

GAMBARAN JARINGAN HATI PADA TAHAP *CLEARING* MENGGUNAKAN EKSTRAK JERUK NIPIS PADA PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN

Yulya Putri Wulandari¹, Fitri Nuroini^{2*}, dan Tuus Ariyadi²⁾

¹ Program Studi D-III Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

²Laboratorium Sitohistoteknologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

*Email korespondensi: fitrinuroini@unimus.ac.id

ABSTRAK

Histoteknik adalah metode untuk membuat preparat histologi, dalam proses histoteknik terdapat *clearing* prosesing jaringan dan *clearing* pewarnaan HE. Jeruk nipis mengandung asam sitrat 7-7,6% kandungan tersebut dapat menggantikan *xylol* dalam agent *clearing*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui gambaran jaringan hati pada proses *clearing* menggunakan ekstrak jeruk nipis pada prosesing jaringan dan pewarnaan HE. Jenis penelitian deskriptif, obyek penelitian adalah organ dan preparat hati marmut, tahap *clearing* prosesing jaringan dan pewarnaan HE menggunakan ekstrak jeruk nipis. Penilaian kualitas jaringan dan preparat menggunakan skoring 1-3 dengan penilaian tidak baik, kurang baik dan baik. Hasil *clearing* prosesing jaringan diperoleh skor 1 dengan nilai tidak baik yaitu jaringan terlihat tidak jernih dan transparan. Pengamatan kualitas preparat hati dengan pewarnaan HE diperoleh skor 2 dengan nilai kurang baik dengan warna ungu pada inti sel dan warna merah muda pada sitoplasma terlihat kurang jelas serta warna preparat sama. Ekstrak jeruk nipis menunjukkan hasil yang tidak baik apabila digunakan pada tahap *clearing* prosesing jaringan maupun tahap pewarnaan HE pada jaringan hati.

Kata Kunci: ekstrak jeruk nipis, *clearing*, prosesing jaringan, pewarnaan HE

ABSTRACT

Histotechnic is a method for making histological preparations. There is *clearing* at tissue processing and HE staining. Lime has 7-7.6% citric acid, which can replace *xylol* as a *clearing* agent. The purpose of this study was to determine the liver's description using the lime extract for tissue processing and HE staining. For this type of descriptive research, the object of research was the organ and liver preparations of guinea pigs, the *clearing* stage of tissue processing, and HE staining using lime extract. The assessment of tissue quality and preparations used a score of 1-3 with an assessment of bad, poor, and good. The *clearing* on tissue processing obtained a score of 1, which was a bad result because the tissue wasn't clear and translucent. Observation of the quality of liver preparations with HE staining obtained a score of 2 with a poor value, with purple color on the cell nucleus and pink color in the cytoplasm that was less clear, and the color of the preparations was the same. The lime extract showed poor results when used in the *clearing* stage of tissue processing and for HE staining on liver tissue.

Keywords: lime extract, *clearing*, tissue processing, HE staining

I. PENDAHULUAN

Histoteknik adalah metode untuk membuat preparat histologi dari spesimen tertentu melalui serangkaian proses hingga menjadi preparat yang siap untuk diamati atau dianalisis menggunakan mikroskop (Supriyanto, 2014). Preparat histologi yang baik dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan kondisi yang sebenarnya pada waktu hidup. Proses dalam pembuatan preparat histologi adalah fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembeningan (*clearing*), pembedaan (*embedding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*), dan pelabelan (*labeling*) [1] [2] [3].

Pembeningan (*Clearing*) adalah salah satu proses dalam pembuatan histologi yang bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan setelah proses dehidrasi dan menggantikannya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Jaringan tidak dapat langsung dimasukkan ke dalam parafin karena alkohol dan parafin tidak bisa saling berikatan [4]. *Clearing* juga bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan agar jaringan tidak mudah membusuk. Hasil *clearing* yang baik akan membuat jaringan terlihat transparan [5].

Bahan yang sering digunakan dalam tahap *clearing* prosesing jaringan adalah *xylol* karena dapat memberikan hasil yang baik dan dapat memberikan efek transparan dengan cepat [6]. *Xylol* merupakan bahan kimia yang memiliki rumus atom $C_6H_4(CH_3)_2$ [7]. Namun *xylol* memiliki kekurangan diantaranya harga relatif mahal, bersifat *toxic*, berbahaya bagi tubuh manusia dan menyebabkan pengerutan pada jaringan jika terlalu lama dalam proses

perendaman [8]. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain dari bahan alami yang dapat digunakan sebagai pengganti *xylol* pada tahap *clearing* prosesing jaringan. Berdasarkan penelitian Aenun (2018) diketahui bahwa *xylol* dapat digantikan dengan bahan alami yaitu jeruk nipis pada proses deparafinisasi karena mengandung asam sitrat dan limonene [9]. Penelitian ini akan dilakukan dengan mengganti *xylol* pada tahap *clearing* prosesing jaringan dan pewarnaan hematoksin eosin menggunakan ekstrak jeruk nipis konsentrasi 100%. Pemilihan konsentrasi tersebut bertujuan untuk menghilangkan alkohol secara maksimal pada tahap *clearing* prosesing jaringan dan menghilangkan sisa air pada proses *clearing* di tahap pewarnaan Hematoksin Eosin (HE).

Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong agar jaringan mudah dikenal pada saat pengamatan menggunakan mikroskop. HE merupakan zat warna yang sering digunakan dalam pewarnaan histoteknik [10]. Hematoksin bersifat basa, artinya hematoksin akan mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoksin memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel menjadi biru. Sedangkan eosin bersifat asam sehingga akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris, dan kolagen menjadi merah muda [11].

Jeruk nipis mengandung asam sitrat 7-7,6%, lemak, asam amino, kalsium, fosfor, minyak atsiri, dan minyak atsiri limonene [12] [13]. Asam sitrat yang ada pada jeruk nipis dapat menggantikan *xylol* pada tahap *clearing* prosesing jaringan karena asam sitrat dapat melarutkan lemak [14]. Asam sitrat adalah pelarut *hidrofilik* (polar), mirip seperti air dan etanol Asam sitrat memiliki konstanta dielektrik sehingga dapat melarutkan baik senyawa polar seperti garam anorganik maupun senyawa non polar seperti minyak dan unsur-unsur sulfur, iodin, timbal di dalamnya [15]. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui gambaran jaringan hati pada tahap *clearing* menggunakan ekstrak jeruk nipis pada prosesing jaringan dan pewarnaan HE. Gambaran jaringan hati diketahui dengan menilai kualitas jaringan hati setelah tahap *clearing* pada prosesing jaringan dan menilai kualitas preparat jaringan hati pada pewarnaan HE.

II. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian adalah deskriptif dengan obyek penelitian berupa jaringan hati dan preparat jaringan hati marmut. Bahan yang digunakan adalah ekstrak jeruk nipis, hati marmut, alkohol (70%, 80%, 96%, 100%), cat hematoksin eosin, parfin, *xylol*, dan etanol. Alat yang digunakan antara lain *staining jar*, kaset jaringan, mikrotom, *basemold*, *waterbath*, *blender*, dan mikroskop. Penelitian dilakukan di Laboratorium Sitohistoteknologi, Analisis Kesehatan Fikkes, Unimus pada bulan Juni-Juli 2020. Kualitas jaringan setelah dilakukan *clearing* pada pemrosesan jaringan ditunjukkan dengan tingkat kejernihan dan transparansi jaringan berdasarkan skoring. Jaringan hati yang tidak jernih dan transparan diberikan skor 1 dengan nilai tidak baik. Jaringan hati yang sedikit jernih dan transparan diberikan skor 2 dengan nilai kurang baik. Jaringan hati yang jernih dan transparan diberikan skor 3 dengan nilai baik. Kualitas preparat jaringan hati dinilai berdasarkan kejelasan warna biru pada inti sel dan warna merah (*eosin*) pada sitoplasma, serta keseragaman warna preparat berdasarkan skoring. Skor 1 (tidak baik) apabila warna biru pada inti sel dan warna merah pada sitoplasma tidak jelas, serta warna pada preparat tidak sama (seragam). Skor 2 (kurang baik) apabila warna biru pada inti sel dan warna merah pada sitoplasma kurang jelas, serta warna pada preparat sama (seragam). Skor 3 (baik) apabila warna biru pada inti sel dan warna merah pada sitoplasma jelas, serta warna pada preparat sama (seragam). Ekstrak jeruk nipis diperoleh dari campuran perasan bagian daging buah dengan kulit jeruk yang dihaluskan menggunakan *blender*, selanjutnya disaring dan dipanaskan untuk mengurangi kadar air. Pembuatan preparat menggunakan metode parafin, dan pengecatan menggunakan hematoksin eosin (HE). Pengumpulan data diperoleh dari pengamatan preparat yang telah melalui tahap *clearing* prosesing jaringan menggunakan *xylol* dan ekstrak jeruk nipis 100%. Gambaran kualitas preparat dilihat dari skor yang diperoleh, kemudian dilakukan analisis secara diskriptif.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

