

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian dengan judul “Pemanfaatan Minyak Zaitun Dengan Pemanasan 40°C Sebagai Clearing Agent Terhadap Histomorfologi Jaringan Hepar Tikus Wistar” telah memperoleh persetujuan etik berdasarkan surat keterangan Komite Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta pada tanggal 15 Januari 2026. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 13 Januari – 12 April 2026 yang berlokasi di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada untuk proses pembedahan dan eksisi organ tikus wistar. Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada untuk proses histoteknik dan pewarnaan dan Laboratorium Terpadu Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada untuk pengamatan dan penilaian kualitas preparat oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi.

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini berupa tikus dengan galur wistar berusia tiga bulan dengan rentang berat badan 250-300 gram. Tahapan pembedahan serta pengambilan organ dilakukan di

Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada. Organ hepar diambil dalam keadaan utuh untuk mempertahankan integritas jaringan, kemudian segera di fiksasi menggunakan larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% untuk mencegah terjadinya autolisis dan mempertahankan struktur histologis jaringan.

Seluruh proses histoteknik hingga pewarnaan preparat dilaksanakan di Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. Karena proses fiksasi pada organ utuh dinilai kurang efektif dalam menjangkau seluruh bagian jaringan, organ hepar kemudian dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil melalui tahap trimming hingga diperoleh enam bagian jaringan. Potongan jaringan tersebut dimasukkan ke dalam kaset jaringan, dengan masing-masing kaset berisi dua potongan jaringan dan diberi label identifikasi. Setelah proses trimming selesai, jaringan kembali difiksasi selama kurang lebih 18 jam untuk memastikan penetrasi fiksatif berlangsung optimal.

Tahap berikutnya adalah proses dehidrasi jaringan menggunakan alkohol bertingkat dengan bantuan alat otomatis selama 13 jam. Setelah dehidrasi selesai, dilakukan proses penjerihan sesuai dengan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol, preparat direndam dalam xylol I selama 1,5 jam kemudian dilanjutkan pada xylol II selama 2 jam. Sementara itu, pada kelompok lain dilakukan penjernihan menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan hingga suhu mencapai 40°C selama 45 menit. Setelah tahap penjernihan selesai, jaringan menjalani proses ifiltrasi

menggunakan parafin cair yang kemudian dilanjutkan proses *embedding* atau pembedaan dalam blok parafin.

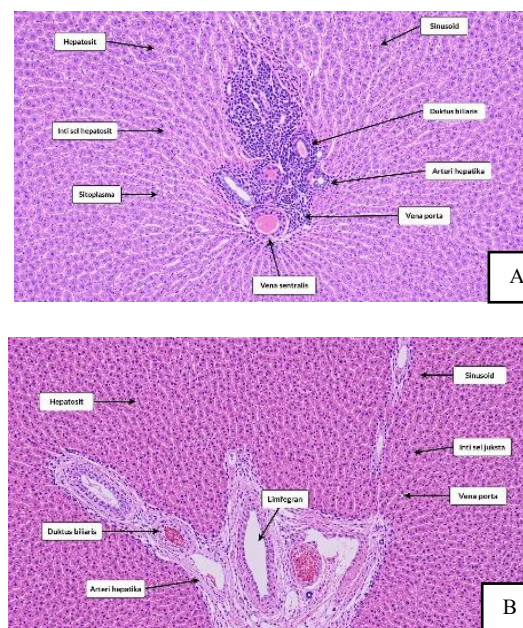
Blok jaringan yang telah terbentuk selanjutnya dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan irisan 3 μ m. Potongan jaringan kemudian diapungkan pada waterbath bersuhu 50°C untuk menghilangkan lipatan sebelum ditempelkan pada kaca objek. Preparat yang telah ditempelkan lalu dipanaskan guna membantu proses penguapan air yang masih terperangkap di dalam jaringan. Selanjutnya dilakukan proses deparafinisasi menggunakan xylol, rehidrasi dengan alkohol bertingkat, pewarnaan hematoksilin, pembilasan menggunakan air mengalir, pewarnaan eosin, dehidrasi ulang, dan tahap penjernihan akhir. Kemudian preparat ditutup menggunakan cover glass dengan media perekat *Canada balsam* untuk menghasilkan sediaan permanen.

