

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Jalan Penelitian

Penelitian yang berjudul “Penggunaan Minyak Kelapa Murni sebagai Agen Deparafinisasi pada Pewarnaan Hematoksin Eosin Jaringan Kanker Payudara” telah mendapat persetujuan layak etik berdasarkan surat nomor: DP.04.03/e-KEPK.1/1313/2025. Penelitian ini diawali dengan uji pendahuluan berupa uji viskositas pada minyak kelapa murni yang akan digunakan dalam penelitian, dilaksanakan pada tanggal 19-20 Oktober 2025 di Laboratorium Kimia Departemen Pendidikan Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta. Uji pendahuluan ini bertujuan untuk mengetahui viskositas minyak kelapa murni guna menentukan durasi deparafinisasi pada minyak kelapa murni.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah blok parafin jaringan kanker payudara bulan September tahun 2024 yang diperoleh dari arsip Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Aisyiyah Ponorogo. Arsip yang dipilih telah memenuhi kriteria inklusi, yaitu blok jaringan terbaru dengan rentang waktu blok jaringan 2024-2025. Blok jaringan dalam kondisi baik dan telah melalui proses pematangan jaringan dengan NBF 10%. Blok jaringan histopatologi yang digunakan memiliki diagnosis kanker payudara yaitu *Invasive Carcinoma NST Grade 1*.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis potongan jaringan mammae tersusun dari proliferasi sel epitel kelenjar duktuli anaplastik, inti tampak pleomorfik ringan, kromatin kasar, anak inti prominent, mitosis 2/10 HPF, 85% membentuk struktur tubular, dan tidak tampak angioinvasi. Dasar operasi serta tepi-tepi operasi bebas tumor dan metastase 2 KGB yang didapat. Pewarnaan serta pengamatan hasil pewarnaan dilakukan pada tanggal 30 Desember 2025 – 2 Januari 2026 di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Aisyiyah Ponorogo.

Penelitian diawali dengan *trimming* kasar dan halus pada blok jaringan kanker payudara menggunakan mikrotom. Selanjutnya dilakukan *sectioning* blok menjadi 15 preparat dengan rincian masing-masing 5 preparat untuk 3 kelompok uji. Preparat akan melalui proses deparafinisasi, rehidrasi, pewarnaan, dehidrasi dan *clearing*. Pemotongan blok dilakukan oleh Tenaga Teknologi Laboratorium Medis (TTLM) dari Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Aisyiyah Ponorogo.

