

## PENGARUH VARIASI SUHU DAN WAKTU VIRGIN COCONUT OIL PADA PROSES DEPARAFINISASI PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN TERHADAP KUALITAS PREPARAT

EFFECT OF TEMPERATURE AND TIME VARIATIONS OF VIRGIN COCONUT OIL IN THE DEPARAFINIZATION PROCESS HEMATOXYLIN EOSIN STAINING ON THE QUALITY OF THE PREPARATION

Badjuri, Fauzia Zalfa<sup>1</sup>, Durachim, Adang<sup>1</sup>, Wiryanti, Wiwin<sup>1</sup>, Riyani, Ani<sup>1</sup>, Mahmud, Dani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung

Email: [zalfauzia12@gmail.com](mailto:zalfauzia12@gmail.com)

### ABSTRACT

*Deparaffinization aims to dissolve excess paraffin from tissues, generally using xylol. Considering the disadvantages of xylol such as dangerous if it comes into contact with the skin, it is better to replace xylol with alternative ingredients such as virgin coconut oil (VCO). The use of VCO as an alternative material for xylol must be followed by heating with varying temperatures. The purpose of this study was to see whether or not there was an influence of VCO temperature and time variations on the deparaffinization process on the quality of preparations and differences in the quality of preparations using VCO with xylol as tissue deparaffinization material. This study used a quasi-experimental method using Rattus novergicus liver tissue which was given 5 treatments in the deparaffinization process, namely using xylol solution at room temperature for 5 minutes, and VCO at 50°C and 60°C with each temperature soaked for 10 minutes and 15 minutes. The results showed that the use of VCO at a temperature of 50°C microscopically produced preparations with a clear cell nucleus color with an OD value of 160,630 and clear cytoplasm with an OD value of 149,805, while at a temperature of 60°C microscopically produced preparations with a clear cell nucleus color with an OD value of 172,061, but the cytoplasmic color seemed to begin to fade with an OD value of 146,398. This study concluded that there is an influence of temperature and time variations in the deparaffinization process using VCO on the quality of preparations and there are also differences in the quality of tissue preparations between xylol and VCO as deparaffinization materials for hematoxylin eosin staining. The use of VCO at a temperature of 50°C for 10 minutes is an effective alternative tissue deparaffinization material to produce good preparation quality.*

**Keywords:** *Deparaffinization, VCO, temperature, time, hematoxylin eosin.*

### ABSTRAK

Deparafinisasi bertujuan untuk melarutkan kelebihan parafin dari jaringan, umumnya menggunakan *xylol*. Mempertimbangkan kelemahan *xylol* seperti berbahaya jika kontak dengan kulit, maka lebih baik jika mengganti *xylol* dengan bahan alternatif seperti *virgin coconut oil* (VCO). Penggunaan VCO sebagai bahan alternatif *xylol* harus diikuti dengan pemanasan dengan suhu yang bervariasi. Tujuan penelitian ini untuk melihat ada tidaknya pengaruh variasi suhu dan waktu VCO pada proses deparafinisasi terhadap kualitas preparat dan perbedaan kualitas preparat menggunakan VCO dengan *xylol* sebagai bahan deparafinisasi jaringan. Penelitian ini menggunakan metode quasi

eksperimen dengan menggunakan jaringan hepar *Rattus novergicus* yang diberikan 5 perlakuan pada proses deparafinisasi yaitu menggunakan larutan *xylo* pada suhu kamar selama 5 menit, dan VCO pada suhu 50°C dan suhu 60°C dengan masing-masing suhu direndam selama 10 menit dan 15 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan VCO pada suhu 50°C secara mikroskopis menghasilkan preparat dengan warna inti sel yang jelas dengan nilai OD 160.630 dan sitoplasma yang jelas dengan nilai OD 149.805, sedangkan pada suhu 60°C secara mikroskopis menghasilkan preparat dengan warna inti sel yang jelas dengan nilai OD 172.061, namun warna sitoplasma terlihat mulai memudar dengan nilai OD 146.398. Penelitian ini menyimpulkan bahwa terdapat pengaruh variasi suhu dan waktu pada proses deparafinisasi menggunakan VCO terhadap kualitas preparat dan terdapat pula perbedaan kualitas preparat jaringan antara *xylo* dengan VCO sebagai bahan deparafinisasi pewarnaan hematoksilin eosin. Penggunaan VCO pada suhu 50°C selama 10 menit menjadi alternatif bahan deparafinisasi jaringan yang efektif untuk menghasilkan kualitas preparat yang baik.

**Kata kunci:** Deparafinisasi, VCO, suhu, waktu, hematoksilin eosin.

## PENDAHULUAN

Histoteknologi adalah suatu proses pembuatan preparat histologi dari suatu jaringan melalui rangkaian proses mulai dari pembuatan blok parafin sampai proses pewarnaan hingga menjadi preparat yang siap diamati di bawah mikroskop <sup>1</sup>. Kualitas preparat histologi dipengaruhi oleh penanganan spesimen jaringan yang tepat salah satunya yaitu proses pewarnaan jaringan <sup>2</sup>.