Evaluasi kualitas histomorfologi jaringan dilakukan terhadap dua preparat dari masing-masing kelompok penelitian. Setiap preparat diamati 5 lapang pandang berbeda menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan 400x. Penilaian kualitas histomorfologi jaringan hepar tikus wistar dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi di Laboratorium Terpadu Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada. Penilaian didasarkan pada tiga parameter utama, meliputi kejelasan inti sel, kejelasan sitoplasma dan keseragaman intensitas pewarnaan jaringan. Seluruh hasil pengamatan kemudian dihitung nilai

reratanya untuk memperoleh interpretasi kualitas histomorfologi jaringan. Selain itu, dokumentasi visual berupa gambaran mikroskopis turut dianalisis secara deskriptif guna membandingkan kualitas preparat pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

2. Hasil Penelitian

Hasil pengamatan preparat jaringan hepar tikus wistar dengan kelompok kontrol menggunakan perlakuan *clearing* menggunakan xylol. Kelompok eksperimen merupakan *clearing* menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan 40°C selama 45 menit. Hasil pengamatan dapat diamati pada gambar berikut.

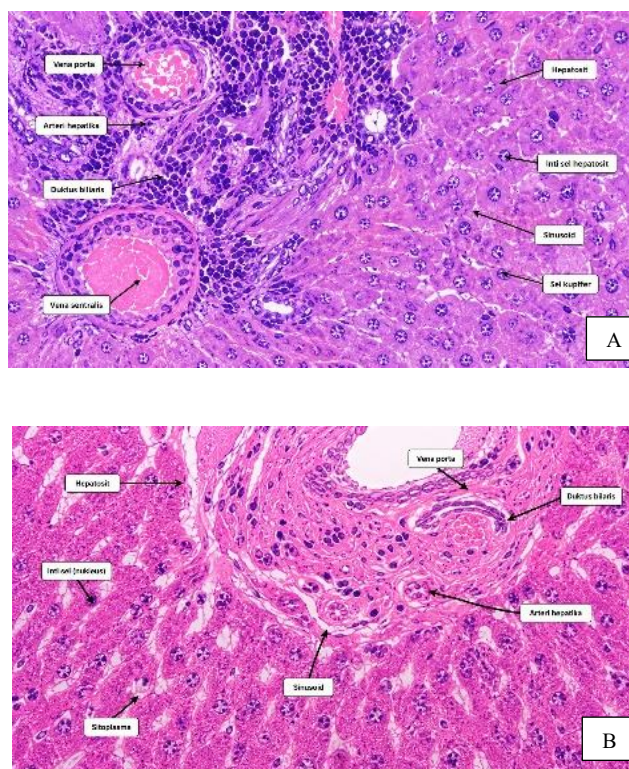


Gambar 1. Visualisasi Hasil Histomorfologi Preparat pada Jaringan Hepar Tikus Wistar Perbesaran 100x

Keterangan : Visualisasi preparat yang di *clearing* menggunakan xylol (A); Visualisasi preparat yang di *clearing* menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan 40°C (B)

Berdasarkan gambar 5A yaitu preparat dengan kelompok kontrol menggunakan xylol terlihat hepatosit dengan sel polygonal berinti bulat ditengah tersusun dalam lempeng hepatik. Terlihat jelas juga bagian ductus biliaris, vena porta, arteri hepatica serta vena porta.

Pada gambar 5B yaitu preparat dengan kelompok perlakuan menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan 40°C menunjukkan hepatosit yang terlihat baik dan pewarnaan yang merata. Vena sentralis dan sinusoid hepatik yang menunjukkan kapiler sinusoidal di antara lempeng hepatosit, endotel fenestrata yang mengandung sel kupffer juga terlihat jelas.



Gambar 2. Visualisasi Hasil Histomorfologi Preparat Jaringan Hepar dengan Perbesaran 400x

Keterangan : Visualisasi hasil histomorfologi preparat dengan kelompok kontrol pada perbesaran 400x (A); Visualisasi hasil histomorfologi preparat

dengan kelompok perlakuan menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan 40°C pada perbesaran 400x (B).

Berdasarkan gambar 6A pada kelompok kontrol clearing menggunakan xylol inti sel terlihat jelas, tidak ada pengerutan dan tidak ditemukan pembengkakan pada sinusoid. Keseragaman warna terlihat baik dan merata, inti sel berwarna biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah muda.

