

**GAMBARAN MAKROSKOPIS JARINGAN HEPAR TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) YANG DIPROSES MENGGUNAKAN  
MINYAK CENGKEH (*Syzigium aromaticum*) SEBAGAI  
ALTERNATIF LARUTAN *CLEARING***

**SKRIPSI**



**YULITA MAULANI  
NIM. 3161024**

**PROGRAM STUDI  
SARJANA TERAPAN  
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2020**

**GAMBARAN MAKROSKOPIS JARINGAN HEPAR TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) YANG DIPROSES MENGGUNAKAN  
MINYAK CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) SEBAGAI  
ALTERNATIF LARUTAN *CLEARING***

**SKRIPSI**

Diajukan sebagai persyaratan menyelesaikan jenjang pendidikan  
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis



YULITA MAULANI  
NIM. 3161024

**PROGRAM STUDI  
SARJANA TERAPAN  
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2020**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

### **GAMBARAN MAKROSKOPIS JARINGAN HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIPROSES MENGGUNAKAN MINYAK CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) SEBAGAI ALTERNATIF LARUTAN *CLEARING***

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Program Pendidikan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis STIKES Nasional, adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari ditemukan bukti tiruan atau duplikasi pada proposal skripsi, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar kesarjanaan yang telah diperoleh.

Surakarta, 26 Juni 2020



Yulita Maulani  
NIM.3161024

**LEMBAR PERSETUJUAN**

ARTIKEL ILMIAH

**GAMBARAN MAKROSKOPIS JARINGAN HEPAR TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) YANG DIPROSES MENGGUNAKAN  
MINYAK CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) SEBAGAI  
ALTERNATIF LARUTAN CLEARING**

Oleh:

Yulita Maulani  
NIM. 3161024

Telah disetujui pada tanggal

Surakarta, 27 Juli 2020

Dosen Pembimbing



Fitria Diniah Janah, S.S. Si., M. Sc  
NIDN. 0618049201

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

**GAMBARAN MAKROSKOPIS JARINGAN HEPAR TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) YANG DIPROSES MENGGUNAKAN  
MINYAK CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) SEBAGAI  
ALTERNATIF LARUTAN *CLEARING***

Oleh:  
Yulita Maulani  
NIM. 3161024

Telah dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan  
guna memperoleh gelar Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

Pada tanggal 26 Juni 2020

Ketua Penguji

Wimpy, S.Pd. Kim., M.Pd  
NIDN. 0618018601

Anggota Penguji I

Anggota Penguji II

M. Taufiq Qurrohman, M.Sc  
NIDN. 0622098502

Fitria Diniyah Janah, S.S. Si., M. Sc  
NIDN. 0618049201

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Terapan  
Teknologi Laboratorium Medis



M. Taufiq Qurrohman, M.Sc  
NIDN. 0622098502

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur ke hadirat Allah SWT atas segala nikmat, rahmat serta hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Gambaran Makroskopis Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diproses Menggunakan Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Sebagai Alternatif Larutan *Clearing*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis di STIKES Nasional.

Penyusunan Skripsi berdasarkan pemeriksaan yang dilakukan di Laboratorium tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dukungan dan saran dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Bapak Hartono, S.Si, M.Si., Apt selaku ketua STIKES Nasional yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyusun dan menyelesaikan Skripsi ini.
2. Bapak M. Taufiq Qurrohman S.Si., M.Sc selaku ketua prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis STIKES Nasional yang telah memberikan kesempatan pada untuk membuat skripsi ini.
3. Ibu Fitria Diniyah Janah S. S.Si., M.Sc selaku pembimbing yang selalu memberi nasehat, kesabaran dan bijaksana, selalu memberi masukan, meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan inspirasi dan memberikan arahan dalam proses penelitian sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan lancar.
4. Bapak Wimpy, S.Pd Kim., M.Pd selaku penguji 1 yang telah ikut membimbing dan memberikan masukan kepada penulis untuk Skripsi ini.

5. Bapak M. Taufiq Qurrohman S.Si., M.Sc selaku penguji 2 yang telah ikut membimbing dan memberikan masukan kepada penulis untuk menyelesaikan Skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu selaku orang tua penulis, Mas Army dan Mbak Remi serta seluruh keluarga besar yang selalu memberikan semangat, nasihat, dukungan, motivasi dan doa dalam melaksanakan penelitian skripsi ini.
7. Ibu Suryati, S.ST selaku analis laboratorium PA RS DKR yang selalu membantu penulis dan selalu memberikan masukan untuk menyelesaikan penelitian.
8. Bapak Jatmiko selaku instruktur laboratorium Sitohistologi USB yang sabar membantu penulis dalam penelitian hingga mampu menyelesaikan pembuatan Skripsi ini.
9. Mb Tita, dek Angga, mb Kembar, Nurul, Tesa, Defi, Yulia, Arlico, Mas Yogi, Ika, Vivien, Reni, lek Warto, dan teman-teman angkatan 2016 yang selalu memberi semangat dorongan untuk menyelesaikan penelitian skripsi ini.
10. Seluruh keluarga besar almamaterku tercinta STIKES Nasional Surakarta serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan semuanya yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penyelesaian Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran sebagai perbaikan penulis untuk menjadi lebih baik. Penulis berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