Pewarnaan jaringan merupakan tahapan penting dalam prosesing jaringan histologi yang memungkinkan untuk memvisualisasi dan mendiferensiasi struktur seluler. Pewarnaan hematoksilin dan eosin adalah pewarnaan yang paling umum diterapkan dalam bidang histologi <sup>3</sup>. Tahap awal pada pewarnaan hematoksilin eosin yaitu tahapan deparafinisasi yang bertujuan untuk menghilangkan atau melarutkan kelebihan parafin dari jaringan yang umumnya menggunakan larutan *xylo* <sup>4</sup>. Larutan *xylo* sendiri memiliki kelemahan yaitu mudah terbakar, berbahaya jika terhirup dan dapat mengiritasi ketika kontak dengan kulit, dan beracun dengan efek jangka panjang pada kehidupan akuatik <sup>5</sup>.

Mempertimbangkan kelemahan *xylo* yang telah disebutkan, maka akan lebih baik untuk mengganti *xylo* sebagai bahan deparafinisasi untuk

meminimalkan bahaya tersebut dengan bahan alternatif lain seperti larutan pencuci piring, perasan air lemon, *mineral oil* dan minyak kelapa murni atau *virgin coconut oil* (VCO) <sup>6</sup>.

*Mineral oil* dan VCO memiliki fungsi yang mirip dengan *xylo* yaitu dapat melunturkan parafin sehingga preparat dapat terwarnai. Keduanya dapat digunakan sebagai bahan alternatif *xylo* karena merupakan senyawa non polar yang tidak larut dalam air (hidrofobik). Sifat non polar inilah yang diduga memiliki potensi untuk melarutkan parafin. Selain itu VCO juga tersusun atas rantai hidrokarbon yang mana sama dengan *xylo* yang terdiri dari gugus karbon. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa penggunaan VCO sebagai bahan alternatif *xylo* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada gambaran morfologi sel dan kualitas pewarnaan serta memberikan kontras inti dan sitoplasma yang baik juga dapat digunakan sebagai bahan penghilang alkohol tanpa menghilangkan nilai informasi histologis <sup>7</sup>.

Mengenai penggunaan VCO sebagai bahan alternatif *xylo* pada proses deparafinisasi telah dilakukan uji pendahuluan terlebih dahulu dimana pengujian tersebut memberikan hasil yang kurang baik, dikarenakan terdapat

sis tetesan VCO pada preparat yang berpengaruh terhadap warna inti dan sitoplasma <sup>8</sup>. Salah satu faktor penyebab adanya sisa VCO ini dimungkinkan karena pengaruh viskositas VCO yang lebih kental dibandingkan dengan *xylo*. Sejalan dengan hasil penelitian terdahulu disebutkan bahwa VCO memiliki viskositas sebesar 25,920 mm<sup>2</sup>/s <sup>9</sup>.

Suhu memiliki hubungan yang erat dengan viskositas, dimana dengan meningkatnya suhu maka viskositas akan semakin menurun <sup>10</sup>. Oleh karena itu untuk mengurangi viskositas VCO ini dapat dilakukan dengan menggunakan pemanasan pada suhu tinggi sehingga nantinya akan memudahkan VCO untuk larut dalam proses deparafinisasi.

Penelitian ini memiliki tujuan yaitu untuk melihat ada tidaknya pengaruh variasi suhu dan waktu pemanasan *virgin coconut oil* pada proses deparafinisasi terhadap kualitas preparat serta melihat perbedaan kualitas preparat jaringan dengan pewarnaan hematoksin eosin menggunakan *virgin coconut oil* sebagai bahan deparafinisasi jaringan.

## METODE

Jenis penelitian ini termasuk ke dalam penelitian quasi eksperimen dengan memberikan perlakuan variasi suhu dan waktu pemanasan *Virgin Coconut Oil* (VCO) pada proses deparafinisasi terhadap kualitas preparat.

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah preparat jaringan yang dibagi menjadi empat kelompok yang menggunakan VCO pada proses deparafinisasi yang dipanaskan dengan variasi suhu dan waktu. Preparat jaringan diamati berdasarkan kriteria kualitas preparat yang telah ditentukan.

Penelitian ini menggunakan alat dan bahan sebagai berikut.

**Tabel 1. Alat dan Bahan**

No	Alat	Bahan
	Gelas Kimia	Jaringan Hepar Tikus
	Cover Glass	NBF 10%
	Object Glass	Alkohol
	Thermometer	Aseton

Stopwatch	<i>XYLO</i>
Inkubator	<i>Virgin Coconut Oil</i>
Pisau	Etanol
Talenan	Parafin
Mikrotom	Hematoksin-Eosin
Mikroskop	<i>Lithium Carbonate</i>
	Entelan
	<i>Aquadest</i>

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sitohistoteknologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung. Waktu penelitian ini pada bulan Mei 2023.