Berdasarkan gambar 6B pada kelompok clearing menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan 40°C, inti sel terlihat jelas dan tidak ada pengerutan. Sinusoid terlihat cukup baik namun ditemukan beberapa sinusoid yang terlihat keropos dengan keseragaman pewarnaan yang merata. Inti sel berwarna biru keunguan dan sitoplasma berwarna merah muda. Namun ditemukan beberapa artefak ringan pada beberapa tempat.

Skor hasil pengamatan histomorfologi jaringan hepar pada setiap perlakuan dengan tiga parameter, yaitu kejelasan inti sel, kejelasan sitoplasma dan keseragaman pewarnaan dapat dilihat dari tabel berikut.

Tabel 1. Skor Hasil Histomorfologi Preparat

Kelompok	Sampel	LP1			LP2			LP3			LP4			LP5			Rerata per Kelompok
		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
Xylol	XI1	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	3	3	2	3	2.8
	XI2	3	3	3	3	2	3	3	2	3	2	2	3	2	3	3	2.66
Minyak zaitun	Mz. P1	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	3	2	1	3	2.66

dengan pemanasan 40°C	Mz. P2	3	3	3	2	2	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	2.73
-----------------------	--------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	------

Keterangan:

A : Kejelasan inti sel

B : Kejelasan sitoplasma

C : Keseragaman warna

Berdasarkan tabel 3. didapatkan hasil yang baik terhadap histomorfologi preparat yang di jernihkan menggunakan kontrol (xylol) dengan rerata seluruh preparat 2,73. Disisi lain preparat yang di jernihkan menggunakan kelompok eksperimen yaitu minyak zaitun yang dipanaskan 40°C menunjukkan hasil rerata seluruh preparat pada angka 2,7 dengan interpretasi hasil baik. Pada kelompok penggunaan xylol dan minyak zaitun yang dipanaskan 40°C, hampir tidak ditemukan perbedaan yang berarti. Inti sel terlihat jelas, keseragaman warna baik dan sitoplasma juga terlihat baik.

B. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, preparat jaringan hepar tikus Wistar yang diproses menggunakan xylol sebagai kelompok kontrol maupun minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 40°C sebagai kelompok perlakuan menunjukkan kualitas histomorfologi yang baik. Hal tersebut ditunjukkan oleh nilai rerata preparat yang sudah tertera pada tabel 3. Perbedaan rerata yang sangat kecil menunjukkan bahwa minyak zaitun

memiliki kemampuan yang hampir setara dengan xylol dalam menghasilkan preparat histologi.

Secara umum, gambaran histomorfologi jaringan hepar pada kedua kelompok menunjukkan struktur yang masih terpelihara dengan baik. Hepatosit tampak tersusun dalam lempeng hepatik inti sel terlihat jelas, sitoplasma terwarnai dengan baik, sinusoid yang dapat diamati dan struktur lainnya yang dapat terlihat dengan jelas.

Minyak zaitun mengandung asam lemak tak jenuh terutama asam oleat, serta senyawa fenolik yang bersifat stabil terhadap pemanasan ringan (Boskou, 2015). Kandungan lipid yang tinggi memungkinkan minyak zaitun berinteraksi dengan komponen jaringan setelah tahap dehidrasi, sehingga mampu menggantikan alkohol dan mempersiapkan jaringan untuk infiltrasi parafin. Pemanasan pada suhu 40°C dalam penelitian ini berperan menurunkan viskositas minyak zaitun sehingga meningkatkan kemampuan penetrasi ke dalam jaringan. Secara fisik, peningkatan suhu akan menurunkan viskositas cairan sehingga mempercepat difusi ke dalam jaringan (Chaudhary *et al.*, 2020).

Kualitas preparat yang baik pada penelitian ini menunjukkan bahwa proses clearing menggunakan minyak zaitun yang dipanaskan 40°C mampu menggantikan alkohol yang masih tersisa dalam jaringan setelah proses dehidrasi. Secara teoritis *clearing* bertujuan menggantikan alkohol dengan zat kompatibel terhadap media infiltrasi sehingga paraffin bisa masuk secara

optimal. Infiltrasi yang sempurna menjadikan struktur jaringan tetap terjaga selama proses pemotongan dan pewarnaan.

