanya yang selalu menanyakan kapan Skripsi ini selesai.

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya menyatakan bahwa Skripsi ini yang berjudul “PERBEDAAN HASIL PEWARNAAN *HEMATOXYLIN-EOSIN* (HE) PADA PREPARAT HATI MENCIT DENGAN PROSES *CLEARING* MENGGUNAKAN MINYAK GANDAPURA (*Gaultheria Fragrantissima*), MINYAK ZAITUN (*Olea Europeae*) DAN *XYLOL*” adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 28 Juli 2022



Sania Nurhalisa

NIM : 11180737N

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah *subhanahu wa taala* atas limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar. Skripsi yang berjudul PERBEDAAN HASIL PEWARNAAN *HEMATOXYLIN-EOSIN* (HE) PADA PREPARAT HATI MENCIT DENGAN PROSES *CLEARING* MENGGUNAKAN MINYAK *GANDAPURA* (*Gaultheria fragrantissima*), MINYAK ZAITUN (*Olea europeae*) DAN *XYLOL*. Skripsi ini disusun sebagai hasil dari proses pembelajaran dan sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Terapan pada Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penelitian skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Pof. dr. Marsetyawan HNES, M.Sc., Ph.D Selaku dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi.
3. Dr. Dian Kresnadipayana, M.Si selaku Ketua Program Studi DIV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi.
4. dr. Ratna Herawati, M. Biomed selaku pembimbing utama yang banyak memberikan masukan dari awal menyusun tugas akhir ini.
5. Kepada Bapak Suwarto, S.Tr. Kes, M. Kes selaku pembimbing pendamping yang selalu memberi masukan serta saran dari awal pembuatan tugas akhir sampai saat ini.
6. Untuk Bapak Mulazim dan ibu Susalita Heni sebagai orang tua saya yang selalu mendukung, mendoakan dan menyemangati saya dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
7. Kepada dr. Rusnita, Sp.PA., mbak Retno dan mbak Wulan Yang Telah Mengijinkan Dan Membantu Penelitian Di RSUD dr. Soeratno Gemolong
8. dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna baik dari segi ilmiah maupun pengolahan bahasa. Oleh karena itu dengan kerendahan hati penulis

mengharapkan kritik serta saran dari pembaca yang bersifat membangun demi kesempurnaan Tugas Akhir ini

Surakarta, 28 Juli 2022

Sania Nurhalisa

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
<i>ABSTRAK</i>	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan penelitian	4
D. Manfaat penelitian	4
1. Bagi penulis	4
2. Bagi institusi pendidikan	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Pemeriksaan Jaringan Histologi.....	6
1. Fiksasi	6
2. Dehidrasi	8
3. <i>Clearing</i>	8
4. Infiltrasi.....	9
5. Pembuatan blok jaringan	9
6. Pengirisan Jaringan	9
B. Pewarnaan jaringan.....	9
1. Pewarnaan HE (<i>Hematoxylin-Eosin (HE)</i>)	10
2. Organ Hati.....	18
C. Landasan Teori.....	20
D. Kerangka Pikir	23

E.	Hipotesis	24
BAB III	METODE PENELITIAN.....	25
A.	Rancangan penelitian	25
B.	Waktu dan tempat penelitian	25
1.	Waktu penelitian	25
2.	Tempat penelitian	25
C.	Populasi & Sampel.....	25
D.	Variabel Penelitian.....	25
1.	Variabel Terikat (<i>Dependent variable</i>).....	25
2.	Variabel bebas (<i>Independent variable</i>).....	25
E.	Alat dan bahan	25
1.	Alat.....	25
2.	Bahan	26
F.	Prosedur penelitian.....	26
1.	Prosedur pengambilan organ hewan	26
2.	Tahapan processing jaringan	26
G.	Analisis Hasil	28
H.	Jadwal Penelitian	28
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
A.	Hasil Penelitian	29
1.	Hasil pengamatan Mikroskopis	29
2.	Hasil pengamatan Makroskopis.....	29
B.	Pembahasan.....	30
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
A.	Kesimpulan	34
B.	Saran	34
	DAFTAR PUSTAKA.....	35
	LAMPIRAN	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1. Tanaman gandapura	16
Gambar 2. 2. Organ hati.....	18
Gambar 2. 3. Struktur fisiologis hati.....	19
Gambar 2. 4. Kerangka pikir	23
Gambar 4. 1. Hasil visualisasi pengamatan mikroskopis	29

