

**PERBEDAAN PERLAKUAN WAKTU PEWARNAAN *HEMATOXYLIN* –
EOSIN TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN
SITOPLASMA HATI AYAM**

Skripsi

**Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Gelar
Sarjana Terapan Kesehatan**



Diajukan oleh:

**Desyana Rumpuin
12190843N**

**PROGRAM STUDI D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi :

**PERBEDAAN PERLAKUAN WAKTU PEWARNAAN *HEMATOXYLIN –
EOSIN* TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN
SITOPLASMA HATI AYAM**

Disusun oleh :

Desyana Rumpuin

12190843N

Surakarta, 06 Juli 2023

Menyetujui untuk ujian sidang skripsi

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



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



Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D
NIS. 01201710162232

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi :

PERBEDAAN PERLAKUAN WAKTU PEWARNAAN *HEMATOXYLIN – EOSIN* TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN SITOPLASMA HATI AYAM

Disusun oleh :

Desyana Rumpuin

12190843N

Telah Dipertahankan didepan Tim Penguji

Pada Tanggal 08 Juli 2023

Menyetujui,

Nama

Tanda tangan Tanggal

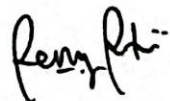
Penguji 1 : Dr. Ifandari S.Si M.Si

 29/8/2023

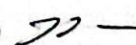
Penguji 2 : dr. Ratna Herawati., M.Biomed

 30/8/2023

Penguji 3 : Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D

 02/9/2023

Penguji 4 : Prof. dr. Marsetyawan HNE S, M.Sc., Ph.D

 09/9/2023

Mengetahui,


Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Sebelas Maret

Prof. dr. Marsetyawan 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

“Diberkatilah orang yang mengandalkan Tuhan, yang menaruh harapannya pada Tuhan.”

(Yeremia 17:7)

“Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan.”

(Yesaya 41:10)

Dengan penuh rasa syukur karya tulis ilmiah ini penulis persembahkan kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa memberikan berkat, hikmat dan Rahmat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi sesuai harapan.
2. Papa tercinta Nethaniel Rumpuin dan Mama tercinta Sri Wiji Lestari yang senantiasa memberikan dukungan, doa luar biasa dan kasih sayang tanpa henti. Terimakasih selalu percaya dan memberikan semangat kepada saya.
3. Kakak tersayang Devis Aristiyo Rumpuin yang selalu memberikan doa dan dukungan serta kasih sayang hingga saat ini.
4. Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D. selaku pembimbing utama dan Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, arahan dan motivasi Ketika penyusunan skripsi.
5. Untuk saudara – saudara tidak sedarah terkasih saya Annisa Nurislah, Endah Intan, Faradilla Rumbouw dan Elsyia Aulia yang selalu menemani saya walaupun secara virtual karena jarak yang memisahkan, dan memberikan banyak semangat dan dukungan selama 7 tahun terakhir ini serta selama penyusunan skripsi.
6. Kepada sahabat – sahabat terkasih Cindy Adelia, Sarah Adriana, Jeanetha Vista, Mediatrix, Dwi, Duasa, Ningtias, Christine yang selalu menemani, mendukung, membantu segala proses penyusunan skripsi saya. Terimakasih sudah membuat kenangan terbaik Bersama selama di Solo.

7. Untuk keluarga Kalbu Giri yang selalu mendukung, mengajari dan menguatkan. Serta selalu menjadi rumah untuk pulang Ketika Lelah dan putus asa.

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya menyatakan bahwa Skripsi ini yang berjudul “Perbedaan Perlakuan Waktu Pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* Terhadap Gambaran Histologi Inti Sel Dan Sitoplasma Hati Ayam” adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu 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, Juli 2023



Desyana Rumpuin

NIM 12190843N

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan YME yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Perbedaan Perlakuan Waktu Pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* Terhadap Gambaran Histologi Inti Sel Dan Sitoplasma Hati Ayam ”. Tugas akhir ini disusun untuk memenuhi Sebagian persyaratan sebagai Sarjana Terapan Kesehatan di Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi.
3. Dian Kresnadipayana, S.Si., M.Si selaku Ketua Program Studi D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi.
4. Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D. selaku pembimbing utama dan Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, memberi nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis selama penyusunan tugas akhir.
5. Orang tua dan keluarga yang telah memberikan doa dan dukungan baik secara material maupun spiritual.
6. dr. Rusnita, Sp.PA., Ibu Wulan dan Mbak Retno yang telah mengijinkan dan membantu penelitian skripsi di RSUD dr. Soeratto Gemolong.
7. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bantuan dari pihak – pihak terkait untuk menyelesaikan tugas akhir ini. Namun, penulis juga menyadari sepenuhnya bahwa karya tulis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran. Akhirnya, penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang Analis Kesehatan.