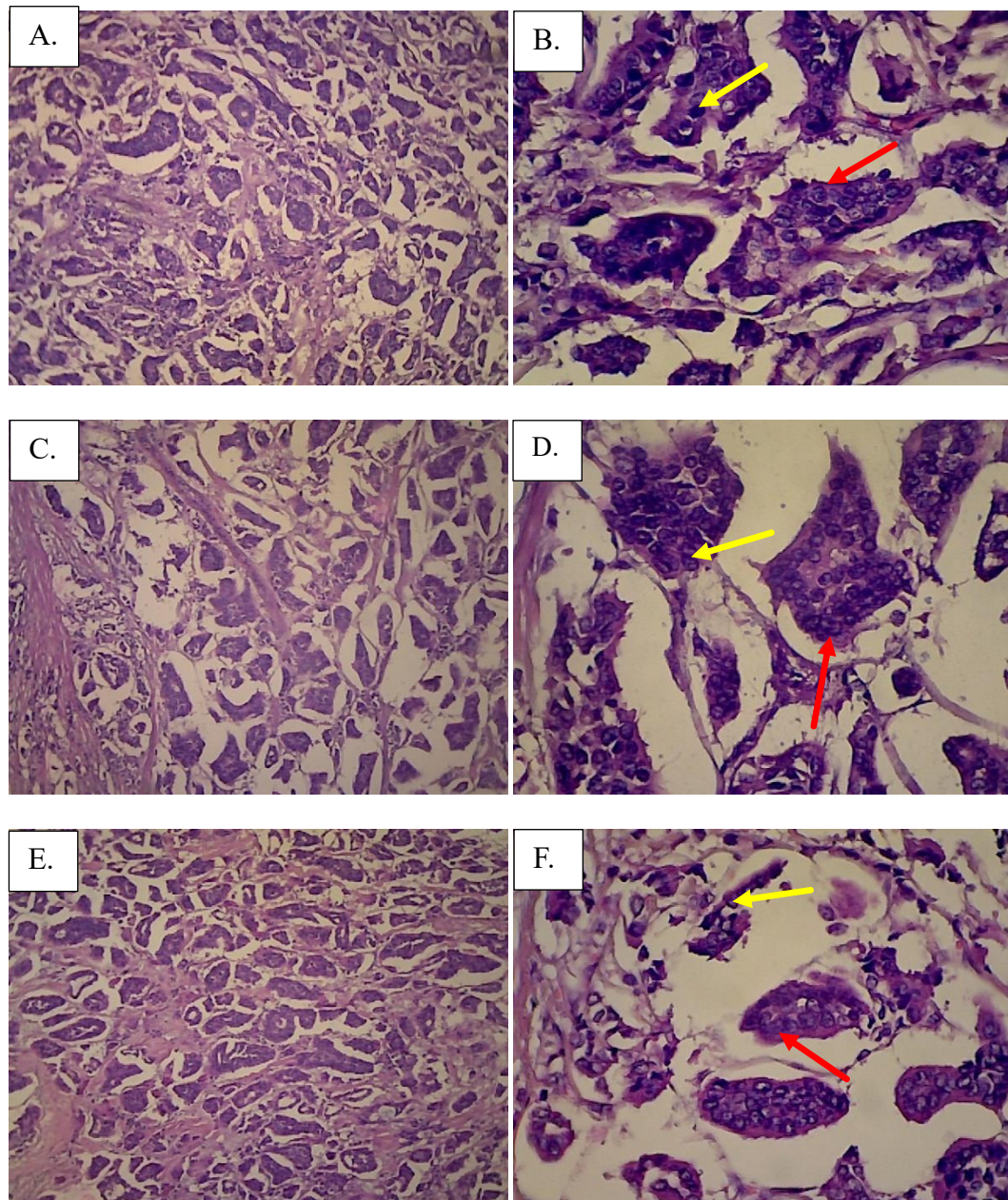
Proses pewarnaan diawali oleh tahap deparafinisasi. Preparat dipanaskan diatas *hotplate* pada suhu 60°C hingga transparan yang menandakan parafin cair. Proses ini dilakukan untuk memudahkan parafin larut pada agen deparafinisasi sehingga tidak meninggalkan residu pada preparat. Deparafinisasi dilakukan dengan xylol, minyak kelapa murni dengan pemanasan suhu 50°C selama 10 menit dan 60°C selama 8 menit menggunakan *parafin dispenser*. Preparat kemudian dilakukan proses rehidrasi, *clearing* dan pewarnaan dengan hematoxilin-eosin.

Hasil pengamatan mikroskopis preparat kanker payudara dengan deparafinisasi menggunakan xylol, minyak kelapa murni suhu 50 dan suhu 60°C selama 8 menit disajikan dalam bentuk skoring dalam tabel berikut :

Kelompok	Sampel	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	Rerata sampel	Rerata kelompok
Xylol	X.1	3	3	3	3	3	3	3
	X.2	3	3	3	3	3	3	
	X.3	3	3	3	3	3	3	
	X.4	3	3	3	3	3	3	
	X.5	3	3	3	3	3	3	
Minyak kelapa murni 50°C 10 menit	MK5.1	3	3	3	3	3	3	3
	MK5.2	3	3	3	3	3	3	
	MK5.3	3	3	3	3	3	3	
	MK5.4	3	3	3	3	3	3	
	MK5.5	3	3	3	3	3	3	
Minyak kelapa murni 60°C 8 menit	MK6.1	3	3	3	3	3	3	3
	MK6.2	3	3	3	3	3	3	
	MK6.3	3	3	3	3	3	3	
	MK6.4	3	3	3	3	3	3	
	MK6.5	3	3	3	3	3	3	