Objek penelitian ini jaringan hepar tikus (*Rattus novergicus*) yang telah difiksasi dengan NBF 10%. Jaringan hepar yang telah dipotong dengan ukuran 2 x 2 x 0,3 cm direndam dalam larutan fiksatif selama 24 jam. Proses selanjutnya adalah proses pematangan jaringan yang diawali dengan tahap dehidrasi, pembedahan, infiltrasi dan *mounting*. Kemudian blok jaringan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 mikron. Selanjutnya dilakukan proses pewarnaan hematoksin eosin yang dimulai dengan proses deparafinisasi dimana preparat hepar tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu menggunakan *xylo* sebagai kontrol, menggunakan VCO pada suhu 50°C selama 10 menit dan 15 menit dan menggunakan VCO pada suhu 60°C selama 10 menit dan 15 menit.

Penelitian ini menggunakan data primer yang didapat dari kualitas pewarnaan hematoksin eosin berdasarkan pengamatan mikroskopis yang dilihat berupa kejelasan warna inti sel dan sitoplasma serta keseragaman pewarnaan menggunakan mikroskop, dan intensitas warna inti sel dan sitoplasma dengan aplikasi *ImageJ*. Pengamatan mikroskopis dilakukan oleh dokter patologi anatomi juga praktisi laboratorium.

Data penelitian ini diolah dengan uji statistik menggunakan uji normalitas yang bertujuan untuk mengetahui apakah data penelitian terdistribusi normal atau tidak. Selanjutnya jika data terdistribusi normal dilanjutkan dengan

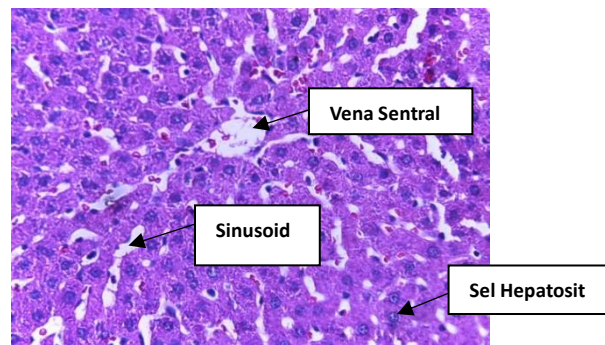


uji *One Way Anova*. Apabila data terdistribusi tidak normal maka dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis.

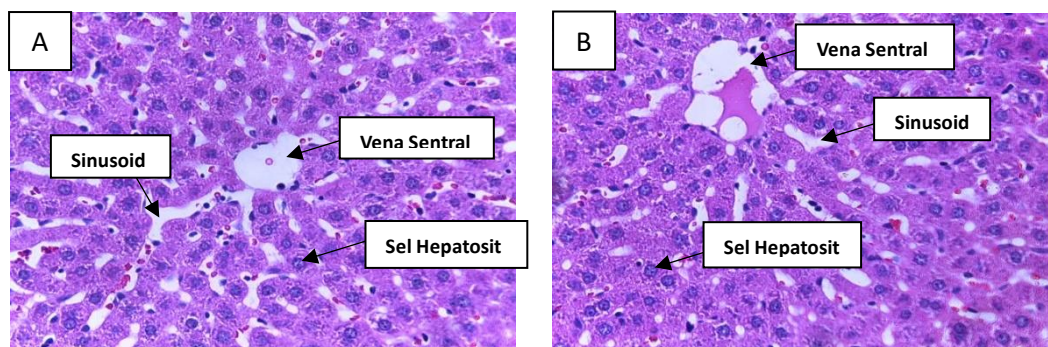
## HASIL

Berdasarkan hasil pengamatan kualitas pewarnaan, dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2 sampel dengan perlakuan pada proses deparafinisasi menggunakan *xylol* pada suhu ruang

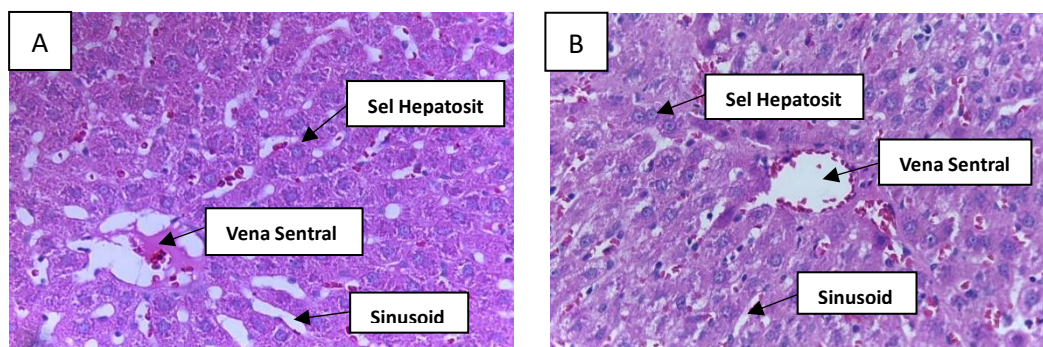
selama 5 menit dan VCO pada suhu 50°C baik selama 10 menit ataupun 15 menit mendapatkan nilai 3 atau dapat dikatakan berkualitas baik. Hal tersebut dikarenakan preparat memiliki warna biru pada inti sel yang jelas, warna merah pada sitoplasma yang jelas serta warna pada preparat seragam sehingga preparat dapat diamati dengan muda.