Surakarta, Juli 2023
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Histologi	4
2. Histoteknik	4
3. Pewarnaan <i>Hematoxylin – Eosin</i>	9
4. Faktor – faktor yang mempengaruhi pewarnaan	10
5. Hepar	11
B. Landasan Teori	12
C. Kerangka Pikir	14
BAB III METODE PENELITIAN	15
A. Rancangan Penelitian	15
B. Tempat dan Waktu Penelitian	15
C. Populasi dan Sampel	15
D. Variabel Penelitian	15
E. Alat dan Bahan	16
F. Prosedur Penelitian	16
G. Alur Penelitian	18

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
A.	Hasil Penelitian.....	20
1.	Gambaran Makroskopis	20
2.	Gambaran Mikroskopis Pewarnaan <i>Hematoxylin – Eosin</i>	20
B.	Pembahasan	22
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
A.	Kesimpulan.....	25
B.	Saran	25
DAFTAR PUSTAKA.....		26
LAMPIRAN		29

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Hepar	11
Gambar 2.2. Kerangka Pikir.....	14
Gambar 3.1. Alur Penelitian.....	18
Gambar 4.1. Gambaran Preparat Histologi Organ Hati Ayam Perlakuan I (<i>Hematoxylin</i> 15 menit, <i>Eosin</i> 5 menit) dibawah Mikroskop perbesaran 100x dan 400x.....	20
Gambar 4.2. Gambaran Preparat Histologi Organ Hati Ayam Perlakuan II (<i>Hematoxylin</i> 20 detik, <i>Eosin</i> 20 detik) dibawah mikroskop perbesaran 100x dan 400x.	21
Gambar 4.3. Gambaran Preparat Histologi Organ Hati Ayam Perlakuan III (<i>Hematoxylin</i> 20 menit, <i>Eosin</i> 10 menit) dibawah mikroskop perbesaran 100x dan 400x.....	21

DAFTAR SINGKATAN

NBF	<i>Neutral Buffer Formalin</i>
pH	<i>Potential Hydrogen</i>
RNA	<i>ribonucleic acid</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
HE	<i>Hematoxylin – Eosin</i>

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1. Prosedur pewarnaan <i>Hematoxylin – Eosin</i>	17
Tabel 4.1. Deskripsi Hasil Pembacaan Preparat Histologi Hati Ayam	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat <i>Ethical Clearance</i>	30
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian	31
Lampiran 3. Surat Perizinan Penelitian	33

INTISARI

DESYANA RUMPUIN, 2023. PERBEDAAN PERLAKUAN WAKTU PEWARNAAN *HEMATOXYLIN* – *EOSIN* TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI INTI SEL DAN SITOPLASMA HATI AYAM. Program Studi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi

Histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang morfologi dan sifat jaringan atau sel yang normal. Histoteknik adalah metode untuk membuat preparat histologi dari spesimen tertentu melalui serangkaian proses hingga menjadi preparat yang siap untuk diamati atau dianalisis menggunakan mikroskop. Penelitian ini menggunakan analisis deskriptif gambaran mikroskopis histologi inti sel dan sitoplasma hepar ayam yang sudah diwarnai menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan gambaran preparat histologi inti sel dan sitoplasma sel hepar ayam dengan variasi lama pewarnaan Hematoksilin – *Eosin*.