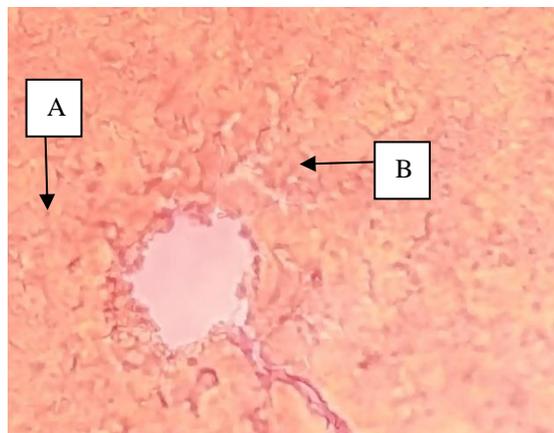
Sampel jaringan hati pada penelitian ini diberikan perlakuan pada tahap *clearing* prosesing jaringan dengan mengganti *xylol* dengan ekstrak jeruk nipis 100%. Kriteria keberhasilan pada tahap *clearing* prosesing jaringan adalah jaringan terlihat jernih dan transparan. Hasil tahap *clearing* prosesing jaringan menggunakan ekstrak jeruk nipis 100% diperoleh skor rata-rata 1 yang artinya jaringan hati tidak terlihat jernih dan transparan. Hasil penilaian kualitas preparat dengan pewarnaan HE diperoleh skor rata-rata 2 yang artinya warna ungu pada inti sel kurang jelas, warna merah muda (*eosin*) pada sitoplasma kurang jelas, dan warna pada preparat sama. Hasil penilaian

kualitas jaringan dan preparat dengan pewarnaan HE dengan menggunakan ekstrak jeruk nipis 100% pada tahap *clearing* prosesing jaringan disajikan pada Gambar 1. dan Gambar 2. berikut.



Gambar 1. Kualitas jaringan hati tahap *clearing* pada prosesing jaringan

Gambar 1 menunjukkan jaringan hati yang tidak jernih dan tidak transparan pada *clearing* prosesing jaringan menggunakan ekstrak jeruk nipis 100%.



Gambar 2. Kualitas pewarnaan preparat hati tahap *clearing* prosesing jaringan menggunakan ekstrak jeruk nipis 100%; A: inti, B: sitoplasma (400x, HE)

Gambar 2 menunjukkan kualitas pewarnaan preparat hati pada tahap *clearing* prosesing jaringan menggunakan ekstrak jeruk nipis 100% menunjukkan warna ungu pada inti sel kurang jelas, warna merah muda (*eosin*) pada sitoplasma juga kurang jelas, secara keseluruhan warna pada preparat sama. Hasil tersebut menunjukkan hasil yang kurang baik dengan skor 2.

Penggunaan ekstrak jeruk nipis pada tahap *clearing* prosesing jaringan secara mikroskopis dan makroskopis memperlihatkan hasil jaringan yang kurang baik secara berturut-turut diperoleh skor rata-rata 1 dan skor rata-rata 2. Hasil yang kurang maksimal tersebut kemungkinan disebabkan karena ekstrak jeruk yang digunakan berasal dari kulit dan buahnya. Bagian buah jeruk banyak mengandung air, walaupun dilakukan pemanasan untuk mengurangi kadar air akan tetapi masih terdapat kandungan air yang tersisa. Kondisi tersebut menyebabkan pengeluaran alkohol yang berada pada jaringan tidak dapat keluar secara maksimal, sehingga jaringan hati tidak jernih dan transparan. Akibat lanjutannya adalah jaringan menjadi tidak terinfiltrasi parafin secara maksimal, karena parafin tidak dapat bercampur dengan alkohol [16] [17]. Berdasarkan hasil penilaian kualitas preparat diketahui bahwa preparat jaringan hati tidak dapat terwarnai dengan baik oleh pewarna hematoxilin dan eosin. Semua bagian pada preparat jaringan terwarnai merah sehingga susah dibedakan antara bagian inti sel dan sitoplasma. Hasil tersebut disebabkan karena pada proses pematangan jaringan (mulai dari tahap *clearing* sampai infiltrasi parafin) tidak sempurna sehingga menyebabkan bagian sel baik inti maupun sitoplasma jaringan hati tidak dapat menyerap warna dengan baik [17]. Faktor lain disebabkan karena kandungan asam sitrat pada ekstrak jeruk nipis 7,6% sehingga dengan kadar tersebut belum dapat menggantikan *xylol* pada *clearing* prosesing jaringan maupun pewarnaan HE.

