



## Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Tikus Yang Dideparafinisasi Menggunakan Xylol Dan Daun Belimbing Wuluh Dengan Asam Sitrat (Citrun)

*Difference In Quality Of Kidney Preparations Of Mice That Were Deparafined Using Xylol And Averrhoa bilimbi L Leaves With Citric Acid (Citrun)*

Faiz Laila Rusdiana<sup>1</sup>, Fitri Nuroini<sup>1</sup>, Tulus Ariyadi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,  
Universitas Muhammadiyah Semarang  
Corresponding author : lailarusdiana12@gmail.com

### Abstrak

Deparafinisasi adalah tahap awal pada proses pewarnaan dengan tujuan membersihkan parafin yang serupa dengan lemak pada jaringan. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) mengandung senyawa saponin triterpenoid yang dapat melunturkan lemak dan asam sitrat (citrun) yang dapat menghilangkan parafin. Tujuan dari penelitian mengetahui kualitas hasil pengecatan hematoxylin eosin preparat ginjal tikus yang dideparafinisasi menggunakan xylol dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 3%, 5% dan 7,5%. Penelitian secara eksperimental menggunakan sampel sediaan jaringan ginjal tikus sejumlah 33 preparat. Proses pewarnaan HE pada tahap deparafinisasi menggunakan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 3%, 5%, 7,5% dan xylol sebagai kontrol. Hasil kualitas sediaan pewarnaan HE preparat ginjal tikus dengan dideparafinisasi menggunakan xylol skor 3, daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3% skor 3, daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 5% skor 2 dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 7,5% skor 1. Analisis data menggunakan *Shapiro Wilk* dilanjutkan dengan *Kruskall Wallis*. Tidak ada perbedaan kualitas sediaan antara xylol dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3%.

**Kata Kunci :** Deparafinisasi, Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*), Asam Sitrat (Citrun), Kualitas Sediaan

### Abstract

Deparafinization is the initial stage in the staining process with the aim of cleaning paraffin similar to fat from tissues. The *Averrhoa bilimbi L* leaves contain triterpenoid saponin compounds that can soften fat and citric acid (citrun) that can remove paraffin. The purpose of the study was to find out the quality of the results of hematoxylin eosin staining using a deparafined mouse kidney preparation use xylol and *Averrhoa bilimbi L* leaves with a citric acid (citrun) concentration of 3%, 5% and 7.5%. The study experimentally used a sample of 33 mouse kidney tissue preparations. The process of staining hematoxylin eosin at the deparafinization stage uses the leaves of *Averrhoa bilimbi L* with citric acid (citrun) 3%, 5%, 7.5% and xylol as control. Results from the quality of staining of the kidney preparation of mice by deparafined using xylol score 3, *Averrhoa bilimbi L* leaves with citric acid (citrun) 3% score 3, *Averrhoa bilimbi L* leaves with citric acid (citrun) 5% score 2 and *Averrhoa bilimbi L* leaves with citric acid (citrun) 7.5% score 1. Analysis of data using *Shapiro Wilk* continued with *Kruskall Wallis*. There is no difference in the quality of preparations between xylol and *Averrhoa bilimbi L* leaves with citric acid (citrun) 3%.

**Keywords :** Deparaffinization, Leaves Of *Averrhoa Bilimbi L.*, Citric Acid (Citrun), Quality Of Preparations.



## PENDAHULUAN

Histoteknik merupakan proses histologi dari spesimen tertentu melalui rangkaian proses khusus sampai menjadi sajian yang dapat diamati dan dianalisis (Prahanarendra, 2015). Organ hewan yang sering digunakan dalam pembuatan preparat sediaan jaringan adalah ginjal.

Pewarnaan merupakan proses penambahan warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga faktor dalam jaringan menjadi kontras dan sanggup diamati memakai mikroskop. Pewarna yang biasa digunakan secara teratur adalah pewarna yang bisa memulas inti serta sitoplasma dan jaringan peyambungannya yakni pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) (Jusuf, 2009). Deparafinisasi adalah tahap awal pada proses pewarnaan (*staining*) dengan tujuan membersihkan parafin dari jaringan atau kaca (Sari *et al.*, 2016). Reagen yang biasa digunakan adalah xylol, toluen, benzol atau kloroform.

*Xylol* umumnya digunakan dalam histopatologi dan imunohistokimia pada proses *clearing* atau *deparafinisasi*. *Xylol* mempunyai ciri mudah menguap serta dibakar dan *xylol* mempunyai kekurangan antara lain harga relatif mahal, bersifat toksik, beresiko untuk tubuh manusia serta menimbulkan pengerutan jaringan jika terlalu lama direndam (Ankle, *et al.*, 2011).