**Gambar 1. Gambaran Mikroskopis Jaringan Hepar Dengan Perlakuan Proses Deparafinisasi Menggunakan *Xylol* Pada Suhu Ruang Selama 5 Menit Pada Perbesaran 400x**



**Gambar 2. Gambaran mikroskopis jaringan hepar dengan perlakuan proses deparafinisasi menggunakan *virgin coconut oil* pada suhu 50°C selama (A) 10 menit dan (B) 15 menit pada perbesaran 400x.**



**Gambar 3. Gambaran mikroskopis jaringan hepar dengan perlakuan proses deparafinisasi menggunakan *virgin coconut oil* pada suhu 60°C selama (A) 10 menit dan (B) 15 menit pada perbesaran 400x.**

Untuk sampel dengan perlakuan pada proses deparafinisasi menggunakan VCO pada suhu 60°C baik selama 10 menit ataupun 15 menit dapat dilihat pada Gambar 3 dimana mendapatkan nilai 2 atau dapat dikatakan berkualitas tidak baik, hal ini dikarenakan warna pada inti sel dan sitoplasma sudah jelas namun keseragaman warna pada preparat masih kurang, akan tetapi masih dapat diamati.

Selanjutnya dilakukan uji independen menggunakan SPSS untuk melihat apakah terdapat perbedaan dari kualitas pewarnaan preparat jaringan hepar. Berikut tabel hasil uji independen kualitas pewarnaan preparat jaringan hepar:

**Tabel 2. Hasil Uji Independen Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Hepar**

Kelompok Perlakuan	Kelompok Perlakuan	Sig.
Kontrol	Suhu 50°C - 10'	0,072
	Suhu 50°C - 15'	0,072
	Suhu 60°C - 10'	0,000
	Suhu 60°C - 15'	0,000

Berdasarkan hasil uji beda di atas didapatkan nilai signifikan untuk kelompok kontrol dengan perlakuan suhu 50°C baik selama 10 menit dan 15 menit adalah 0,072 atau  $> 0,05$  yang berarti tidak terdapat perbedaan. Sedangkan nilai signifikan untuk kelompok kontrol dengan perlakuan suhu 60°C baik selama 10 menit dan 15 menit adalah 0,000 atau  $< 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan.

Pada Gambar 2 menunjukkan hasil pewarnaan preparat jaringan menggunakan *virgin coconut oil* memiliki kualitas yang sebanding dengan penggunaan *xylol* pada tahapan deparafinisasi pewarnaan hematoksilin eosin. Dapat dilihat pula pada gambar-gambar di atas pada gambaran mikroskopis kelompok perlakuan menggunakan *virgin coconut oil*, tidak terdapat sisa *virgin coconut oil* pada preparat jaringan sehingga preparat jaringan dapat dengan mudah diamati.

Berdasarkan prosedur perolehan nilai intensitas warna, didapatkan nilai intensitas warna inti sel dan sitoplasma sebagai berikut:

**Tabel 3. Data Nilai Intensitas Warna Inti Sel (Hematoksilin) Jaringan Hepar**

Blok	Nilai Intensitas Warna Inti Sel Jaringan (OD)				
	Deparafinisasi menggunakan <i>Virgin Coconut Oil</i>				Deparafinisasi menggunakan <i>Xylol</i>
	50°C		60°C		Suhu Ruang
	10 Menit	15 Menit	10 Menit	15 Menit	5 menit
1	153.649	161.757	177.485	135.992	149.638
2	154.643	164.169	151.085	136.820	156.911
3	176.313	170.292	185.198	157.981	168.724
4	157.547	166.992	182.151	157.301	175.538
5	160.999	153.150	164.390	144.435	156.103

**Tabel 4. Data Nilai Intensitas Warna Sitoplasma (Eosin) Jaringan Hepar**

Blok	Nilai Intensitas Warna Sitoplasma Jaringan (OD)				
	Deparafinisasi menggunakan <i>Virgin Coconut Oil</i>				Deparafinisasi menggunakan <i>Xylol</i>
	50°C		60°C		Suhu Ruang
	10 Menit	15 Menit	10 Menit	15 Menit	5 menit
1	165.007	137.901	148.869	169.011	174.933
2	136.972	147.450	156.443	173.354	146.844
3	142.726	143.229	140.450	172.551	144.230
4	141.193	152.208	140.091	165.651	138.127
5	163.127	139.889	146.139	163.790	154.061

Pada Tabel 3 dapat dilihat kelompok perlakuan *xylo* memiliki rata-rata nilai intensitas warna inti sel sebesar 161.382. Untuk kelompok perlakuan VCO dengan suhu 50°C selama 10 menit dan 15 menit memiliki rata-rata nilai intensitas warna inti sel sebesar 160.630 dan 163.272. Sedangkan kelompok perlakuan VCO dengan suhu 60°C selama 10 menit dan 15 menit memiliki rata-rata nilai intensitas warna inti sel sebesar 172.061 dan 146.505.