Kualitas preparat yang baik dapat memberi gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan jaringan dalam kondisi pada waktu masih hidup [18]. Proses *clearing* pada preparat jaringan hati menggunakan ekstrak jeruk nipis 100% menunjukkan hasil yang

kurang baik karena tidak dapat melihat bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat dengan jelas. *Clearing* prosesing jaringan dan pewarnaan HE menggunakan ekstrak jeruk nipis 100% tidak dianjurkan karena jaringan yang dihasilkan kurang jernih dan transparan, sehingga warna dan gambaran inti serta sitoplasma pada preparat tidak baik. Penggunaan ekstrak jeruk nipis untuk pengganti *clearing* dapat dilakukan untuk penelitian berikutnya tanpa menyertakan bagian daging buah jeruk, jadi hanya dari bagian kulitnya saja. Proses *clearing* jaringan sebaiknya menggunakan *xylol* dengan syarat memakai alat pelindung diri dan tidak merendam jaringan terlalu lama pada *xylol* karena dapat menyebabkan pengerutan pada jaringan.

IV. KESIMPULAN

Kualitas jaringan hati pada proses *clearing* diperoleh jaringan yang kurang baik (skor 1), jaringan tidak jernih dan transparan. Kualitas preparat jaringan hati yang menggunakan ekstrak jeruk nipis pada proses *clearing* pewarnaan HE diperoleh hasil yang kurang baik (skor 2), warna biru pada inti sel kurang jelas, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma kurang jelas, serta warna pada preparat sama.

V. REFERENSI

- [1] Jusuf A.A., *Histoteknik Dasar*, Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2009.
- [2] Anil, S & Rajendra, R., *Routine Histotechniques, Staining and Notes On Immunohistochemistry*. Jakarta: Elsevier, 2008.
- [3] Sari, P.J., “Histoteknik Perfusi PBS Formalin dan Gambaran Histologi Organ Hepar, Pankreas, dan Ginjal Tikus Strain Sprague Dawley” UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, 2015.
- [4] Sugihanti A.S., “Pengaruh Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Aspek Reproduksi Mencit (Mus Musculus) BALB/C Jantan”. Universitas Pendidikan Indonesia, 2017.
- [5] Damayanti, I.A., “Perbandingan Kualitas Lima Macam Jaringan Kanker Menggunakan Xylol dan Ekstrak Jeruk Purut Pada Deparafinisasi”. Universitas Muhammadiyah Semarang, 2019
- [6] Faridah, Ariyadi, T., Nuroini, F. “Perbedaan Densitas Warna Inti dan Sitoplasma Preparat Ginjal Marmut pada Proses *Clearing* Menggunakan *Xylol* dengan Minyak Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) pada Pembuatan Preparat Jaringan”. Universitas Muhammadiyah Semarang, 2019.
- [7] Lael, F.B., “Perbedaan Penggunaan *Xylol* (Xylene) dan *Toluol* (Toluene) pada Proses *Clearing* Terhadap Kualitas Preparat Awetan Permanen Cimex Lectularius”. Universitas Muhammadiyah Semarang, 2018.
- [8] Kunhua, A., Chuming, F., Tao, L., Yanmi, Y., Xin, Y., Xiaoming, Z., & Xun, L. “Novel Non-Toxic Xylene Substitute (SBO) for Histology”, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.*, vol. 9, no. 1, 2012.
- [9] Aenun, S., “Perasan Kulit Jeruk Nipis Sebagai Deparafinisasi Pada Pengecatan HE”. Universitas Muhammadiyah Semarang, 2018.
- [10] Jamie, M., *Education guid: special stains and H&E*, Second edition. Amerika: California, US., 2010.
- [11] Sastrohadinoto, S., Hartono, R., Sikar, S., Soegiri, N., Sukra, J., *Makro dan Mikroteknik Bidang Zoologi*. Institut Pertanian Bogor, 1973.
- [12] Khanifah, F., “Efek Pemberian Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) Terhadap Pembentukan, Pertumbuhan, dan Penghancuran biofilm *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*”. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, 2015.
- [13] Sarwono, B., *Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis*. Jakarta: Agro Media Pustaka, 2001.
- [14] Saputri, M. R., “Rachmadiarti & Raharjo, Penurunan Logam Berat Timbal (Pb) Ikan Nila (*Tilapia nilotica*) Kali Surabaya Menggunakan Filtrat Jeruk Siam (*Citrus nobilis*)”. *Jurnal Lentera Bio*, vol. 4, no. 2, 2015.
- [15] Zuhro, M. V., “Pengaruh Perendaman Larutan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* swingle) Terhadap Penurunan Kandungan Timbal (Pb) Kerang Manis (*Macrta grandis* Gmelia) Serta Aplikasinya Sebagai Buku Pengayaan”. 2015.
- [16] Suvarna, S.K., Layton, C., & Bancroft, J.D. 2016. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Ed 8. Elsevier. Churchill Livingstone.
- [17] Khristian, E dan Inderiawati, D. 2017. *Sitohistoteknologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [18] Mescher, AL. 2016. *Basic Histology*. Indiana University Bloomington. Indiana.