

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Histoteknik adalah metode yang digunakan untuk mempersiapkan spesimen menjadi sediaan yang dapat diamati dan dianalisis. Hasil akhir dari metode ini berupa preparat histologi yang telah diwarnai sesuai dengan kebutuhan analisis (Putri & Sofyanita, 2023). Proses pembuatan sediaan histologi melibatkan beberapa tahapan, dimulai dari fiksasi, dilanjutkan dengan proses dehidrasi, penjernihan, pembedaan, pengirisan, hingga pewarnaan (Sumiwi dkk., 2023).

Pada tahap pewarnaan, pewarna yang paling umum yang digunakan adalah Hematoksin Eosin (HE). Hematoksin merupakan zat pewarna bersifat basa yang memberikan warna biru pada struktur sel yang bersifat asam (basofilik), seperti inti sel dan ribosom. Sedangkan eosin merupakan pewarna yang bersifat asam dan memberikan warna merah pada struktur sel yang bersifat basa (eosinofilik), seperti sitoplasma (Dirgambiro & Parwanto, 2023).

Tahap pewarnaan dengan Hematoksin-Eosin pada preparat jaringan akan melewati beberapa proses yaitu deparafinisasi, rehidrasi, pewarnaan hematoksin, dehidrasi, pewarnaan eosin, clearing, dan mounting. Tahap awal yang dilalui pada proses pewarnaan adalah deparafinisasi. Proses ini bertujuan untuk menghilangkan parafin dari jaringan agar memaksimalkan penyerapan pewarna pada sediaan jaringan (Sumanto, 2014). Parafin merupakan campuran hidrokarbon yang tidak larut dalam air (hidrofobik) sehingga harus

menggunakan pelarut non polar untuk dapat melarutkannya. Pelarut non polar yang umumnya digunakan untuk deparafinisasi adalah xylol (Khristian & Inderiati, 2017).

Xylol secara kimiawi merupakan senyawa hidrokarbon aromatik yang bersifat nonpolar dan tidak larut dalam air. Struktur kimianya yang terdiri dari cincin benzena dengan dua gugus metil membuatnya efektif dalam melarutkan parafin yang juga bersifat nonpolar. Sifat pelarut yang kuat ini menjadikan xylol mampu menembus lapisan parafin dan membersihkannya dari jaringan, sehingga memungkinkan proses pewarnaan berjalan dengan baik (Kandyala dkk., 2010). Namun, paparan xylol dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan efek buruk serius dan tahan lama yang melibatkan risiko kesehatan yang signifikan. Efek toksik dari xylol yang dapat terjadi meliputi neurotoksisitas akut, cedera organ seperti hati, ginjal, dan jantung, hingga dampak karsinogenik. Paparan jangka panjang juga dapat menyebabkan gangguan hematologi, termasuk pansitopenia (Swamy dkk., 2015 ; Pandey dkk., 2014).

Minyak zaitun merupakan salah satu alternatif alami yang diusulkan untuk menggantikan xylol dalam proses deparafinisasi karena bersifat aman, ramah lingkungan, dan mudah diperoleh (Pratiwi & Armalina, 2021). Kandungan utama minyak zaitun adalah trigliserida dan asam lemak tak jenuh seperti asam oleat, yang bersifat nonpolar dan larut dalam pelarut organik termasuk parafin (Boskou dkk., 2006). Komposisi ini memungkinkan minyak zaitun melunakkan dan melarutkan parafin dari jaringan tanpa merusak struktur

sel. Selain itu, kemampuan minyak zaitun dalam membersihkan sisa parafin mendukung penyerapan zat warna secara optimal, sehingga menghasilkan pewarnaan jaringan yang jelas dan merata (Sermadi Z M dkk., 2019).

Peneliti telah melakukan uji pendahuluan menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C selama 10 menit sebagai agen deparafinisasi dalam proses pewarnaan hematoksilin eosin pada pembuatan preparat jaringan hepar mencit (*Mus musculus*). Uji pendahuluan tersebut menunjukkan hasil pewarnaan yang jernih tanpa sisa parafin. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian oleh Ghost, dkk (2016) yang menyatakan bahwa hasil deparafinisasi menggunakan minyak zaitun lebih optimal pada suhu 60°C dibandingkan suhu 30°C dan 90 °C. Begitu pula dengan penelitian oleh Mayangsari, dkk. (2019) yang menggunakan minyak zaitun suhu 60°C selama 10 menit pada proses deparafinisasi mendapatkan hasil yang sama bagusnyanya dengan xylol.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti akan melakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan minyak zaitun sebagai agen deparafinisasi terhadap kualitas pewarnaan hematoksilin eosin pada jaringan hepar mencit. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan pembuatan sediaan jaringan pada tahap deparafinisasi yang lebih aman dan ramah lingkungan di laboratorium.

B. Pertanyaan Penelitian

Bagaimana kualitas pewarnaan hematoksilin eosin pada jaringan hepar mencit yang dideparafinisasi menggunakan minyak zaitun?

C. Tujuan Penelitian

Mengetahui kualitas pewarnaan hematoksilin eosin dengan parameter kejelasan warna inti sel dan sitoplasma, keseragaman pewarnaan dan kejernihan pewarnaan pada jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang menggunakan minyak zaitun sebagai agen alternatif deparafinisasi.

D. Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini adalah ilmu Teknologi Laboratorium Medis, khususnya sub bidang Histoteknologi.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah kepustakaan dan memberikan informasi ilmiah mengenai kualitas pewarnaan hematoksilin eosin pada organ yang dideparafinisasi menggunakan minyak zaitun sebagai agen alternatif pengganti xylol.

2. Manfaat Praktis

a. Bagi Tenaga Laboratorium Medis

Penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan agar dapat meningkatkan keamanan dalam pembuatan sediaan jaringan khususnya pada proses deparafinisasi bagi seorang ATLM.

b. Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan, pengalaman dan keterampilan peneliti di bidang histoteknologi.

F. Keaslian Penelitian

1. Penelitian oleh Ghost, S., dkk. (2016) dengan judul “*Quest for Biofriendly Xylene Substitutes in Histopathology: A Comparative Study*”. Variabel yang diteliti meliputi kualitas pewarnaan hematoksin eosin (HE) pada jaringan (outline sel, detail sitoplasma dan inti, kejernihan, integritas jaringan), yang dibandingkan antara tiga agen clearing dan deparafinisasi yaitu xylene sebagai agen konvensional, serta minyak zaitun dan *refined sunflower oil* (RSO) sebagai agen alternatif. Penelitian menggunakan jaringan hewan (mukosa bukal, kelenjar ludah, hati, dan limfa kambing) yang diproses dan diwarnai menggunakan metode standar HE. Penilaian kualitas preparat dilakukan berdasarkan kriteria histomorfologi yang telah ditentukan. Analisis statistik yang digunakan meliputi uji *Kruskal–Wallis*, *Mann–Whitney U-test*, dan uji *Chi-square* untuk membandingkan ketiga kelompok, serta uji Kappa untuk mengukur kesepakatan antar penilai. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak zaitun memiliki kemampuan *clearing* dan deparafinisasi yang sebanding dengan xylene dan lebih unggul dibandingkan RSO. Minyak zaitun menghasilkan kualitas pewarnaan HE yang baik, mempertahankan integritas jaringan, dan tidak menimbulkan artefak. Optimum hasil deparafinisasi diperoleh pada suhu 60°C, karena pada suhu ini minyak memiliki viskositas rendah, penetrasi lebih baik, serta tidak merusak jaringan seperti pada suhu 90°C. Penelitian ini menyimpulkan bahwa minyak zaitun dapat digunakan sebagai

pengganti xylene yang ramah lingkungan dalam laboratorium histopatologi.

2. Penelitian Mayangsari, dkk. (2019) dengan judul “Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut pada Proses Deparafinasi Menggunakan Xylol dan Minyak Zaitun pada Pewarnaan HE”. Variabel yang diteliti adalah kualitas pewarnaan inti sel dan sitoplasma jaringan ginjal marmut yang menggunakan xylol sebagai agen deparafinisasi konvensional dan minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 60°C sebagai agen alternatif deparafinisasi. Penelitian tersebut menggunakan perangkat lunak/*software Image J* untuk melihat densitas warna inti dan sitoplasma yang kemudian dianalisis menggunakan uji statistik. Uji Statistik yang digunakan adalah uji kenormalan data Saphiro-Wilk dan uji independet sample t test untuk menguji kualitas warna inti dan sitoplasma dua kelompok yaitu antara xylol dan minyak zaitun. Hasil penelitian tersebut adalah minyak zaitun dapat dijadikan alternatif untuk menggantikan xylol sebagai agen deparafinasasi pada preparat histologi pewarnaan HE yang ditunjukkan dengan kualitas preparat ginjal marmut pada proses deparafinisasi xylol dengan minyak zaitun pada pewarnaan HE tidak ada perbedaan atau memiliki kualitas warna inti dan sitoplasma yang sama bagusnya.
3. Penelitian oleh Sermadi, dkk. (2019) dengan judul “*Olive oil as xylene substitute*”. Variabel yang diteliti meliputi perubahan makroskopis pada

jaringan (transparansi, kekakuan, penyusutan), detail seluler dan nuklear, kualitas pewarnaan (histokimia dan imunohistokimia) dan perbedaan morfometrik luas rata-rata sel epitel parabasal dan asini mukosa pada proses clearing yang menggunakan xylene sebagai agen konvensional dan minyak zaitun sebagai agen alternatif pengganti xylene. Analisis statistik yang digunakan untuk membandingkan data adalah uji *Wilcoxon matched pair test* dan uji *Mann-Whitney u test*. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara dua agen clearing (xylol dan minyak zaitun) dalam hal perubahan jaringan secara makroskopis, kecuali pada kekakuan setelah pembersihan. Penyusutan jaringan secara makroskopis yang signifikan secara statistik terlihat pada xylene, tetapi tidak terjadi pada jaringan yang diproses dengan minyak nabati. Detail seluler terjaga dengan baik, dan intensitas pewarnaan seragam. Dalam pewarnaan histokimia dan imunohistokimia, tidak ditemukan perbedaan. Secara morfometrik, terdapat perbedaan signifikan pada luas rata-rata sel epitel (parabasal) dan asini mukosa pada jaringan yang diproses dengan xylene dibandingkan dengan minyak zaitun. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa minyak zaitun dapat digunakan sebagai pengganti xylene tanpa mengurangi kualitas diagnostik.