Pada Tabel 4 dapat dilihat kelompok perlakuan *xylo* memiliki rata-rata nilai intensitas warna sitoplasma sebesar 151.639. Untuk kelompok perlakuan VCO dengan suhu 50°C selama 10 menit dan 15 menit memiliki rata-rata nilai intensitas warna sitoplasma sebesar 149.805 dan 144.135. Sedangkan kelompok perlakuan VCO dengan suhu 60°C selama 10 menit dan 15 menit memiliki rata-rata nilai intensitas warna sitoplasma sebesar 146.398 dan 168.871. Kemudian data-data tersebut dilakukan uji normalitas secara statistik. Adapun hasil uji normalitas tertera pada tabel berikut:

**Tabel 5. Hasil Uji Normalitas Terhadap Nilai Intensitas Warna Inti Sel dan Sitoplasma**

Kelompok Perlakuan	Uji Normalitas - Shapiro Wilk	
	Inti Sel Sig.	Sitoplasma Sig.
Kontrol	0.615	0.358
50°C - 10'	0.097	0.118
50°C - 15'	0.735	0.805
60°C - 10'	0.441	0.487
60°C - 15'	0.158	0.539

Berdasarkan hasil uji normalitas di atas menggunakan Shapiro-Wilk didapatkan seluruh nilai signifikan > 0,05 yang berarti bahwa data kontrol dan keempatdata perlakuan terdistribusi normal. Dengan demikian, selanjutnya data dilakukan uji beda terhadap masing-masing kelompok menggunakan Uji *One Way Anova*.

**Tabel 6. Hasil Uji One Way Anova Terhadap Intensitas Warna Inti Sel**

Inti Sel		
Kelompok Perlakuan	Kelompok Perlakuan	Sig.
Kontrol	Suhu 50°C - 10'	1,000
	Suhu 50°C - 15'	1,000
	Suhu 60°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,367
Suhu 50°C - 10'	Suhu 50°C - 15'	1,000
	Suhu 60°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,462
	Kontrol	1,000
Suhu 50°C - 15'	Suhu 50°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,202
	Kontrol	1,000
Suhu 60°C - 10'	Suhu 50°C - 10'	1,000
	Suhu 50°C - 15'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,010
	Kontrol	1,000
Suhu 60°C - 15'	Suhu 50°C - 10'	0,462
	Suhu 50°C - 15'	0,202
	Suhu 60°C - 10'	0,010
	Kontrol	0,367

Pada data di atas dapat dilihat pada kelompok perlakuan dengan suhu 50°C selama 10 menit dengan perlakuan lainnya tidak terdapat perbedaan. Begitu pula pada kelompok perlakuan dengan suhu 50°C selama 15 menit dengan perlakuan lainnya juga tidak terdapat perbedaan. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan suhu 60°C baik selama 10 menit dan 15 menit terdapat satu perlakuan yang terdapat perbedaan.

Ditunjukkan dengan hasil Uji *One Way Anova* untuk intensitas warna inti sel, pada kelompok perlakuan suhu 60°C selama 10 menit dan perlakuan suhu 60°C selama 15 menit memiliki nilai Sig 0,010 yang berarti nilai Sig < 0,05 yang mengartikan bahwa terdapat perbedaan pada kedua data tersebut juga memberikan hasil yang lebih rendah seiring bertambahnya waktu pemanasan.



**Tabel 7. Hasil Uji *One Way Anova*  
Terhadap Intensitas Warna Sitoplasma**

Sitoplasma		
Kelompok Perlakuan	Kelompok Perlakuan	Sig.
Kontrol	Suhu 50°C - 10'	1,000
	Suhu 50°C - 15'	1,000
	Suhu 60°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,110
Suhu 50°C - 10'	Suhu 50°C - 15'	1,000
	Suhu 60°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,057
	Kontrol	1,000
Suhu 50°C - 15'	Suhu 50°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 10'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,007
	Kontrol	1,000
Suhu 60°C - 10'	Suhu 50°C - 10'	1,000
	Suhu 50°C - 15'	1,000
	Suhu 60°C - 15'	0,016
	Kontrol	1,000
Suhu 60°C - 15'	Suhu 50°C - 10'	0,057
	Suhu 50°C - 15'	0,007
	Suhu 60°C - 10'	0,016
	Kontrol	0,110

Pada data di atas dapat dilihat pada kelompok perlakuan dengan suhu 50°C selama 10 menit dengan perlakuan lainnya tidak terdapat perbedaan. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan suhu 50°C selama 15 menit juga pada kelompok perlakuan dengan suhu 60°C baik selama 10 menit dan 15 menit terdapat perbedaan.