Tahap pewarnaan (*staining* diberi variasi perlakuan dengan lama pewarnaan sebagai berikut : Perlakuan I (kontrol) : Pewarnaan *Hematoxylin* selama 15 menit, *Eosin* selama 5 menit. Perlakuan II : pewarnaan *Hematoxylin* selama 20 detik, *Eosin* selama 20 detik. Perlakuan III : pewarnaan *Hematoxylin* selama 20 menit, *Eosin* selama 10 menit.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dipaparkan dapat disimpulkan bahwa waktu pewarnaan berpengaruh terhadap gambaran mikroskopis jaringan. Pewarnaan dengan lama waktu *Hematoxylin* 15 menit dan *Eosin* 5 menit memberikan gambaran mikroskopis yang baik, sedangkan untuk waktu pewarnaan *Hematoxylin* 20 detik *Eosin* 20 detik dan *Hematoxylin* 20 menit *Eosin* 10 menit memberikan gambaran mikroskopis yang kurang baik karena waktu pewarnaan cepat dan lama. Maka lama waktu pewarnaan sangat berpengaruh terhadap hasil mikroskopis jaringan.

Kata kunci: histologi hepar ayam, inti sel, sitoplasma, *Hematoxylin Eosin*, waktu pewarnaan

ABSTRACT

RUMPUIN DESYANA, 2023. DIFFERENCES IN TIME TREATMENT OF HEMATOXYLIN – EOSIN STAINING ON HISTOLOGICAL IMAGES OF CELL CELLS AND CYTOPLASM OF CHICKEN LIVER. D4 HEALTH ANALYST STUDY PROGRAM, FACULTY OF HEALTH SCIENCES, SETIA BUDI UNIVERSITY.

Histology is the study of the morphology and properties of normal tissues or cells. Histotechnics is a method for making histological preparations from certain specimens through a series of processes until they become preparations ready to be observed or analyzed using a microscope. This study used descriptive analysis of microscopic histological images of the nuclei and cytoplasm of chicken livers that had been stained using Hematoxylin Eosin staining. The purpose of this study was to determine the differences in the results of staining of histological preparations of cell nuclei and cytoplasm of chicken liver cells with variations in the duration of Hematoxylin – Eosin staining.

The staining stage (staining) was given various treatments with staining duration as follows: Treatment I (control): Hematoxylin staining for 15 minutes, Eosin for 5 minutes. Treatment II: Hematoxylin staining for 20 seconds, Eosin for 20 seconds. Treatment III: Hematoxylin staining for 20 minutes, Eosin for 10 minutes.

The conclusion of this study is that based on the results of the research and discussion that has been described, it can be concluded that the staining time affects the microscopic appearance of tissue. Staining with Hematoxylin 15 minutes and Eosin 5 minutes gave a good microscopic picture, while for Hematoxylin 20 seconds Eosin 20 seconds and Hematoxylin 20 minutes Eosin 10 minutes stained gave a poor microscopic picture because the staining time was fast and long. So the length of staining time is very influential on the results of tissue microscopy.

Keywords: chicken liver histology, cell nucleus, cytoplasm, Hematoxylin Eosin, coloring time

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang morfologi dan sifat jaringan atau sel yang normal. Histoteknik adalah suatu metode pembuatan preparat histologi dari spesimen tertentu melalui serangkaian proses hingga menjadi preparat yang siap untuk diamati atau dianalisis dibawah mikroskop. Proses histologi meliputi fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembersihan (*clearing*), pembedahan (*embedding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*) (Galang, 2015).

Staining yaitu proses mewarnai preparat dengan pewarnaan tertentu kemudian preparat diamati menggunakan mikroskop. Pada proses ini sel dan komponen jaringan menangkap molekul zat warna tanpa menimbulkan partikel pewarna pada jaringan, sehingga jaringan tampak transparan, biasanya digunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. HE adalah kombinasi dari dua pewarnaan histologi : *Hematoxylin* dan *Eosin*. Pewarna *Hematoxylin – Eosin* paling sering digunakan pada pewarnaan histoteknik. (Galang, 2015).

Dalam Teknik histologi rutin pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* merupakan gold standart atau baku emas karena bisa membedakan secara signifikan gambaran inti sel dengan sitoplasma (Restall, 2021). Jika pH pada masing – masing cat lebih asam atau basa dari pada netral maka hasil pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* lebih baik. *Hematoxylin* bersifat basa, artinya *Hematoxylin* akan mewarnai unsur basofilik jaringan (Ellyawati, 2018).