## INTISARI

**Yulita Maulani. NIM 3161024.** *Gambaran Makroskopis Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diproses Menggunakan Minyak Cengkeh (*Syzigium aromaticum*) Sebagai Alternatif Larutan Clearing*

Sediaan jaringan yang baik adalah sediaan yang mampu menggambarkan kondisi sel atau jaringan layaknya ketika jaringan tersebut masih di dalam tubuh. Dalam proses pembuatan sediaan jaringan histologi, xilol merupakan larutan yang sering digunakan di laboratorium histologi rutin pada proses *clearing*, namun xilol adalah cairan yang mudah terbakar dan tidak berwarna, larut dengan sebagian pelarut organik dan lilin parafin. Maka dari itu digunakan minyak cengkeh sebagai pengganti xilol. Minyak cengkeh merupakan golongan senyawa hidrokarbon dan memiliki kandungan minyak atsiri. Minyak cengkeh memiliki sifat hampir sama dengan xilol namun lebih aman, tidak mudah terbakar dan minim toksisitasnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi minyak cengkeh sebagai agen alternatif proses *clearing*. Penelitian bersifat eksperimental dan dibagi menjadi dua kelompok yaitu xilol dan minyak cengkeh. Masing-masing kelompok berjumlah 16 sediaan. Sediaan jaringan hepar tikus diamati secara makroskopis. Hasil pengukuran kualitas sediaan secara deskriptif, menunjukkan hasil yang sama pada kedua kelompok. Hasil perbedaan kelompok xilol dan minyak cengkeh yang diuji secara statistik dengan uji *Mann Whitney* pada setiap parameter menunjukkan nilai  $P < 0,05$ . Dari hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa minyak cengkeh dapat digunakan sebagai media alternatif pengganti larutan xilol.

**Kata Kunci:** Makroskopi, Kualitas, Minyak Cengkeh, Xilol



## ABSTRACT

**Yulita Maulani. NIM 3161024.** *Macroscopic of rat liver (Rattus norvegicus) tissue processed using clove oil (Syzygium aromaticum) as an alternative to clearing solutions*

The best tissue preparations that are able to describe the condition of cells or tissues as they were still in the body. In the process of making histological tissue preparations, xylol is a solution that is often used in routine histology laboratories in the *clearing* process, but xylol is a flammable and colorless liquid, dissolved with some organic solvents and paraffin wax. Therefore, clove oil is used as a substitute for xylol. Clove oil is a class of hydrocarbon compounds and contains of essential oils. Clove oil has similar properties to xylol. It is safer, non-flammable and minimal in toxicity. The purpose of this study was to determine the potential of clove oil as an alternative agent for the *clearing* process. This research is experimental and divided into two groups namely xylol and clove oil. Each group amounted to 16 preparations. Rat liver tissue preparations were observed macroscopically. The results of measuring the quality of preparations descriptively showed the same results in both groups. The results of differences in xylol groups and clove oil which were statistically tested by the Mann Whitney test on each parameter showed a value of  $P < 0.05$ . From these results, it can be concluded that clove oil can be used as an alternative medium to replace xylol solution.

**Key Word :** Macroscopy, Quality, Clove Oil, Xylol.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERNYATAAN .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
INTISARI .....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Kajian Pustaka.....	6
2.2 Kerangka Pikir.....	18
2.3 Hipotesis.....	18
BAB III METODE PENELITIAN .....	19
3.1 Desain Penelitian .....	19
3.2 Tempat Dan Waktu Penelitian.....	19
3.3 Subjek Dan Objek Penelitian.....	19
3.4 Populasi Dan Sampel Penelitian .....	20
3.5 Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	21
3.6 Teknik Sampling .....	22
3.7 Sumber Data Penelitian .....	22
3.8 Instrumen Penelitian .....	22
3.9 Alur Penelitian.....	23
3.10 Prosedur Penelitian .....	23
3.11 Analisis Data Penelitian.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	27
2.1 Hasil .....	27
2.2 Pembahasan .....	31
BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....	37
2.1 Simpulan .....	37
2.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA .....	38
LAMPIRAN.....	43