Ditunjukkan dengan Uji *One Way Anova* untuk intensitas warna sitoplasma antara perlakuan suhu 50°C selama 15 menit dengan perlakuan suhu 60°C selama 15 menit memiliki nilai Sig 0,007 yang berarti nilai Sig < 0,05. Begitu pula antara perlakuan suhu 60°C selama 10 menit dengan perlakuan suhu 60°C selama 15 menit memiliki nilai Sig 0,016 yang berarti nilai Sig < 0,05, maka dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan pada kedua data tersebut juga memberikan hasil yang lebih tinggi seiring bertambahnya suhu dan waktu pemanasan. Maka dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh variasi suhu dan waktu pemanasan *virgin coconut oil*

terhadap intensitas warna inti sel dan sitoplasma jaringan.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa *virgin coconut oil* (VCO) dapat dijadikan sebagai bahan alternatif *xylo* pada proses deparafinisasi pewarnaan hematoksilin eosin yang diikuti dengan pemanasan. Hal ini dikarenakan *virgin coconut oil* merupakan senyawa non polar yang tersusun dari rantai hidrokarbon yang dapat menghilangkan lemak dan parafin yang terdapat dalam jaringan sehingga pori-pori jaringan akan terbuka dan energi kinetik dari molekul tingkat difusi jaringan menurun. Adanya penurunan tersebut, maka parafin yang telah masuk ke dalam sel akan larut dan diisi kembali dengan zat warna <sup>11</sup>. *Virgin coconut oil* dapat digunakan dalam proses deparafinisasi pewarnaan hematoksilin eosin disebabkan oleh mekanisme kerja asam basa yang terjadi antara *virgin coconut oil* dan inti sel yang bersifat asam serta sitoplasma yang bersifat basa, dimana *virgin coconut oil* mengandung asam oleat yang merupakan jenis lemak tak jenuh yang bersifat asam. Komponen yang bersifat asam akan berikatan dengan komponen yang bersifat basa, begitu pun sebaliknya. Inti sel dan sitoplasma dapat terwarnai dengan adanya sifat asam oleat tersebut.

Selain itu, dapat dikatakan juga bahwa terdapat pengaruh waktu dan suhu pemanasan *virgin coconut oil* pada proses deparafinisasi pewarnaan hematoksilin eosin terhadap kualitas preparat. Semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu yang digunakan pada proses deparafinisasi maka akan berpengaruh terhadap intensitas warna inti sel dan sitoplasma.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya sedikit perbedaan kualitas pewarnaan dengan menggunakan *xylo* dan *virgin coconut oil* dengan variasi suhu dan waktu pemanasan. Perbedaan ini terlihat dari nilai yang dihasilkan

berdasarkan pengamatan secara mikroskopis, yaitu untuk *xylo* mendapatkan nilai 3 (baik), begitu pula pada kelompok perlakuan menggunakan *virgin coconut oil* dengan pemanasan pada suhu 50°C baik selama 10 menit dan 15 menit juga mendapatkan nilai 3 (baik). Sedangkan untuk kelompok perlakuan menggunakan *virgin coconut oil* dengan pemanasan pada suhu 60°C baik selama 10 menit dan 15 menit mendapatkan nilai 2 (kurang baik).

Penilaian preparat yang kurang baik dapat dilihat dari keseragaman warna pada preparat yang masih kurang baik, namun preparat tersebut masih dapat didiagnosis. Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.5 yang mana terlihat batas membran sitoplasma sudah mulai pudar. Berdasarkan Gambar 4.5 terlihat bahwa proses deparafinisasi dengan *virgin coconut oil* pada suhu 60°C memiliki warna sitoplasma yang lebih pudar dibandingkan dengan suhu 50°C. Hal ini disebabkan karena proses deparafinisasi dengan reaksi yang berlebih, baik suhu maupun waktu akan menyebabkan pewarnaan menjadi tidak sempurna. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan kegagalan dalam proses deparafinisasi diantaranya yaitu pemilihan suhu, prosedur yang tidak benar, penggunaan reagen yang tidak tepat sehingga dapat mengganggu proses pewarnaan karena air tidak dapat masuk ke dalam jaringan untuk mewarnai komponen sel <sup>12</sup>.

Ketidakteraturan warna pada preparat dapat dipengaruhi pula oleh penyerapan zat fiksatif. Zat fiksatif harus menyerap sampai kebagian dalam hepar. Penyerapan zat fiksatif pada bagian dalam hepar akan memakan waktu lebih lama, maka harus dilakukan lamelasi pada jaringan. Jika terjadi keterlambatan dalam penyerapan dapat mengakibatkan perubahan struktur jaringan. Jika proses fiksasi dilakukan dengan baik, maka akan menghasilkan pewarnaan preparat yang seragam <sup>13</sup>.