Penilaian hasil pewarnaan hematoksilin eosin pada preparat jaringan kanker payudara dilakukan oleh dokter penyelia bidang histologi terhadap tiga kelompok uji yang berbeda yaitu xylol serta minyak kelapa murni dengan pemanasan suhu 50°C selama 10 menit dan 60°C selama 8 menit. Penilaian hasil pewarnaan berdasarkan parameter menurut (Ariyadi & Suryono, 2017) dilakukan pada lima preparat dengan masing-masing preparat diamati pada lima lapang pandang. Berdasarkan hasil pengamatan, seluruh kelompok uji memperoleh skor 3 (baik).

Hal tersebut menunjukkan bahwa proses deparafinisasi dengan xylol menghasilkan hasil pewarnaan hematoksilin eosin yang baik sesuai parameter pewarnaan, ditandai dengan warna biru pada inti sel dan merah muda pada sitoplasma terlihat jelas, kejernihan pewarnaan baik, serta keseragaman pewarnaan baik. Hasil ini menunjukkan bahwa hasil pewarnaan hematoksilin eosin pada preparat yang dideparafinisasi menggunakan minyak kelapa murni dengan pemanasan suhu 50°C selama 10 menit dan 60°C selama 8 menit sama baiknya dengan xylol yang merupakan agen deparafinisasi standar. Penggunaan minyak kelapa murni pada kedua variasi suhu dan waktu tersebut mampu menghasilkan hasil pewarnaan hematoksilin eosin yang baik berdasarkan parameter penilaian.



Gambar 1. Mikroskopis Jaringan Hasil Pewarnaan Hematoksilin Eosin Jaringan Kanker Payudara

(A) Deparafinisasi menggunakan xylol perbesaran 100x; (B) deparafinisasi menggunakan xylol perbesaran 400x; (C) deparafinisasi menggunakan minyak kelapa murni suhu 50°C perbesaran 100x; (D) deparafinisasi menggunakan minyak kelapa murni suhu 50°C perbesaran 400; (E) deparafinisasi menggunakan minyak kelapa murni suhu 60°C perbesaran 100x; (F) deparafinisasi menggunakan minyak kelapa murni suhu 60°C perbesaran 400x; Panah kuning: inti sel, panah merah: sitoplasma.

Berdasarkan gambar dari pengamatan mikroskopis, pewarnaan hematoxilin eosin pada jaringan kanker payudara yang dideparafinisasi menggunakan xylol, minyak kelapa murni dengan pemanasan suhu 50°C selama 10 menit dan 60°C selama 8 menit menunjukkan hasil yang setara. Pewarnaan merata tampak jelas pada inti sel dengan warna biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah muda. Preparat dapat diamati dengan jelas pada seluruh lapang pandang dan memungkinkan penegakan diagnosis. Tidak ditemukan area yang kabur atau buram akibat sisa parafin yang tertinggal selama proses deparafinisasi. Selain itu, Intensitas warna juga tampak konsisten pada seluruh lapang pandang pengamatan.

B. Pembahasan

Deparafinisasi merupakan salah satu tahapan histoteknik yang bertujuan untuk menghilangkan sisa parafin dan menjernihkan jaringan sebelum dilakukan proses pewarnaan (Mahendra & Fitria, 2024). Karakteristik larutan yang baik digunakan untuk deparafinisasi yaitu bersifat nonpolar, larut dalam alkohol/eter, tidak menyebabkan kerusakan jaringan (kerusakan minimal), serta memiliki toksisitas dan viskositas yang rendah (Suvarna, dkk, 2019).