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Mutu Minyak Daun Cengkeh.....	17
3.1 Kriteria Penilaian Makroskopis Kualitas Transparansi Jaringan .....	28
3.2 Kriteria Penilaian Makroskopis Kualitas Tekstur Jaringan .....	28
3.3 Kriteria Penilaian Makroskopis Kemudahan Pemotongan Jaringan.....	28
4.1 Hasil Penilaian Transparansi Jaringan dari Tiga Pengamat .....	30
4.2 Hasil Analisis Uji Statistik Pengamatan Transparansi Jaringan .....	30
4.3 Hasil Penilaian Tekstur Jaringan dari Tiga Pengamat .....	31
4.4 Hasil Analisis Uji Statistik Pengamatan Tekstur Jaringan.....	31
4.5 Hasil Penilaian Kemudahan Potongan Block .....	32
4.6 Hasil Analisis Uji Statistik Kemudahan Potongan Block .....	32
4.7 Senyawa kimia utama dalam minyak cengkeh .....	33

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Kimia Xilol .....	12
2.2 Cengkeh.....	14
2.3 Struktur Euganol .....	16
2.4 Pembeningan pada Organ Hati.....	19
4.1 Gambaran jaringan hepar tikus setelah proses <i>clearing</i> .....	27
4.2 Pembeningan pada organ hati mencit .....	31
4.3 <i>Clearing pada organ hati dengan CUBIC</i> .....	32

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Surat ijin penelitian .....	43
2 Data penelitian .....	44
3 Dokumentasi pribadi .....	47

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Sediaan jaringan yang baik adalah sediaan yang mampu menggambarkan kondisi sel atau jaringan layaknya ketika sel atau jaringan tersebut masih di dalam tubuh. Proses pembuatan preparat jaringan dimulai dari proses fiksasi, pematangan jaringan yang terdiri dari dehidrasi, pembersihan/*clearing*, *infiltrasi* hingga proses pewarnaan (Khristian & Inderiati, 2017).

Proses fiksasi merupakan suatu proses yang berfungsi untuk menghindari atau memperkecil kerusakan sel dan jaringan ketika terlepas dari tubuh. Pematangan jaringan merupakan proses yang berfungsi untuk menghilangkan air dan larutan fiksatif yang ada di dalam jaringan. Prinsip dasar pematangan jaringan sangat sederhana, yaitu proses mengeluarkan air dan zat fiksatif yang ada di dalam jaringan dan menggantinya dengan media yang dapat mengeraskan jaringan (Khristian & Inderiati, 2017).

Adapun tahapan perantara di dalam proses pematangan jaringan yaitu proses dehidrasi dan *clearing*/pembersihan. Proses dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan seluruh air dan cairan fiksatif dari dalam jaringan. Proses *clearing* bertujuan untuk mengeluarkan cairan dehidrasi dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan media infiltrasi, reagen *clearing* larut dalam dua larutan tersebut. Agen *clearing*

harus memiliki kemampuan penetrasi jaringan yang cepat, penghapusan agen dehidrasi yang cepat, mudah digantikan oleh agen infiltrasi, dan menimbulkan kerusakan jaringan yang minimal (Khristian & Inderiati, 2017).

Sebagian besar agen *clearing* adalah cairan yang mudah terbakar, sehingga dalam penggunaannya harus berhati-hati. Agen *clearing* memiliki titik didih yang rendah sehingga umumnya lebih mudah digantikan dengan lelehan parafin. Macam-macam agen *clearing* yang rutin digunakan adalah xilol, toluen, kloroform atau reagen limonene (Khristian & Inderiati, 2017).

Pemaparan agen *clearing* yang terlalu lama dapat menyebabkan jaringan menjadi rapuh. Pada saat berlangsungnya proses *clearing* apabila agen dehidrasi telah tergantikan dengan agen *clearing*, maka jaringan tersebut akan memiliki penampakan yang bening dan tembus cahaya (Khristian & Inderiati, 2017). Maka dari itu, perlu dilakukan pemantauan jaringan terhadap proses *clearing*.

Xilol merupakan larutan yang sering digunakan di laboratorium histologi rutin. Xilol cocok digunakan untuk dijadikan cairan pembening pada blok dengan ketebalan kurang dari 5 mm dan cepat menggantikan alkohol dari jaringan, namun xilol adalah cairan yang mudah terbakar dan tidak berwarna, larut dengan sebagian pelarut organik dan lilin parafin. Xilol juga dapat mengeraskan jaringan (Khristian & Inderiati, 2017).

Proses *clearing* menggunakan cairan xilol memberikan hasil yang sangat baik, akan tetapi xilol memiliki efek toksisitas yang tinggi untuk

lingkungan. Dampak negatif xilol telah dilaporkan berdampak buruk pada berbagai sistem tubuh, seperti sistem saraf pusat, sistem pernapasan, sistem reproduksi, dan sebagainya (United States Department Of Health And Human Services, 2007).