Sebagian besar sitoplasma bersifat asidofilik. Terdapat beberapa faktor yang

dapat menyebabkan kurang baiknya warna sitoplasma pada hepar *Rattus novergicus* yang dideparafinisasi menggunakan *virgin coconut oil* sehingga sitoplasma menjadi kurang kontras dan garis antar sel menjadi samar. Beberapa faktor tersebut yaitu pH zat warna eosin yang terlalu tinggi, lamanya proses dehidrasi, terkontaminasi ketika proses dehidrasi dengan alkohol, pemotongan jaringan yang terlalu tipis, dan waktu pewarnaan yang tidak memadai <sup>14</sup>.

Pada pewarnaan hematoksilin eosin, larutan warna hematoksilin berfungsi sebagai pewarna dasar. Setiap komponen jaringan yang terwarnai oleh larutan hematoksilin dianggap basofilik karena struktur basofilik biasanya mengandung asam nukleat dan pada saat terwarnai oleh larutan hematoksilin akan tampak berwarna ungu kebiruan. Sedangkan larutan pewarna eosin bertindak sebagai asam yang mewarnai komponen jaringan tidak berinti sehingga jaringan yang terwarnai akan tampak merah hingga merah muda <sup>15</sup>.

Pengamatan intensitas warna inti sel dan sitoplasma menggunakan pengolahan citra digital dengan perangkat lunak *ImageJ* juga dipengaruhi oleh faktor pewarnaan. Adanya noda pada saat proses pewarnaan memungkinkan dapat mengganggu pada proses analisis gambar. Noda tersebut dapat terbaca sebagai intensitas warna inti sel atau sitoplasma <sup>16</sup>. Gambar mikroskop cahaya bergantung pada penyerapan cahaya oleh pewarna yang digunakan untuk mewarnai sediaan jaringan. Hal ini karena kurangnya pada tahap diferensiasi yang menyebabkan penyerapan kurva hematoksilin dan eosin tumpang tindih pada sebagian besar spektrum yang terlihat <sup>12</sup>.

Pada penelitian sebelumnya ditemukan sisa tetesan *virgin coconut oil* pada gambaran mikroskopis preparat jaringan. Adanya sisa *virgin coconut oil* tersebut dapat mengganggu dalam proses pengamatan, maka diperlukan



pemanasan pada suhu dan waktu tertentu untuk mengurangi viskositas dari *virgin coconut oil* yang relatif lebih besar dibandingkan *xylol*. Viskositas adalah ukuran yang menunjukkan tingkat kekentalan suatu fluida atau cairan yang menyatakan seberapa besar gesekan dalam fluida. Semakin tinggi viskositas fluida, maka semakin sulit bagi fluida tersebut untuk mengalir<sup>17</sup>. Salah satu faktor yang mempengaruhi viskositas adalah suhu, maka viskositas berbanding terbalik dengan suhu, jika suhu naik maka viskositas akan turun, begitu juga sebaliknya<sup>18</sup>. Dengan meningkatnya suhu, kecenderungan zat cair untuk menguap semakin tinggi atau tekanan uap larutan semakin tinggi. Dengan demikian, jarak antar molekul dalam zat cair menjadi semakin besar dan viskositas menjadi lebih kecil.

Pada penelitian ini, berdasarkan pengamatan preparat jaringan secara mikroskopis pada kelompok menggunakan *virgin coconut oil* yang diikuti dengan pemanasan pada suhu tinggi tidak ditemukan sisa *virgin coconut oil*, sehingga preparat dapat dengan mudah diamati. Hal ini sebanding dengan penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa suhu memiliki hubungan yang erat dengan viskositas, dimana dengan meningkatnya suhu maka viskositas akan semakin menurun<sup>10</sup>.

Berdasarkan variasi suhu dan waktu yang digunakan pada penelitian ini didapatkan suhu dan waktu yang optimal jika menggunakan *virgin coconut oil* sebagai bahan deparafinisasi jaringan pada pewarnaan hematoksin eosin yaitu pada suhu 50°C selama 10 menit. Dimana pada suhu dan waktu tersebut didapatkan kualitas preparat yang baik berupa warna inti sel dan warna sitoplasma yang jelas dan seragam serta tidak terdapat sisa *virgin coconut oil* pada preparat jaringan serta tidak memakan waktu yang lama sehingga penelitian menjadi efektif.