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1. Efek Xylol Pada Kesehatan	13
Tabel 3. 1. Jadwal Penelitian	28
Tabel 4. 1. Deskripsi Hasil Pembacaan	29

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat hasil pemeriksaan	37
Lampiran 2. Foto dokumentasi.....	38

DAFTAR SINGKATAN

HE : *Hematoxilyn Eosin*

NBF : *Neutral Buffer Formalin*

pH : *Potential Hydrogen*

INTISARI

Nurhalisa, Sania. 2022. Perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) pada Preparat Hati Mencit Dengan Proses *Clearing* Menggunakan Minyak Gandapura (*Gaultheria Fragrantissima*), Minyak Zaitun (*Olea Europeae*) Dan *Xylol*. Program Studi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Histoteknik adalah metode atau cara untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisis. Cara yang digunakan untuk mengamati morfologi dari sel tersebut yaitu dengan pembuatan preparat histologi dari potongan jaringan yang telah diwarnai menggunakan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* kemudian diamati dibawah mikroskop. Tujuan dari penelitian skripsi ini adalah untuk mengetahui perbedaan gambaran preparat hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan Minyak Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*), Minyak zaitun (*olea europeae*) dan *xylol*.

Penelitian ini dilakukan dengan analisa deskriptif, gambaran mikroskopis histologi inti sel dan sitoplasma sel hati mencit yang telah dilakukan pengolahan jaringan dan pewarnaan. Perlakuan I pada kelompok kontrol dilakukan *clearing* menggunakan *xylol*, Pada kelompok perlakuan II dilakukan *clearing* menggunakan Minyak zaitun, pada kelompok perlakuan III dilakukan proses *clearing* menggunakan Minyak gandapura.

Hasil pada kelompok kontrol didapatkan kualitas inti dan sitoplasma jaringan yang baik, sedangkan pada Perlakuan II gambaran preparat didapatkan hasil yang baik meskipun warna sitoplasma cenderung pucat, pada kelompok Perlakuan III gambaran preparat didapatkan hasil yang kurang baik tetapi preparat masih bisa dibaca oleh ahli patologi anatomi. Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu ada perbedaan gambaran preparat hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan minyak gandapura, minyak zaitun dan *xylol*.

Kata kunci : *Clearing*, *Xylol*, *Hematoxylin-Eosin*, gambaran histologi, inti sel, sitoplasma, hati mencit.

ABSTRAK

Nurhalisa, Sania. 2022. Differences in Hematoxylin-Eosin (HE) staining results in Mice Liver Preparations with Clearing Process Using Gandapura Oil (*Gaultheria Fragrantissima*), Olive Oil (*Olea Europeae*) and Xylol. Bachelor's Degree Program In Medical Laboratory Technology. Health Science Faculty, Setia Budi University.

Histotechnics is a method or method for making a histological presentation of a particular specimen through a series of processes until it becomes a presentation that is ready to be observed or analyzed. The method used to observe the morphology of these cells is by making histological preparations from tissue pieces that have used Hematoxylin-Eosin staining and then observed under a microscope. The purpose of this study was to determine the differences in the picture of the liver preparations of mice with the clearing process using Gandapura oil (*Gaultheria fragrantissima*), olive oil (*olea europeae*) and xylol.

This research was conducted by descriptive analysis, histological microscopic description of the cell nucleus and cytoplasm of mouse liver cells that had been treated with tissue processing and staining. Treatment I in the control group was clearing using xylol, in the treatment group II was clearing using olive oil, in the treatment group III was clearing using gandapura oil.

The results in the control group obtained good core quality and tissue system, while in Treatment II the picture of the preparations got good results although the color tended to be pale in the Treatment group III the picture of the preparations got poor results but the preparations could still be read by anatomical pathologists. The conclusion obtained from this study is that there are differences in the picture of the liver preparations of mice with the clearing process using gandapura oil, olive oil and xylol.

Keywords: Clearing, Xylol, Hematoxylin-Eosin, histology, cell nucleus, mouse liver.