Parafin merupakan hidrokarbon golongan alkana yang bersifat nonpolar. Sifat nonpolar pada parafin menjadikannya tidak larut air sehingga membutuhkan pelarut yang juga bersifat nonpolar untuk melarutkannya. Parafin sering digunakan sebagai media *embedding* jaringan dalam proses histologi karena stabil, mudah digunakan, dan memiliki titik leleh yang sesuai untuk membantu mempertahankan struktur jaringan. Titik leleh parafin berkisar

antara 46-64°C (Damayanti dkk., 2021). Oleh karena itu, keberhasilan deparafinisasi bergantung pada kesesuaian sifat kimia antara parafin dengan agen deparafinisasi yang digunakan (Dewi dkk., 2021).

Penelitian ini menggunakan xylol sebagai agen deparafinisasi standar. Xylol merupakan larutan yang sering digunakan dalam proses deparafinisasi. Xylol adalah senyawa hidrokarbon aromatik dengan rumus molekul $C_6H_4(CH_3)_2$ yang merupakan golongan dimetil benzena sehingga bersifat nonpolar. Sifat nonpolar ini mendukung xylol untuk berinteraksi dengan komponen nonpolar lain seperti parafin dan juga lipid jaringan sehingga dapat memfasilitasi proses infiltrasi berdasarkan prinsip *like dissolves like* (Kandyala dkk., 2010). Xylol dapat mempertahankan struktur jaringan karena tidak ada gugus polar yang akan berinteraksi dengan protein jaringan sehingga tidak menyebabkan denaturasi dan integritas morfologi jaringan terjaga. Xylol memiliki viskositas yang rendah yaitu 0,7 cP, menjadikannya mampu melarutkan parafin dengan cepat. Xylol juga memiliki titik leleh yang rendah sehingga mampu digunakan tanpa dilakukan pemanasan (Bright dkk., 2024).

Deparafinisasi menggunakan xylol menghasilkan pewarnaan yang baik, ditandai dengan kejelasan, kejernihan serta keseragaman pewarnaan. Akan tetapi, durasi jaringan yang terlalu lama terendam xylol menyebabkan jaringan kering, rapuh dan getas (Iswara dkk., 2017). Xylol merupakan zat *flammable* atau mudah terbakar, selain itu paparan xylol bersifat toksik bagi kesehatan dan lingkungan apabila digunakan dalam jangka panjang karena susunan kimianya yang merupakan dimetil benzena (Roth GmbH, 2024). Oleh karena itu,

diperlukan agen deparafinisasi alternatif yang lebih aman bagi kesehatan dan ramah lingkungan seperti minyak kelapa murni.

Minyak kelapa murni yang digunakan sebagai agen deparafinisasi alternatif pada penelitian ini diperoleh dari metode *cold pressed*. Metode *cold pressed* pada produksi minyak kelapa murni merupakan proses ekstraksi dengan panas minimal atau tanpa pemanasan eksternal sehingga menjaga kandungan minyak kelapa (Khairunnisa dkk., 2025). Kandungan minyak kelapa murni tersusun dari asam lemak rantai sedang dan panjang yang bersifat hidrofobik (Nugrahati & Nugroho, 2024). Asam lemak yang terkandung didominasi oleh asam laurat (32,73%), asam nananoat (0,54%), asam palmitat (17,16%), asam miristat (28,55%), dan asam oleat (14,09%) (Novilla dkk., 2017). Kandungan asam lemak tersebut memiliki sifat nonpolar, sehingga memungkinkan interaksi antara minyak kelapa murni dengan parafin yang juga bersifat nonpolar (Liu dkk., 2024). Interaksi ini sesuai dengan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa nonpolar akan cenderung melarutkan senyawa nonpolar lainnya (Prema dkk., 2020).