Hematoxylin memberi warna biru pada inti dan struktur asam lainnya, Sedangkan *Eosin* bersifat asam sehingga akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris, dan kolagen menjadi merah muda. Prinsip pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* adalah kromatin inti akan berikatan dengan cat yang bersifat basa (*Hematoxylin*) sedangkan protein sitoplasma akan berikatan dengan cat yang bersifat asam (*Eosin*) sehingga sel akan berwarna merah muda dan inti berwarna biru keunguan. (Ellyawati, 2018).

Penelitian pernah dilakukan oleh Ika Wahyu dan dalam penelitian tersebut menggunakan variasi lama pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* pada jaringan Ginjal. Dengan 5 variasi pewarnaan yaitu pewarnaan *Hematoxylin* 15 selama menit dan *Eosin* selama 4 menit; *Hematoxylin* selama 5 menit dan *Eosin* selama 2 menit; *Hematoxylin* selama 10 menit dan *Eosin* selama 3 menit; *Hematoxylin* selama 20 menit dan *Eosin* selama 5 menit; *Hematoxylin* selama 25 menit dan *Eosin* selama 6 menit. Dari 5 variasi lamanya pewarnaan didapatkan hasil preparat berwarna lebih merah yaitu *Hematoxylin* selama 5 menit dan *Eosin* selama 2 menit; *Hematoxylin* selama 20 menit dan *Eosin* selama 5 menit sedangkan preparat berwarna lebih biru yaitu *Hematoxylin* selama 10 menit dan *Eosin* selama 3 menit; *Hematoxylin* selama 25 menit dan *Eosin* selama 6 menit.

Tahapan pewarnaan dapat dipengaruhi oleh waktu pewarnaan. Lama waktu dalam proses pewarnaan menentukan kualitas preparat. Waktu perendaman yang terlalu lama atau tidak sesuai dapat menyebabkan preparat menjadi gelap sehingga tidak dapat mengamati dan membedakan jaringan yang menjadi target pengamatan (Abdullah, 2017). Prosedur standar yang digunakan pada pewarnaan menggunakan *Hematoxylin* dengan waktu 15 menit dan *Eosin* 5 menit inti sel dan sitoplasma terlihat jelas (Parmenkes). Menurut panduan Leica prosedur standar yang digunakan pada pewarnaan *Hematoxylin* 3 menit dan *Eosin* 1 menit mendapatkan hasil sitoplasma dan inti terlihat jelas pada mikroskop (Elen, 2019). Menurut Ellyawati (2018), pewarnaan menggunakan *Hematoxylin* 20 detik dan *Eosin* 20 detik mendapatkan hasil yang baik dalam pembuatan preparat histologi hati dengan hasil inti sel dan sitoplasma terlihat jelas sehingga mudah dibedakan.

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti akan melakukan penelitian mengenai variasi waktu pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* dengan mengurangi dan menambah waktu pewarnaan pada Hati ayam. Alasan peneliti mengambil penelitian ini adalah untuk mencari waktu pewarnaan yang lebih cepat tetapi juga mendapatkan hasil yang bagus karena nantinya di dunia kerja akan mempengaruhi TAT sebuah instansi. Dengan dilakukan variasi lama pewarnaan menggunakan *Hematoxylin – Eosin* peneliti dapat melihat perbedaan hasil pewarnaan jaringan hati ayam, saat

menambah lama pewarnaan apakah jaringan akan terwarnai dengan jelas ataukah jaringan akan tertutupi oleh larutan pewarna begitupun sebaliknya dengan mengurangi lama pewarnaan dari waktu baku apakah hasil jaringan terwarnai dengan baik ataukah hasil jaringan malah buram atau bahkan tidak terwarnai.

B. Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan gambaran histologi inti sel dan sitoplasma hati ayam dengan perlakuan waktu pewarnaan *Hematoxylin – Eosin*.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui perbedaan gambaran histologi inti sel dan sitoplasma hati ayam dengan perlakuan waktu pewarnaan *Hematoxylin – Eosin*.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti, melatih keterampilan dalam penulisan karya ilmiah, menambah pengetahuan dan wawasan serta menerapkan ilmu yang didapatkan selama studi terutama dalam bidang sitohistoteknologi
2. Bagi Institusi Pendidikan, menambah khasanah ilmu Pendidikan khususnya mengenai pengaruh lama pewarnaan *Hematoxylin – Eosin* pada pewarnaan histologi