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Histoteknik adalah metode atau cara untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisis. Sajian histologi yang baik dapat digunakan untuk bahan pengajaran dan praktikum mahasiswa untuk mempelajari bentuk dan struktur jaringan tubuh tertentu, sebagai riset untuk mempelajari perubahan jaringan dan organ tubuh hewan percobaan, dan membantu menegakkan diagnosis penyakit yang diderita oleh seorang pasien. Tujuan tersebut dapat tercapai apabila sajian histologi yang dibuat dapat memberikan gambaran tentang bentuk serta susunan sel, inti sel dan sitoplasma, badan inklusi (glikogen, tetesan lemak, pigmen), susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan tubuh tersebut dalam kondisi hidup. Histoteknik merupakan suatu rangkaian proses yang dimulai dari pemotongan jaringan pada organ tertentu sehingga menjadi preparat yang siap di analisis menggunakan mikroskop. (Prahanarendra, 2015).

Pembuatan sediaan jaringan teknik parafinasi perlu dilakukan tahapan-tahapan tertentu seperti fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, embedding, mikrotomi dan pewarnaan sediaan. Hasil dari keseluruhan tahapan tersebut dapat memberikan gambaran tentang bentuk susunan sel, kualitas pewarnaan sitoplasma dan lain sebagainya. Hasil tersebut diharapkan sesuai dengan gambaran jaringan dalam kondisi waktu masih hidup yang tahap akhirnya akan dibandingkan dengan kontrol kualitas.

Tahapan *clearing* merupakan proses mengeluarkan agen dehidran dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berkaitan dengan media infiltrasi. Agen *clearing* harus memiliki kemampuan penetrasi jaringan yang cepat, menghilangkan agen dehidrasi dengan cepat, mudah digantikan oleh agen infiltrasi, menimbulkan kerusakan jaringan yang minimal tidak mudah terbakar, tidak bersifat toksisitas rendah dan relative murah. Agen

clearing yang umum digunakan saat ini adalah xylol dan masih menjadi *Gold standart* dalam proses *clearing* jaringan histologi.

Teknisi laboratorium pembuatan sediaan histologi merupakan seseorang yang secara rutin bersentuhan dengan pelarut yang terkontaminasi xylol. Aturan kesehatan dan keselamatan kerja saat ini menyebutkan bahwa paparan xylol dalam suatu ruangan hanya diperbolehkan pada batas rata-rata 100 ppm selama 8-10 jam. Namun untuk seorang teknisi yang bekerja dalam kondisi tersebut (100 ppm) hanya diperkenankan bekerja 40 jam selama seminggu, hanya 3-5 menit pada kondisi ruangan terpapar 200 ppm.

Selain paparan kerja, jalur utama kontak dengan manusia adalah melalui kontaminasi xylol yang masuk ke tanah, air permukaan atau air tanah. Xylol dapat bertahan selama berbulan-bulan atau lebih sebelum terurai menjadi bahan kimia lainnya. Namun, karena mudah menguap, sebagian besar akan masuk ke udara dan dipecah oleh sinar matahari (Kandyala et al., 2010).

Xylol merupakan suatu agen yang umum digunakan di laboratorium sediaan histologi. Xylol memiliki kemampuan larut yang tinggi terhadap agen dehidran dan juga materi parafin. Xylol yang di gunakan pada jaringan dapat memberikan efek transparan.

Meskipun penggunaan xylol sangat berguna, tetapi terdapat dampak yang mengarah pada bahaya kesehatan. Bahaya paparan xylol berupa uap dapat dengan cepat diserap melalui paru-paru dan perlahan melalui kulit. Selain itu, pemaparan xylol dalam jangka waktu lama juga dapat menyebabkan dampak yaitu terjadi akumulasi di dalam jaringan terutama jaringan adiposa dan otot.

Berdasarkan penelitian (Swamy et al., 2015) bahwa beberapa bahan alam seperti minyak wortel minyak pinus minyak zaitun dan minyak mawar dapat digunakan sebagai pengganti xylol pada saat proses *clearing*. Minyak zaitun merupakan minyak atsiri yang berasal dari tanaman zaitun yang memiliki senyawa kimia asam oleat sebesar 85%. Asam oleat ini memiliki sifat dapat larut dalam pelarut non polar seperti benzene, kloroform dan eter sehingga dapat digunakan untuk menghilangkan sisa parafin yang terdapat pada jaringan (Braun & Cohen, 2015). Gandapura (*gaultheria fragrantissima*) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang komponen utamanya adalah metil salisilat

98% . Sebagian besar salisilat yang terdapat pada tanaman gandapura berada dalam bentuk aktif yang disebut gaultherin yang disebut juga pukla memiliki sifat sebagai senyawa anti karsinogenik. Minyak gandapura memiliki sifat yang non polar sehingga dapat menghilangkan sisa parafin yang terdapat pada jaringan (Khristian, 2018).