Dalam beberapa tahun terakhir, beberapa bahan alternatif pengganti xilol telah dikembangkan. Berdasarkan penelitian Kunhua *et al.*, (2012) larutan xilol dapat diganti dengan menggunakan campuran minyak kayu putih dan N-heptana. Berdasarkan penelitian Undokang *et al.*, (2014) minyak kelapa sawit digunakan sebagai larutan alternatif pengganti xilol dalam proses *clearing* dan *dewaxing* di histologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak kelapa dapat digunakan sebagai pengganti xilol yang lebih aman dan ekonomis. Menurut Chandraker *et al.*, (2017), minyak kelapa baik untuk menggantikan xilol karena mempunyai sifat yang sama yaitu dapat mematangkan jaringan tanpa ada efek toksik. Minyak kelapa umumnya digunakan sebagai minyak nabati yang tidak beracun, termostabil, lambat dalam mengoksidasi dan memiliki ketahanan tinggi dari proses tengik.

Berdasarkan penelitian Septiani *et al.*, (2018) penggantian xilol dengan larutan cengkeh pada proses *clearing* pembuatan preparat permanen *Pediculus humanus capitis*, didapatkan perbedaan hasil kualitas preparat yaitu pada larutan xilol diperoleh tujuh preparat dengan kualitas baik dan sembilan preparat dengan kualitas cukup baik. Perlakuan *clearing* dengan minyak cengkeh diperoleh lima belas preparat dengan kualitas baik dan satu



preparat dengan kualitas cukup baik. Minyak cengkeh merupakan golongan senyawa hidrokarbon dan memiliki kandungan minyak atsiri (Muhibbin, 2018). Minyak cengkeh memiliki sifat hampir sama dengan xilol namun lebih aman, tidak mudah terbakar dan minim toksisitasnya.

Minyak cengkeh dapat diperoleh dari bunga cengkeh (*clove bud oil*), tangkai atau gagang bunga cengkeh (*clove steam oil*) dan dari daun cengkeh (*clove leaf oil*). Kandungan minyak atsiri di dalam bunga cengkeh mencapai 21,3% (Hadi, 2012). Minyak atsiri merupakan minyak nabati yang kental pada suhu ruang tetapi mudah menguap sehingga memberikan aroma khas. Minyak cengkeh merupakan bagian dari senyawa hidrokarbon yang memiliki sifat nonpolar sehingga bisa menarik alkohol dan bisa memasukan parafin dalam jaringan sehingga menjadi keras.

Salah satu organ yang dapat digunakan untuk pembuatan sediaan jaringan didalam Laboratorium Patologi Anatomi adalah hepar. Hepar adalah organ intestinal besar dengan berat antara 1,2–1,8 kg dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks. Sebanyak 70% persen dari jumlah sel atau 80% dari volume hepar merupakan sel hepatosit (Suprianto, 2014).

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian menggunakan minyak cengkeh sebagai bahan alternatif untuk proses *clearing* pada pembuatan prepatan jaringan hepar penting untuk dilakukan.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana gambaran makroskopis hasil proses *clearing* menggunakan minyak cengkeh pada sediaan jaringan hepar?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk melihat potensi minyak cengkeh sebagai pengganti xilol dalam proses *clearing* pada sediaan jaringan hepar.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui gambaran makroskopis hasil proses *clearing* menggunakan minyak cengkeh pada sediaan jaringan hepar.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi bagi para pembaca mengenai perbedaan kualitas sediaan jaringan hepar secara makroskopis yang diproses menggunakan minyak cengkeh serta dapat memperluas ilmu pengetahuan dalam ruang lingkup bidang Patologi Anatomi.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Diharapkan penggantian bahan xilol dalam proses pembuatan sediaan histologi mampu mengurangi bahan yang bersifat toksik dan mudah didapatkan.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian Analitik Eksperimental, dengan rancangan penelitian *cross sectional*.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 3.2.1 Tempat penelitian

Penelitian dan Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Sitohistoteknologi Universitas Setia Budi Surakarta .

##### 3.2.2 Waktu penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2019 sampai dengan Juni 2020.

#### **3.3 Subjek dan Objek Penelitian**

##### 3.3.1 Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah Minyak cengkeh sebagai agen pengganti xilol pada proses *clearing* jaringan

##### 3.3.2 Obyek Penelitian

Obyek penelitian ini adalah hasil pengamatan jaringan secara makroskopis setelah dilakukan proses *clearing*.

### 3.4 Populasi dan Sampel

#### 3.4.1 Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*).

#### 3.4.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sediaan organ hepar yang melibatkan jumlah sampel sebanyak 32 preparat masing-masing berisi organ hepar, yaitu kelompok pertama *clearing* diproses menggunakan xilol dan kelompok kedua *clearing* diproses menggunakan minyak cengkeh.