Minyak kelapa murni memiliki sifat nonpolar dan juga stabilitas kimia yang tinggi karena didominasi oleh asam lemak jenuh terutama asam laurat. Karakteristik ini menjadikan minyak kelapa murni stabil terhadap pemanasan dan mencegah terjadinya oksidasi berlebih sehingga integritas protein jaringan terjaga dan tidak mengalami denaturasi (Isyanti & Sirait, 2021). Minyak kelapa murni juga memiliki resistensi tinggi terhadap ketengikan dan tidak menyebabkan jaringan rapuh apabila direndam terlalu lama. Aspek toksisitas

minyak kelapa murni tergolong rendah, sehingga aman bagi kesehatan bila digunakan dalam jangka panjang (Bordoloi dkk., 2022). Namun demikian, minyak kelapa murni memiliki viskositas yang relatif lebih tinggi yaitu 57-64 cP pada suhu 80-100°C, sehingga memengaruhi kecepatan penetrasi ke dalam jaringan (Suvarna, dkk, 2019).

Penelitian ini dilakukan pemanasan pada proses deparafinisasi menggunakan minyak kelapa murni dengan dua suhu dan waktu tertentu yang bertujuan untuk menurunkan viskositasnya. Berdasarkan hukum difusi Fick, pemanasan suhu dapat menurunkan viskositas larutan sehingga laju difusi meningkat. Pemilihan suhu 50°C selama 10 menit didasarkan pada penelitian (Badjuri dkk., 2023) yang menghasilkan pewarnaan yang baik pada hepar mencit *Mus musculus* dan *Ratus norvegicus*. Pemilihan suhu 60°C selama 8 menit didasarkan pada titik leleh parafin yaitu 59,8°C (Handoko dkk., 2023), kemudian dihitung dengan pendekatan hukum Fick dan asumsi Stokes Einstein untuk memperoleh hasil yang ekuivalen dengan suhu 50°C selama 10 menit yang telah menghasilkan pewarnaan yang baik, sehingga diperoleh waktu ekuivalen selama 8 menit.

Pewarnaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hematoksin eosin, berdasarkan prinsip interaksi asam basa komponen sel. Komponen sel yang bersifat asam seperti inti sel akan mengikat hematoksin yang bersifat basa, sehingga menghasilkan warna biru-ungu (basofilik). Sebaliknya, interaksi komponen sel yang bersifat basa seperti sitoplasma akan mengikat eosin yang bersifat asam, sehingga menghasilkan warna merah atau merah muda

(eosinofilik) (Digambiro & Purwanto, 2024). Kelebihan dari pewarnaan ini terletak pada kemampuannya mendeteksi perubahan patologis seperti nekrosis dan fibrosis, selain itu juga mengevaluasi integritas adiposit dan kepadatan sel (Schimanski dkk., 2025).

Indikator keberhasilan pewarnaan hematoksilin eosin ditandai dengan kejelasan pewarnaan pada inti sel dan sitoplasma, kejernihan struktur jaringan, serta keseragaman pewarnaan pada seluruh lapang pandang (Ariyadi & Suryono, 2017). Keberhasilan ini dipengaruhi oleh ketebalan irisan jaringan, kualitas reagen yang digunakan, suhu dan durasi pewarnaan, serta keberhasilan dari rangkaian tahapan histoteknik sebelum pewarnaan meliputi fiksasi, dehidrasi, serta deparafinisasi (Suvana, dkk, 2019).

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan pewarnaan hematoksilin eosin pada preparat jaringan kanker payudara yang dideparafinisasi menggunakan xylol maupun minyak kelapa murni tampak baik. Inti sel terwarnai biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah muda. Selain itu, distribusi warna tampak merata tanpa adanya artefak yang mengganggu pengamatan maupun interpretasi mikroskopis. Hal tersebut mengindikasikan reagen yang digunakan dalam kondisi baik dan pemrosesan jaringan dilakukan dengan tepat. Variasi suhu dan durasi deparafinisasi yang digunakan pada minyak kelapa juga mendukung keberhasilan deparafinisasi sehingga tidak mengganggu proses pewarnaan hematoksilin eosin selanjutnya.

Minyak kelapa murni dan xylol dapat melarutkan parafin karena kesamaan sifat nonpolar yang dimiliki keduanya. Senyawa nonpolar ini akan berikatan satu sama lain sehingga parafin dapat larut dari jaringan berdasarkan prinsip *like dissolves likes*. Hasil penelitian ini didukung oleh jurnal (Prema dkk., 2020 dan Thajudeen dkk., 2022) yang menyatakan bahwa minyak kelapa murni, air lemon dan larutan sabun pencuci piring suhu 90°C selama 5 menit dapat menjadi agen deparafinisasi alternatif dari xylol. Larutan sabun pencuci piring dapat digunakan karena memiliki kandungan surfaktan nonionik yang mampu mengurangi tegangan permukaan sehingga dapat melarutkan parafin. Penggunaan konsentrasi serta durasi surfaktan ini perlu perhatian lebih karena secara teoritis surfaktan dapat menghilangkan lipid dengan pelarutan dan emulsifikasi, serta mendenaturasi protein sehingga dapat melisiskan jaringan. Sedangkan air lemon encer memiliki kandungan asam sitrat, limonene penine dan minyak atsiri yang bersifat sebagai pelarut sehingga mampu melarutkan dan mencegah parafin menempel kembali pada jaringan (Apriliani, 2024).

Penelitian (Badjuri dkk., 2023) mengatakan suhu dan durasi optimal untuk deparafinisasi menggunakan minyak kelapa murni adalah 50°C selama 10 menit. Sedangkan untuk variasi suhu 60°C selama 10 dan 15 menit memperoleh hasil yang kurang optimal. Penelitian ini dilakukan pemanasan pada suhu 60°C selama 8 menit berdasarkan perhitungan difusi Fick dan asumsi Stokes Einstein yang ekuivalen dengan suhu 50°C dengan hasil pewarnaan yang baik. Hasil pewarnaan yang diperoleh optimal dan parafin larut dengan baik tanpa adanya kerusakan jaringan. Hal ini didukung oleh penelitian (Premalatha dkk., 2013)

yang menunjukkan bahwa penggunaan *Refined Mineral Oil* (RMO) pada suhu 90°C selama 2 menit tetap menghasilkan pewarnaan yang baik dan struktur jaringan tetap terjaga. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kerusakan jaringan tidak hanya dipengaruhi oleh suhu tinggi, tetapi juga dipengaruhi oleh durasi pemanasan yang berlebihan.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Pertama, penggunaan *paraffin dispenser* sebagai pengganti oven sebagai pemanas, sehingga memungkinkan terjadinya fluktuasi suhu selama proses deparafinisasi berlangsung, meskipun upaya kalibrasi suhu telah dilakukan secara manual menggunakan termometer. Kedua, penelitian ini hanya menggunakan satu jenis produk minyak kelapa murni, sehingga hasil penelitian belum bisa digeneralisasi untuk penggunaan seluruh produk yang tersedia di pasaran. Ketiga, sampel penelitian ini terbatas pada satu jenis blok jaringan kanker payudara dengan *grade* tertentu, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan berbagai jenis jaringan lain atau tingkat keganasan kanker payudara (*grade*) yang lain untuk menguji konsistensi hasil dan efektivitas minyak kelapa murni sebagai agen deparafinisasi pada karakteristik jaringan yang berbeda.

Berdasarkan hasil penelitian ini, penggunaan minyak kelapa murni sebagai agen deparafinisasi alternatif dengan pemanasan pada suhu 50°C selama 10 menit dan 60°C selama 8 menit mampu menghasilkan kualitas pewarnaan hematoksilin eosin yang baik atau setara dengan xylol berdasarkan parameter penilaian pewarnaan. Pemanfaatan minyak kelapa murni berpotensi

mengurangi risiko paparan bahan kimia toksik di laboratorium, lebih aman bagi kesehatan dan ramah lingkungan dalam jangka panjang tanpa menurunkan hasil pewarnaan.