Banyaknya dampak dari bahaya paparan xylool tersebut maka beberapa lembaga internasional telah menentukan nilai ukuran toksisitas untuk xylool. Kementerian tenaga kerja menetapkan nilai ambang batas sebesar 434 mg/m³ selama 8 jam. Nilai ambang batas (NAB) merupakan konsentrasi dari zat, uap, atau gas dalam udara yang dapat dihirup selama 8 jam per hari selama 5 hari/minggu, tanpa menimbulkan gangguan kesehatan yang berarti dari penggunaan xylool tersebut. Upaya lain yang dapat dilakukan yaitu dengan mengganti larutan pengganti xylool sebagai agen deparafinisasi yang lebih aman. (Kandyala et al., 2010)

Salah satu larutan pengganti xylool sebagai agen clearing yang lebih aman tanpa mengganggu kualitas hasil pemeriksaan yaitu Minyak gandapura (*Gaultheria fragrantissima*). Pada penelitian yang dilakukan oleh Khristian pada tahun 2018 di dapatkan hasil bahwa minyak gandapura dapat dijadikan alternatif menggantikan xylool dalam pembuatan preparat jaringan. Kemudian dilanjutkan pembaharuan oleh Erwin pada tahun 2019 dengan judul “perbedaan kualitas preparat hati marmut pada proses deparafinisasi menggunakan xylool dan minyak zaitun pada pewarnaan HE” di dapatkan hasil bahwa minyak zaitun menunjukkan gambaran mikroskopis yang baik dan tidak ada perbedaan, sehingga minyak zaitun terbukti dapat digunakan sebagai agen *clearing* pengganti xylool pada proses pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE).

Salah satu organ yang dapat digunakan untuk pembuatan sediaan jaringan didalam Laboratorium Patologi Anatomi adalah hepar. Hepar adalah organ intestinal besar dengan berat antara 1,2–1,8 kg dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks. Sebanyak 70% persen dari jumlah sel atau 80% dari volume hepar merupakan sel hepatosit (Suprianto, 2014)

Dalam perkembangannya, penelitian mengenai penggunaan minyak gandapura dan minyak zaitun dapat sebagai pengganti

xylol pada saat proses *clearing* banyak dilakukan, untuk hasil yang lebih memuaskan dan pemanfaatan yang lebih optimal maka penelitian menggunakan *Bio oil* sebagai bahan alternatif untuk proses *clearing* pada pembuatan preparat jaringan hepar penting untuk dilakukan.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah ada perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) preparat hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan *Xylol* dan Minyak gandapura
2. Apakah ada perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) preparat hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan *Xylol* dan minyak zaitun
3. Apakah ada perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) preparat hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan Minyak gandapura dan minyak zaitun

C. Tujuan penelitian

1. Untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) preparat organ hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan *Xylol* dan minyak gandapura
2. Untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) preparat organ hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan *Xylol* dan minyak Zaitun
3. Untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) preparat organ hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan Minyak gandapura dan minyak zaitun

D. Manfaat penelitian

1. Bagi penulis

Menambah ilmu pengetahuan tentang perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) pada preparat hati mencit dengan proses *clearing* menggunakan minyak gandapura, minyak zaitun dan *xylol*, serta pengalaman dan keterampilan pada teknik pemrosesan jaringan bagi penulis.

2. Bagi institusi pendidikan

- a. Untuk mengembangkan penelitian tentang perbedaan hasil pewarnaan preparat hati mencit dengan proses *clearing*

menggunakan minyak gandapura, minyak zaitun dan *xylol*.

- b. Menjadi informasi ilmiah maupun referensi lanjutan untuk peneliti lain dalam upaya pengembangan ilmu pengetahuan di bidang histoteknologi.