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) mengandung tanin, saponin, steroid, flavanoid dan alkaloid (Hasim *et al.*, 2019). Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (Fahrunnida & Pratiwi, 2015). Asam sitrat merupakan asam organik lemah yang mudah didapat di pasaran dengan harga terjangkau. Penggunaan dalam skala rumah tangga yaitu sebagai pengawet makanan, pemberi rasa masam, sebagai pembersih pakaian dan lain-lain (Handayani, *et al.*, 2017). Selain berguna sebagai bahan campuran makanan, asam sitrat juga berfungsi sebagai *cleaning solution* yang ramah lingkungan (Hasim *et al.*, 2019). Serta asam sitrat dapat melunturkan lemak yang teremulsi pada kandungan logam (Saputri & Rachmadiarti, 2015).

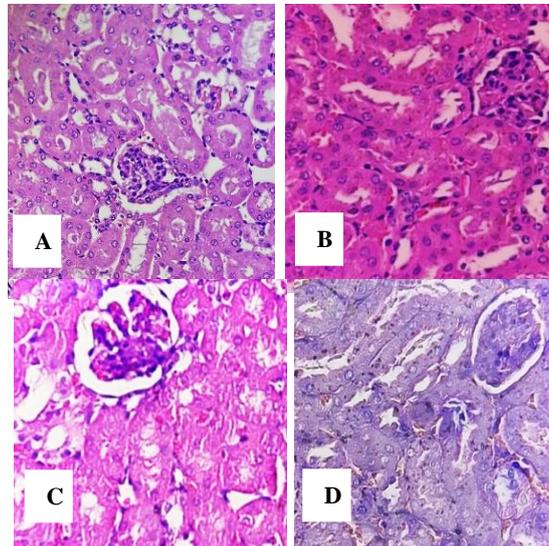
Sehingga dalam hal ini perpaduan kinerja saponin triterpenoid dan asam sitrat (citrun) yang memiliki sifat *cleaning solution* dapat dijadikan sebagai agen deparafinisasi pada pengecatan *Hematoxylin Eosin*. Tujuan umum penelitian ini untuk mengetahui perbedaan *xylol* dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan *Hematoxylin Eosin*.

## METODE

Metode penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental yang dilaksanakan di Laboratorium Biologi dan Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang. Subjek penelitian yang digunakan adalah organ ginjal dari Tikus. Objek yang digunakan adalah sediaan organ ginjal sebanyak 33 sediaan yang terdiri dari 6 sediaan yang dideparafinisasi menggunakan *xylol*, 9 sediaan dideparafinisasi menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3%, 9 sediaan dideparafinisasi menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 5%, 9 sediaan dideparafinisasi menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 7.5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berikut hasil kualitas pewarnaan *hematoxylin eosin* preparat ginjal tikus yang dideparafinisasi menggunakan *xylol* dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3%, 5%, 7,5 % yang diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400X.



Gambar 1. Pewarnaan HE yang di deparafinisasi dengan *xylol* skor 3 (A), daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 3% skor 3(B), konsentrasi 5% skor 2(C) dan konsentrasi 7,5% skor 1(D). (Sumber pribadi)

Tabel 1. Hasil pengamatan kualitas pewarnaan HE sediaan preparat ginjal tikus yang dideparafinisasi menggunakan *xylol* sebagai kontrol dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 3%, 5% dan 7,5%.

Deparafinisasi	Tidak Baik	Kurang Baik	Baik
Xylol	0	0	6
Konsentrasi 3%	0	0	9
Konsentrasi 5%	0	9	0
Konsentrasi 7,5%	3	6	0
Total	3	15	15

Berdasarkan tabel 1 hasil pewarnaan HE pada proses deparafinisasi menggunakan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 7,5% terdapat penurunan hasil kualitas preparat dengan adanya hasil yang kurang baik dan tidak baik karena perbedaan intensitas warna apabila dibandingkan dengan *xylol* sebagai kontrol. Warna biru pada inti sel dan merah pada sitoplasma yang pucat



serta ketidakseragaman pewarnaan pada preparat dan potongan jaringan banyak yang terkelupas sehingga tidak dapat didiagnosis.