Untuk menentukan jumlah sampel dari kedua kelompok tersebut, digunakan rumus federer sebagai berikut :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(2 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$r - 1 \geq 15$$

$$r \geq 16$$

keterangan : r = Jumlah Replikasi

t = Jumlah Kelompok

(Budijanto, 2019)

Dari rumus federer didapatkan jumlah kelompok adalah dua dimana kelompok pertama adalah perlakuan *clearing* dengan xilol dan perlakuan kedua *clearing* dengan minyak cengkeh. Jumlah replikasi didapatkan hasil dari masing-masing kelompok tersebut terdapat enam belas potong

jaringan hepar tikus dari enam ekor hewan coba tikus yang dibedah yang kemudian akan dipotong sedemikian rupa untuk dibuat blocking jaringan menggunakan parafin.

### 3.5 Definisi Operasional dan Variabel Penelitian

Adapun definisi operasional dari variabel bebas dan terikat pada pengamatan makroskopis adalah sebagai berikut:

#### 3.5.1 Larutan *clearing*

Larutan *clearing* bertindak sebagai perantara antara larutan dehidrasi dan infiltrasi. Larutan *clearing* yang digunakan adalah minyak cengkeh dan xilol.

Skala ukur : Kategori

Variabel : Bebas

#### 3.5.2 Gambaran pengamatan makroskopis

3.5.2.1 Pengamatan makroskopis dilakukan sesaat proses *clearing* selesai dan sebelum keproses selanjutnya (*embedding*), yang diamati pada makrokopis jaringan adalah:

3.5.2.1.1 Transparansi, hasil ukur dinyatakan dengan tidak tembus cahaya skor 1, kurang tembus cahaya skor 2, dan tembus cahaya skor 3.

3.5.2.1.2 Tekstur, hasil ukur dinyatakan dengan lunak skor 1, keras skor 2, dan kenyal skor 3.

3.5.2.1.3 Kemudahan *sectioning*, diamati saat pemotongan dengan mikrotom dimana hasil ukur dinyatakan dengan sangat sulit skor 1, sulit skor 2, dan mudah skor 3.

Skala ukur : Ordinal

Variabel : Terikat

### **3.6 Teknik Sampling**

Teknik pengambilan sampel organ hepar tikus adalah *quota sampling*.

### **3.7 Sumber Data**

Sumber data diperoleh dari data primer yaitu data hasil pengamatan makroskopis organ hepar tikus.

### **3.8 Instrumen Penelitian**

3.8.1 Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

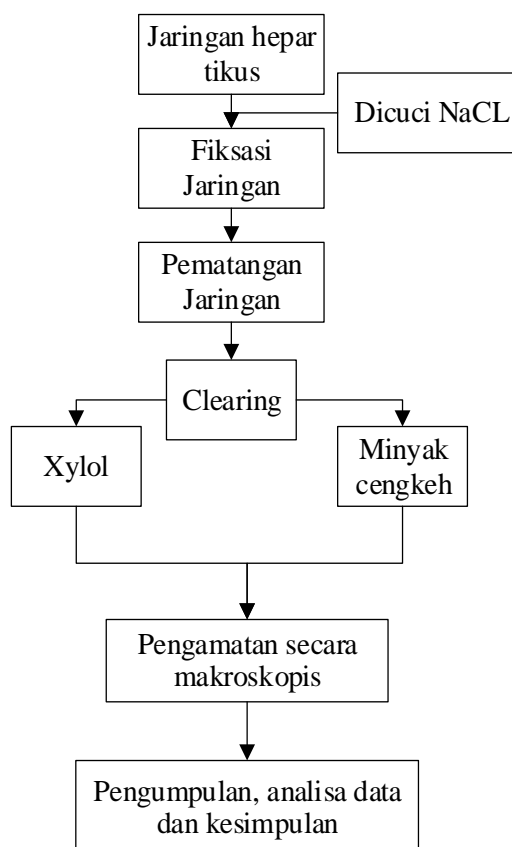
Pisau makros dan talenan, pinset, wadah bermulut lebar, *cassete tissue*, *base mold*, alat *tissue processor*, pensil, kertas label, timer, mikrotom, pisau mikrotom, dan spatel.

3.8.2 Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Jaringan hepar, parafin, xilol, minyak cengkeh, alkohol 100%, aquadest, NBF 10%, NaCl, kapas, dan kertas saring.

### 3.9 Alur Penelitian

Langkah-langkah yang diambil dari penelitian kali ini, terlihat pada skema rancangan penelitian dibawah ini :



### 3.10 Prosedur Penelitian

#### 3.10.1 Pengambilan sampel jaringan

Jaringan yang diperoleh untuk penelitian ini diambil dari hewan tikus yang dipelihara sesuai dengan syarat-syarat hewan coba. Jaringan hepar tikus sebanyak 12 ekor dipotong dengan ukuran 2 x 1 x 0,5 cm dibagi menjadi 2 kelompok masing masing 16 potong untuk setiap kelompok kemudian diberi label .