## SIMPULAN

Terdapat pengaruh variasi suhu dan waktu VCO pada proses deparafinisasi terhadap kualitas preparat dan terdapat pula perbedaan kualitas preparat jaringan yaitu pada kejelasan warna sitoplasma antara *xylol* dengan VCO yang diikuti pemanasan pada suhu 60°C sebagai bahan deparafinisasi pewarnaan hematoksin eosin. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis memberikan saran yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan VCO sebagai bahan deparafinisasi pewarnaan hematoksin eosin terhadap jaringan lain.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Mescher A. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas 14th Edition.*; 2016.
2. Suvarna S, Layton C, Bancroft J. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Vol 2422. 8th ed. Elsevier; 2018. doi:10.1007/978-1-0716-1948-3\_4
3. Treuting P, Dintzis S, Montine K. *Comparative Anatomy And Histology*. 2nd ed. (Gonzales P, ed.). Mica Haley; 2018. [https://www.google.co.id/books/edition/Comparative\\_Anatomy\\_and\\_Histology/FgBQCwAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=Comparative+Anatomy+And+Histology&pg=PR8&printsec=frontcover](https://www.google.co.id/books/edition/Comparative_Anatomy_and_Histology/FgBQCwAAQBAJ?hl=id&gbpv=1&dq=Comparative+Anatomy+And+Histology&pg=PR8&printsec=frontcover)
4. Prabin S, Isha S, Kaoru K. Immunohistochemistry: A Review of Practical Procedure. *Nepal J Neurosci*. 2009;6(2):38-41.
5. Scientific TF. *Safety Data Sheet, Xylenes, Reagent Grade*. Vol 4(2).; 2012. [https://us.vwr.com/assetsvc/asset/en\\_US/id/16490607/contents](https://us.vwr.com/assetsvc/asset/en_US/id/16490607/contents)
6. Prema V, Prasad H, Srichinthu K, Kumar S, Rajkumar K, Marudhamani C. Biofriendly substitutes for xylene in deparaffinization. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(5):623. doi:10.4103/jpbs.JPBS\_164\_20
7. Saravanakumar P, Bharanidharan R,

8. Ramadoss R, Aravind, Kumar Ar. Efficacy of “groundnut oil” and “coconut oil” as a substitute for “xylene” in clearing tissues samples – A comparative study. *SRMJ Res Dent Sci*. 2019;10(4):194. doi:10.4103/srmjrd.srmjrd\_53\_19
9. Azizah AN. Perbedaan Kualitas Pewarnaan Menggunakan Xylol dan Virgin Coconut Oil Sebagai Agen Deparafinisasi Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin. Published online 2022.
10. Pakpahan R, Nasution E. Sifat Fisika Virgin Coconut Oil (VCO) Yang Dibuat Dengan Metode Pengadukan. *J ESTUPRO*. 2022;7(1):1-4.
11. Lumbantoruan P, Yulianti E. Pengaruh Suhu terhadap Viskositas Minyak Pelumas (Oli). *J Sainmatika*. 2016;13(2):26-34.
12. Khristian E. Potensi Minyak Gandapura Sebagai Pengganti Xilol Dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit. *Pinlitamas I*. 2018;1(1)Khristian, E. (2018). Potensi Minyak Gandapura Sebagai Pengganti Xilol Dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit. *Pinlitamas 1*, 1(1), 638–644. <http://www.ejournal.lppmstikesjayc.ac.id/index.php/pinlitamas1/article/view/104>:638-644. <http://www.ejournal.lppmstikesjayc.ac.id/index.php/pinlitamas1/article/view/104>
13. Survana S, Layton C, Bancroft J. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 7th ed. Elsevier; 2013.
14. Suprianto A. PERBANDINGAN EFEK FIKSASI FORMALIN METODE INTRAVITAL DENGAN METODE KONVENSIONAL PADA KUALITAS GAMBARAN HISTOLOGIS HEPAR TIKUS. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014;85(1):2071-2079. <https://www.neliti.com/id/publications/193490/perbandingan-efek-fiksasi-formalin-metode-intravital-dengan-metode-konvensional>
15. National Society Histotechnology. Guidelines for Hematoxylin & Eosin Staining. *Natl Soc Histotechnol*. Published online 2001:1-11. [https://nsh.org/sites/default/files/Guidelines\\_For\\_Hematoxylin\\_and\\_Eosin\\_Staining.pdf](https://nsh.org/sites/default/files/Guidelines_For_Hematoxylin_and_Eosin_Staining.pdf)
16. Ruegg M, Meinen S. Histopathology in Hematoxylin & Eosin stained muscle sections. *Histopathol Hematoxylin Eosin Stain muscle Sect SOP*. 2014;(Id):1-9. <http://www.treatmentmd.eu/resources/research-resources/dmd-sops/>
17. Bindhu P, Krishnapillai R, Thomas P, Jayanthi P. Facts in artifacts. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2013;17(3):397. doi:10.4103/0973-029X.125206
18. Mulyono A, Ariyanti ES. Otomatisasi Pengukuran Koefisien Viskositas Zat Cair Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *J Neutrino*. 2010;2(2):183-192. doi:10.18860/neu.v0i0.1640
19. Sani. *Pengaruh Pelarut Phenol Pada Reklamasi Minyak Pelumas Bekas*; 2010. [http://eprints.upnjatim.ac.id/3002/2/MINYAK\\_PELUMAS.pdf](http://eprints.upnjatim.ac.id/3002/2/MINYAK_PELUMAS.pdf)