Kemudian pada hasil pewarnaan HE pada proses deparafinisasi menggunakan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 5% terdapat penurunan hasil kulaitas preparat dengan hasil yang kurang baik. Meskipun masih bisa didiagnosis, akan tetapi keseragaman pewarnaan pada preparat masih kurang dengan warna biru pada inti sel dan merah pada sitoplasma kurang jelas meskipun potongan jaringan tidak ada yang terkelupas.

Deparafinisasi menggunakan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 3% memiliki hasil pewarnaan HE yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 7,5%. Adanya perbedaan hasil disetiap konsentrasi disebabkan beberapa faktor. Salah satu faktor yang mempengaruhi adalah afinitas antara warna dan jaringan. Pada konsentrasi 3% dan *xylol* memiliki afinitas jaringan yang baik dalam menyerap zat warna serta dalam prosesing jaringan dan pewarnaan dilakukan dengan baik. Kemudian faktor lainnya yaitu daya surfaktan dari daun belimbing wuluh yang cukup dibandingkan konsentrasi 5% dan 7,5% yang memiliki daya surfaktan berlebihan sehingga menyebabkan kerusakan pada struktur sel yang terlihat dari sukarnya membedakan lumen tubulus proksimal dan tubulus distal. Lalu terdapat faktor pH pada asam sitrat (citrun) pada konsentrasi 3% dengan nilai pH 3 yang memiliki nilai yang hampir mendekati nilai pH 5 pada *xylol* sebagai kontrol dibandingkan nilai pH 2 pada konsnetrasi 5% dan 7,5%.

Daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) konsentrasi 3% menghasilkan kualitas preparat yang sama baik dengan kualitas preparat yang dideparafinisasi menggunakan *xylol* sebagai kontrol terlihat dari warna biru pada inti sel dan merah pada sitoplasma yang jelas serta warna preparat yang seragam dan tidak terjadi perubahan struktur sel secara mikroskopis maupun tidak adanya ptoongan jaringan yang terkelupas sehingga dapat didiagnosis. Hasil kualitas pewarnaan HE pada daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3% yang baik disebabkan karena afinitas jaringan dan daya surfaktan yang cukup serta pH yang sesuai pada proses deparafinisasi sehingga parafin dapat dihilangkan secara optimal tanpa mempengaruhi penyerapan zat warna serta struktur sel pada jaringan preparat.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Kualitas sediaan preparat pewarnaan HE menggunakan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 5% dan 7,5% memiliki perbedaan jika dibandingkan dengan *xylol* dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3%. Kualitas sediaan preparat pewarnaan HE antara *xylol* dan daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3% tidak terdapat perbedaan. Sehingga daun belimbing wuluh dengan asam sitrat (citrun) 3% baik digunakan sebagai agen deparafinisasi pengganti *xylol* pada proses deparafinisasi pada pewarnaan HE.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ankle, M. R. & Joshi, P. S. 2011. A study to evaluate the efficacy of xylene-free hematoxylin and eosin staining procedure as compared to the conventional hematoxylin and eosin staining: An experimental study, *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 15(2), pp. 161–167.
- Fahrnunida & Pratiwi, R. 2015. Kandungan Saponin Buah , Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh ( *Averrhoa bilimbi* L .). *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam*, pp. 220–224.
- Handayani, H. *et al.* 2017. Pengaruh Lama Penyimpanan Dan Penambahan Asam Sitrat Pada Nasi Di Rice Cooker Terhadap Kandungan Nutrisi. in Seminar Nasional IPTEK Terapan (SENIT). 15- 17 Mei 2017, Tegal, Indonesia. pp. 209–213.
- Hasim, H. *et al.* 2019. Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), p. 86.
- Jusuf, A. A. 2009. *Histoteknik Dasar*. Histologi, FKUI. Jakarta.
- Prahanarendra, G. 2015. Studi Awal Histoteknik : Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar dan Pankreas Tikus Sprague Dawley dengan Pewarnaan HE dengan Fiksasi 3 Minggu. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Puspita S, D., Fatmawati, U. & Prabasari, R. M. 2016. Profil Hands On Activity pada Mata Kuliah Mikroteknik di Prodi Pendidikan Biologi FKIP UNS. in Proceeding Biology Education Conference (ISSN: 2528-5742). Surakarta. pp. 476–481.
- Saputri, M. R. & Rachmadiarti, F. 2015. Penurunan Logam Berat Timbal (Pb) Ikan Nila (*Oreochromis nilotica*) Kali Surabaya Menggunakan Filtrat Jeruk Siam (*Citrus nobilis*). *Lentera Bio*, 4(2), pp. 136–142.