### 3.10.2 Pembuatan sediaan jaringan

Menurut Kemenkes (2015) pemrosesan jaringan histologi dapat dilakukan dengan cara manual ataupun dengan menggunakan mesin otomatis (*tissue prosesor*).

#### 3.10.2.1 Fiksasi

Jaringan yang telah dipotong secara makroskopis sekitar 5 mm dilakukan pencucian dengan NaCl untuk menghilangkan darahnya lalu dimasukkan dimasukkan kedalam *cassete tissue* kemudian dilakukan fiksasi dengan NBF 10% selama 1 ½ jam, kemudian NBF 10% selama 1 ½ jam.

#### 3.10.2.2 Dehidrasi

Proses pengeluaran cairan yang ada di dalam jaringan ini dilakukan dengan memasukkan jaringan pada alkohol 50% selama 1½ jam, alkohol 70% selama 1½ jam, alkohol 95% selama ½ jam, alkohol 95% selama ½ jam, alkohol 100% selama 2 jam, dan alkohol 100% selama 2 jam.

#### 3.10.2.3 *Clearing*

Pada proses ini dibagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama digunakan larutan xilol I selama 1 jam dan xilol II selama 2 jam. Kelompok kedua dimasukkan ke dalam minyak cengkeh I selama 1 jam dan minyak cengkeh II selama 2 jam.



#### 3.10.2.4 *Impregnation* dan *Embeding*

Jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair I selama 2 jam dan parafin cair II selama 4 jam, kemudia diletakkan pada *base mold*. Jaringan diposisikan dengan benar menggunakan pinset dan terakhir ditambahkan dengan parafin panas hingga menutupi cetakan dan ditutup dengan *cassete tissue*. Proses ini dilakukan untuk meletakkan atau memposisikan spesimen sedemikian rupa dengan tujuan agar mudah dalam proses pemotongan mikrotom.

#### 3.10.2.5 *Cutting*

Pemotongan jaringan dari blok dengan ketebalan 3-5 mm dengan menggunakan mikrotom dan ditangkap dengan objek glass pada *floating bath* (60°C)

### 3.11 Analisis Data

Data yang didapatkan dari pengamatan makroskopis jaringan setelah proses *clearing* adalah transparansi, tekstur dan kemudahan *sectioning* jaringan. Data yang didapat pada penelitian ini diuji normalitas dengan uji *Kolmogorov Smirnov* karena jumlah data hasil >50, kemudian diolah dengan uji hipotesis menggunakan uji *Mann Whitney* (Septiani *et al.*, 2018).

Hasil ukur makroskopis dinyatakan dengan :

Tabel 3. 1 Kriteria Penilaian Makroskopis Kualitas Transparansi Jaringan

No.	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Score
1.	Jaringan tidak tembus cahaya berwarna gelap setelah dilakukan <i>clearing</i>	Tidak Baik	1
2.	Jaringan kurang tembus cahaya dan keruh setelah dilakukan <i>clearing</i>	Baik	2
3.	Jaringan tembus cahaya dan bening/terang setelah dilakukan <i>clearing</i>	Sangat Baik	3

Tabel 3. 2 Kriteria Penilaian Makroskopis Kualitas Tekstur Jaringan

No.	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Score
1.	Jaringan lembek atau lunak setelah dilakukan <i>clearing</i>	Tidak Baik	1
2.	Jaringan kaku atau keras setelah dilakukan <i>clearing</i>	Baik	2
3.	Jaringan sedikit keras atau kenyal setelah dilakukan <i>clearing</i>	Sangat Baik	3

Tabel 3. 3 Kriteria Penilaian Makroskopis Kualitas Kemudahan Potongan Jaringan

No.	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Score
1.	Saat proses <i>sectioning</i> jaringan rapuh atau mudah hancur dan tidak dapat dipotong	Tidak Baik	1
2.	Saat proses <i>sectioning</i> jaringan rapuh namun masih bisa dipotong	Baik	2
3.	Saat proses <i>sectioning</i> jaringan utuh dan dapat dipotong sempurna	Sangat Baik	3

Sumber: Ariyadi & Suryono, 2017; Fumoto *et al.*, 2016; Khristian & Inderiati, 2017; Udonkang *et al.*, 2014

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa minyak cengkeh dapat digunakan sebagai larutan alternatif pada proses *clearing* pembuatan jaringan menggunakan jaringan hepar tikus secara makroskopis. Kualitas jaringan yang diamati secara makroskopis berupa transparansi, tekstur dan kemudahan potongan pada sediaan jaringan yang *diclearing* menggunakan minyak cengkeh memiliki kualitas baik dengan nilai  $p = 0,001 < \alpha (0,05)$ .

#### **B. Saran**

##### 1. Bagi peneliti selanjutnya

Peneliti selanjutnya dapat melakukan penelitian lebih lanjut mengenai penelitian potensi minyak cengkeh sebagai pengganti xilol pada proses pembuatan sediaan jaringan dengan menambah parameter pengamatan mikroskopis preparat.