Pada kelompok kontrol menggunakan xylol, preparat menunjukkan inti sel yang jelas, sitoplasma yang terwarnai dengan baik, serta keseragaman warna yang merata. Viskositas xylol yang berikisar antara 0.6-0.8 mPa memungkinkan proses difusi berlangsung dengan cepat dibandingkan bahan alternatif lainnya. Oleh karena itu xylol masih menjadi standar emas (*gold standard*) dalam proses jaringan histologi.

Meskipun demikian pada penelitian ini minyak zaitun yang dipanaskan pada suhu 40°C mampu menghasilkan kualitas yang hampir sama baiknya dengan xylol, kemampuan tersebut berkaitan dengan kandungan asam oleat yang tinggi pada minyak zaitun. Asam oleat yang merupakan asam lemak tak jenuh yang bersifat lipofilik terbukti mampu menghasilkan preparat histologi dengan kualitas yang baik. Pemanasan pada minyak zaitun berperan untuk meningkatkan efektivitas proses penjernihan. Peningkatan suhu dilakukan untuk menurunkan viskositas minyak zaitun sehingga mempercepat laju difusi dan penetrasi ke dalam jaringan. Ketika viskositas minyak menurun, molekul minyak akan lebih mudah masuk ke ruang antar sel dan menggantikan alkohol yang tersisa setelah proses dehidrasi.

Adanya beberapa artefak ringan pada beberapa sediaan minyak zaitun dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh viskositas yang masih lebih tinggi dibandingkan xylol, sehingga proses penetrasi tidak

secepat xylol. Xylol memiliki viskositas rendah dan daya larut tinggi terhadap alkohol sehingga proses clearing berlangsung lebih cepat dan efisien (Bancroft & Gamble, 2019). Selain itu, faktor teknis selama proses histoteknik juga menjadi alasan terbentuknya beberapa artefak pada preparat tersebut.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ankle dan Joshi (2011) yang melaporkan bahwa minyak zaitun dapat digunakan sebagai alternatif xylol dalam proses clearing dan deparafinisasi tanpa menyebabkan penurunan kualitas pewarnaan Hematoksin-Eosin yang bermakna. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa detail inti sel dan sitoplasma masih dapat diamati dengan baik pada jaringan yang diproses menggunakan minyak zaitun. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Premalatha et al. (2013) yang menyatakan bahwa minyak zaitun mampu menghasilkan kualitas preparat histologi yang mendekati preparat yang diproses menggunakan xylol, terutama pada parameter kejelasan inti dan intensitas pewarnaan jaringan.

Kesamaan hasil penelitian ini dengan penelitian terdahulu menunjukkan bahwa minyak zaitun memiliki potensi yang cukup besar untuk digunakan sebagai bahan substitusi xylol dalam laboratorium histologi. Selain menghasilkan kualitas preparat yang baik, minyak zaitun juga memiliki keuntungan dari aspek keselamatan kerja. Xylol diketahui bersifat toksik, mudah menguap, dan dapat menyebabkan iritasi pada kulit, mata, serta saluran pernapasan. Paparan xylol dalam jangka panjang bahkan

dapat menimbulkan gangguan pada sistem saraf pusat, hati, dan ginjal. Sebaliknya, minyak zaitun merupakan bahan alami yang relatif aman, tidak mudah menguap, tidak menghasilkan bau menyengat, serta memiliki risiko kesehatan yang jauh lebih rendah bagi tenaga laboratorium.

Keunggulan minyak zaitun dibandingkan xylol tidak hanya terletak pada aspek keamanan, tetapi juga pada aspek lingkungan. Penggunaan minyak zaitun dapat mengurangi paparan bahan kimia berbahaya dan menekan jumlah limbah kimia laboratorium yang bersifat toksik. Oleh karena itu, minyak zaitun dapat dikategorikan sebagai bahan yang lebih ramah lingkungan (*eco-friendly*) dibandingkan xylol. Dengan semakin meningkatnya perhatian terhadap keselamatan kerja dan pengelolaan limbah laboratorium, penggunaan bahan alami sebagai agen clearing menjadi salah satu alternatif yang perlu dipertimbangkan.

Secara keseluruhan, berdasarkan data penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa minyak zaitun dengan pemanasan 40°C memiliki potensi sebagai alternatif *clearing agent* dalam pembuatan preparat histologi jaringan hepar tikus Wistar. Walaupun kualitasnya sedikit di bawah xylol dalam hal ketajaman detail inti, perbedaannya tidak signifikan secara morfologis dan masih memenuhi kriteria preparat yang dapat dievaluasi secara mikroskopis