##### 2. Bagi akademik

Penelitian ini dapat menambah referensi buku yang lebih lengkap dan dapat menambah perbendaharaan skripsi dalam bidang sitohistoteknologi tentang proses *clearing* organ tikus.

##### 3. Bagi masyarakat umum

Memberi informasi kepada masyarakat umum bahaya xilol serta larutan apa yang dapat digunakan sebagai pengganti larutan xilol tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Anonim,2004. *Atlas mousehistology* dalam Susanti, Elvi. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberi Insektisida Golongan Piretroid (Sipermetrin). *Skripsi Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hassanuddin Makassar*.
- Anonim,2012. *Analisis Data Kategorik*. Departemen Statistika - FMIPA IPB.
- Ariyadi, T., dan Suryono, H. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode *Microwave* dan *Conventional Histoprocessing* Pewarnaan HE. *Jurnal Labora Medika Vol 1 No 1 2549-9939*
- Badan Standarisasi Nasional [BSN]. 2006. SNI 06-2387-2006. Minyak Daun Cengkeh. Badan Standarisasi Nasional : Jakarta.
- Budijanto, Didik. 2019. *Populasi, Sampling, dan Besar Sampel*. Pusdatin KEMKES RI.
- Chandraker, R., Rathod, VC., Chandraker NK., Pundir, S., Dixit, S., & Desai, V. 2017. Comparison Between Xylene And Coconut Oil In Tissue Processing. *Mod Med Lab Journal* ; 1(3) : 96-99.
- Cook, MJ. 2012. The Anatomy of the Laboratory Mouse. <http://www.informatics.jax.org/cookbook/imageindex.shtml>. Diakses pada 13 Nopember 2019.
- El-Hadary, AE & Hassanien, MFR. 2016. Hepatoprotective Effect Of Cold-Pressed *Syzygium Aromaticum* Oil Against Carbon Tetrachloride (Ccl<sub>4</sub>)-Induced Hepatotoxicity In Rats. Department Of Agricultural Biochemistry, Faculty Of Agriculture, Zagazig University, 44519 Zagazig, Egypt. *Pharmaceutical Biology, VOL. 54, NO. 8, 1364–1372*

- Fakhriyah, F. 2010. Produksi Benzena, Toulena, dan Xylmr dari Minyak Jarak Melalui Proses Perengkahan Menggunakan Katalis Cu/ZSM-5. *Skripsi Fakultas Teknik Universitas Indonesia , Jakarta.*
- Fessenden, R. J. 1986. *Kimia Organik Edisi 3.* Jakarta: Erlangga.
- Fumoto, S., Nishimura, K., Nishida, K., & Kawakami, S. 2016. Three-Dimensional Imaging of the Intracellular Fate of Plasmid DNA and Transgene Expression: ZsGreen1 and Tissue *Clearing* Method CUBIC Are an Optimal Combination for Multicolor Deep Imaging in Murine Tissues. *PLoS ONE 11(1): e0148233. doi:10.1371/journal.pone.0148233*
- Gill, G.W. 2013. *Cytopreparation: Principles & Practice, Essentials in Cytopathology.* Springer Science10.1007/978-1-4614-4933-1\_15.
- Hadi, S. 2012. Pengambilan Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (Clove Oil) Menggunakan Pelarut N-Heksana Dan Benzena. *Jurnal bahan Alam Terbarukan ISSN 2303-0623.*
- Hapsoh dan Hasanah, Y. 2011. *Budidaya Tanaman Obat dan Rempah .* Medan : USU Press.
- Harnani, ED. 2010. Perbandingan Kadar Eugenol Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* (L.) Meer. & Perry) Dari Maluku, Sumatera, Sulawesi, dan Jawa Dengan Metode Gc-MS. *Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.*
- Indrawati, A. 2017. *Teknik Pembuatan Dan Evaluasi Preparat Histologi Dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin Di Laboratorium Histologi Dan Biologi Sel Fakultas Kedokteran Ugm Dan National Laboratory Animal Center (Nlac) Mahidol University.* Departemen Teknologi Hayati Dan Veteriner Sekolah Vokasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Jacobson, GA., dan McLean, S. 2003. Biological Monitoring Of Low Level Occupational Xylene Exposure And The Role Of Recent Exposure. *Journal*

- Ann. occup. Hyg School of Pharmacy, University of Tasmania* Vol. 47 No. 4, pp. 331–336.
- Kemenkes, RI 2015. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Payudara*. Jakarta: KEMENKES RI Komite Penanggulangan Kanker Nasional.
- Khristian, E., dan Inderiati, D. 2017. *Sitohistoteknologi*. Jakarta: KEMENKES RI Pusat Pendidikan SDM Kesehatan.
- Khristian, E. 2018. Potensi Minyak Gandapura Sebagai Pengganti Xilol Dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Nasional Penelitian & Pengabdian Masyarakat (PINLITAMAS 1)* ISSN 2654-5411
- Kumar, PS., Febriyanti, RM., Sofyan, FR., Luftimas, DE., & Abdulah R. 2014. Anticancer potential of *Syzygium aromaticum* L. in MCF-7 human breast cancer cell lines. *Laboratory of Cell Culture and Cytogenetic, Faculty of Medicine, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia*
- Kunhua, W., Chuming, F., Tao, L., Yanmei, Y., Xin, Y., Xiaoming, Z., Xuezhong g., & Xun, L. 2012. Novel Non-Toxic Xylene Substitute (Sbo) For Histology. *Journal Afr J Tradit Complement Altern Med*, 9(1):43-49
- Kusumo, P., Mulyaningasih, S. & Yulianto, M. E., 2015. *Proses Inaktivasi Enzim Gaultherase Melalui Mixed-Drying Extraction untuk Pengambilan Gaultherin Sebagai Antikanker*. Yogyakarta, Program Studi Teknik Kimia, FTI, UPN “Veteran” Yogyakarta.
- Lisdiana, Nuraini. 2018. Potensi Eugenol Sebagai Agen Proteksi Kerusakan Struktur Paru Akibat Paparan Asap Rokok. Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia. *Jurnal MIPA 41(2) (2018): 87-95*
- Mangunsudirdjo, S. 2010. *Pentunjuk Laboratorium Patologi Anatomi Kedokteran*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

- MSDS m-Xylene 95260. *fishersci.com*. 16 Februari 2020, 19:22 WIB.
- Mark. 2005. *The Laboratory Rat*. dalam Susanti, Elvi. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberi Insektisida Golongan Piretroid (Sipermetrin). *Skripsi Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hassanuddin Makassar*.
- Mescher, A. 2016. Junquiera's Basic Histology Text and Atlas. 4nd Edition. dalam Rupang, Irene. 2018. Analisis Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diberikan Obat Antituberkulosis *Fixed Dose Combination* Secara Subkronis. *Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hassanuddin Makassar*.
- Moller, R. & Vazquez, N. 2011. Anatomi Hati Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Journal Int. J. Morphol.*, 29(1):76-79.
- Muhibbin, M. Zainal. 2018. Penentuan Kandungan Kimia Minyak Cengkeh (*Syzigium Aromaticum*) Dengan Spektroskopi Near Infrared (Nir). *Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor*.
- Muntiha, Mohamad. 2001. *Teknik Pembutan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Heawan Dengan Pewarnaan Hematoxylin Dan Eosin*. Temu Teknis Fungsional Balai Penelitian Veteriner Bogor.
- Occupational Safety and Health Guideline for Xylene. US Department of Labor. Diakses: <http://www.osha.gov/SLTC/healthguidelines/xylene/recognition.html>.
- Pavitrha, B. 2014. Eugenol-A Review. Saveetha Dentar College Chennai. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research Vol. 6(3), 2014, 153-154*.
- Premalatha, BR., Patil, S., Rao, RS., & Indu, M. 2013. Mineral Oil—A Biofriendly Substitute for Xylene in Deparaffinization: A Novel Method. *JCDP jp-journals-10024-1314*.

- 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*.
- Sermadi W., Prabhu, S ., Acharya S ., & Javali SB. 2014. Comparing the efficacy of coconut oil and xylene as a *clearing* agent in the histopathology laboratory. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* Vol.18 Supp 1.
- Septiani,F., Ariyadi, T., & Nuroini, F. 2018. Perbedaan Kualitas Preparat Permanen Pediculus Humanus Capitis Pada Proses *Clearing* Menggunakan Xylol Dan Minyak Cengkeh. *Skripsi Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang*.
- Somalia, L. 2006. Sifat Reproduksi Mencit (*Mus Musculus*) Betina Yang Mendapat Pakan Tambahan Kemangi (*Ocimum Basilicum*) Kering. *Skripsi Fakultas Peternakan IPB Bogor*.
- Suprianto, Abang. 2014. Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital Dengan Metode Konvensional Pada Kualitas Gambaran Histologis Hepar Tikus. *Skripsi Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak*.
- Towaha, J. 2012. Manfaat Eugenol Cengkeh Dalam Berbagai Industri di Indonesia. *Prespektif Jurnal Vol 11 No. 2 ISSN 1412-8004*.
- Udonkang, M., Eluwa, M., Ekanem, TB., Asuquo, OR., & Akpantah, O. 2014. Bleached palm oil as substitute for xylene in histology. *JPCS*, 8.
- United States Department Of Health And Human Services. 2007. Toxicological Profile For Xylene. *Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry*.



World Health Organization. 2019. Eugenol. World Health Organization. Diakses :

<https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx>