

## Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) pada Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Berdasarkan Ketebalan Mikrotom

### Differences in Hemtoxylin Eosin Staining Results in Mice Kidney Histology (*Mus musculus*) Based on Microtome Thickness

Eko Naning Sofyanita<sup>1\*</sup>

Utami Purnama Siwi<sup>2</sup>

Program Studi D-IV Analisis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Semarang, Jawa Tengah, Indonesia

\*email:

[utamipurnamasawi@gmail.com](mailto:utamipurnamasawi@gmail.com)

#### Abstrak

Tahap pemotongan (*sectioning*) menggunakan mikrotom merupakan tahap pembuatan jaringan yang perlu diperhatikan ukuran ketebalannya. Ukuran ketebalan mikrotom yang dapat digunakan yaitu 3-5  $\mu\text{m}$ . Hewan mencit memiliki banyak keunggulan, sedangkan organ ginjal mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu organ yang sering digunakan dalam penelitian. Pewarnaan jaringan yang sering digunakan secara rutin adalah pewarna yang dapat memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui perbedaan hasil pewarnaan HE pada histologi ginjal mencit berdasarkan ketebalan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$ . Penelitian ini menggunakan jenis penelitian Eksperimental dengan desain penelitian *true experimental post test only control group design*. Inti sel tampak berwarna biru keunguan pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata nilai 2,97. Sitoplasma tampak jelas dan berwarna merah muda pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata nilai 3. Keseragaman warna pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$  dengan intensitas warna yang merata pada seluruh lapang pandang dengan rata-rata nilai 3. Hasil uji *Kruskal Wallis* dan *Man Whitney* pada ketebalan pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$  menunjukkan adanya perbedaan hasil kualitas pewarnaan sediaan preparat ginjal mencit dengan signifikan  $p = 0.000$ . Kesimpulan penelitian ini yaitu pemotongan menggunakan organ ginjal mencit dapat menggunakan ketebalan 3  $\mu\text{m}$ .

#### Kata Kunci:

Mikrotom  
Pewarnaan  
Pemotongan

#### Keywords:

Microtome  
Staining  
Sectioning

#### Abstract

The sectioning stage using a microtome is the stage for making tissue that needs to be considered for its thickness. The size of the thickness of the microtome that can be used is 3-5  $\mu\text{m}$ . Mice have many advantages, while the rat kidney (*Mus musculus*) is one of the organs that is often used in research. Tissue staining that is often used routinely is a dye that can stain the nucleus and cytoplasm and its connective tissue, namely *Hematoxylin Eosin* (HE) staining. The purpose of this study was to determine the differences in the results of HE staining in mice kidney histology based on microtome thicknesses of 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$  and 9  $\mu\text{m}$ . This study uses experimental research with a true experimental post test only control group design. The nucleus appeared purplish blue in the 3  $\mu\text{m}$  microtome cutting group with an average value of 2.97. The cytoplasm was clear and pink in the 3  $\mu\text{m}$  microtome cutting group with an average value of 3. Color uniformity in the 3  $\mu\text{m}$  microtome cutting group with uniform color intensity throughout the visual field with an average value of 3. Test results *Kruskal Wallis* and *Man Whitney* on the microtome cutting thickness of 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$  and 9  $\mu\text{m}$  showed that there was a significant difference in the results of the staining quality of mice kidney preparations with  $p = 0.000$ . The conclusion of this study is that cutting using a mouse kidney organ can use a thickness of 3  $\mu\text{m}$ .



© 2024 The Authors. Published by Institute for Research and Community Services Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. This is Open Access article under the CC-BY-SA License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>). DOI: <https://doi.org/10.33084/jsm.v10i1.5051>

## PENDAHULUAN

Histoteknik merupakan metode atau proses mempersiapkan organ, jaringan, atau bagian jaringan melalui suatu rangkaian hingga menjadi preparat sediaan yang siap untuk diamati atau dianalisa (Annisa, 2022).

Proses pembuatan preparat sediaan histologi memiliki beberapa tahap yaitu fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembersihan (*clearing*), pembedahan (*embedding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan

jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*), dan pelabelan (*labeling*) (Sumanto, 2014).

Pemotongan merupakan salah satu tahapan dalam mikroteknik yang sangat penting untuk menghasilkan sediaan yang baik. Pemotongan jaringan adalah proses pemotongan blok jaringan dengan menggunakan mikrotom (Aulina & Iswara, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Mohammed (2012) ketebalan mikrotom cahaya yang digunakan dapat bervariasi antara 1-10  $\mu\text{m}$ . Brilian (2021) menjelaskan bahwa sediaan ginjal dipotong dengan ketebalan 3-5  $\mu\text{m}$  yang menunjukkan hasil kualitas sediaan yang baik yaitu warna biru terang pada inti sel, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan warna pada preparat seragam. Shield (2019) dan Prahanarendra (2015) menjelaskan bahwa standar ketebalan potongan jaringan histologi adalah 6  $\mu\text{m}$  yang menunjukkan hasil kualitas sediaan yang baik (Brilian, 2021; Mohammed *et al.*, 2012; Prahanarendra, 2015; Shields & Heinbockel, 2019).

Pewarnaan inti yang tidak menyerap sempurna artinya kurang adekuatnya *hematoxylin* yang mewarnai bagian inti seluler dan *eosin* yang mewarnai bagian sitoplasma. Ketebalan yang terlalu tipis menyebabkan *adsorpsi* atau penyerapan warna yang tidak sempurna sehingga gambaran mikroskopis tidak jelas. Ketebalan yang terlalu tebal menyebabkan intensitas warna akan meningkat pada ketebalan bagian yang lebih besar/tebal (Ariyadi & Suryono, 2017; Chlipala *et al.*, 2020).

Metode pewarnaan jaringan yang sering digunakan secara rutin adalah pewarna yang dapat memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). *Hematoxylin* bekerja sebagai pewarna basa dan *Eosin* bekerja sebagai pewarna asam (Tyas *et al.*, 2018).

Salah satu organ yang dapat digunakan untuk pembuatan preparat sediaan histologi adalah ginjal mencit (Kartika *et al.*, 2013). Peneliti menggunakan hewan coba mencit karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup relatif

pendek, mudah ditangani, banyaknya jumlah anak per kelahiran, mudah ditangani, memiliki struktur anatomi dan fisiologis mirip dengan manusia (Nugroho, 2018).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk mengetahui perbedaan hasil pewarnaan HE dengan ukuran ketebalan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$ , dan 9  $\mu\text{m}$  terhadap sediaan histologi ginjal mencit karena terdapat perbedaan ukuran ketebalan mikrotom di beberapa jurnal yang ada dan belum adanya standar baku yang digunakan untuk pemotongan sediaan histologi.

## METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari penyusunan proposal hingga penyusunan laporan akhir yaitu sejak bulan Agustus 2022 sampai April 2023. Tempat penelitian ini yaitu di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *Eksperimental* dengan desain penelitian *true eksperimental post test only control group design* karena penelitian ini bertujuan untuk mencari perbedaan hasil pewarnaan, kemudian di rata-rata skor *post test* kelompok dengan metode statistika untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan atau tidak (Rukminingsih *et al.*, 2020).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah preparat sediaan organ ginjal mencit. Terdapat tiga kelompok perlakuan yaitu dengan ketebalan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$ , dan 9  $\mu\text{m}$ . Total sampel yang digunakan adalah 27 preparat sediaan ginjal mencit yang ditentukan berdasarkan rumus Federer. Masing-masing skala ketebalan berjumlah 9 preparat dan diamati 5 lapang pandang per preparat sediaan organ ginjal mencit (*Mus musculus*).

Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop cahaya menggunakan perbesaran 400 kali. Pembacaan lapang preparat dilakukan oleh peneliti dan dokter spesialis patologi anatomi berdasarkan skoring inti sel,

sitoplasma, dan keseragaman warna pada preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*). Hasil pengamatan kemudian dihitung bobot skor kualitas mikroskopis sediaan dari lapangan pandang pada masing-masing preparat menggunakan model skoring kualitas mikroskopis histologi jaringan. Penilaian dicatat dan dihitung rata-rata skor tiap variasi ketebalan pemotongan mikrotom.

Tabel data diolah menggunakan *Statistical Program For Social Science (SPSS)* versi 25 dengan uji normalitas yaitu *Saphiro Wilk* (sampel <50). Uji hipotesis yang digunakan adalah *Kruskal Wallis* karena untuk membandingkan penilaian antara lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan yang berskala ordinal secara keseluruhan (3 µm, 6 µm, 9 µm) dan uji hipotesis *Man Whitney* untuk membandingkan hasil antara 2 kelompok perlakuan (3 µm dan 6 µm, 3 µm dan 9 µm, 6 µm dan 9 µm).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, mikrotom, pisau mikrotom, penggaris, satu set peralatan bedah, pinset, *base mold*, *water bath*, *object glass*, *dect glass*, *sterofoam*, *cassate* jaringan dan kertas saring. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ ginjal mencit, larutan NBF 10%, *entellan*, parafin, *Xylo*, larutan pewarna *Hematoxylin Eosin (HE)*. Prosedur pembuatan preparat ginjal mencit dilakukan dengan proses pembedahan hewan uji coba mencit (*Mus musculus*) untuk mengambil organ ginjal dan dilanjutkan pada tahap mikroteknik hingga menjadi preparat sediaan jaringan untuk diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop.

**Tabel I.** Skoring Penilaian Kriteria Preparat Sediaan (Sofyanita et al., 2022)

No.	Kategori	Deskripsi	Kualitas	
			Ordinal	Skor
1.	Inti Sel	Tidak tampak jelas warna biru keunguan pada inti sel	Tidak Baik	1
		Kurang jelas warna biru keunguan pada inti sel	Kurang Baik	2
		Tampak jelas warna biru keunguan pada inti sel	Baik	3
2.	Sitoplasm a	Tidak tampak jelas warna merah muda pada sitoplasma	Tidak Baik	1
		Kurang jelas warna merah muda pada sitoplasma	Kurang Baik	2
		Tampak jelas warna merah muda pada sitoplasma	Baik	3
3.	Keseraga man Warna	Pewarnaan preparat tidak seragam	Tidak Baik	1
		Pewarnaan preparat kurang seragam	Kurang Baik	2
		Pewarnaan preparat seragam	Baik	3

**Tabel II.** Skoring Total Kualitas Sediaan Preparat (Sofyanita et al., 2022)

No.	Kriteria	Nilai
1.	Tidak Baik	1-3
2.	Kurang Baik	4-6
3.	Baik	7-9

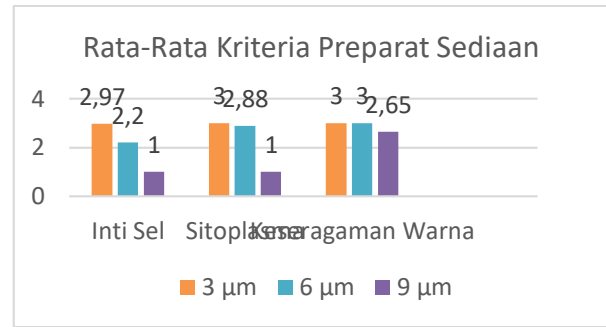
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan menggunakan organ ginjal mencit (*Mus musculus*) yang didapatkan dari proses pembedahan kemudian dilakukan tahapan mikroteknik hingga menjadi preparat sediaan ginjal mencit yang siap baca. Preparat dibaca oleh dokter spesialis patologi anatomi dan penulis, masing-masing pembaca menilai lima lapang pandang pada di setiap preparat.

**Hasil**

**Tabel I.** Tabulasi Data Hasil Penilaian Lapang Pandang Preparat Sediaan Jaringan Ginjal Mencit (*Mus musculus*)

Variabel	Kode Preparat	Lapang Pandang					Rata-Rata Skor	Total Rata-Rata	Kualitas Preparat
		1	2	3	4	5			
Pemotongan 3 μ	G3A	9	9	9	9	9	9		BAIK
	G3B	9	9	9	9	9	9		BAIK
	G3C	9	9	8,5	8,5	9	8,8		BAIK
	G3D	9	9	9	9	9	9		BAIK
	G3E	9	9	9	9	9	9	8,97%	BAIK
	G3F	9	9	9	9	9	9		BAIK
	G3G	9	9	9	9	9	9		BAIK
	G3H	9	9	9	9	9	9		BAIK
	G3I	9	9	9	9	9	9		BAIK
Pemotongan 6 μ	G6A	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5		BAIK
	G6B	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5		BAIK
	G6C	8	8	8	8	8	8		BAIK
	G6D	8,5	8,5	8	8	8	8,2		BAIK
	G6E	8	8	8,5	8	8	8,1	8,07%	BAIK
	G6F	8,5	8,5	9	8,5	9	8,7		BAIK
	G6G	8	8	8	8	8	8		BAIK
	G6H	8	8	8	8	8	8		BAIK
	G6I	9	9	9	8,5	8	8,7		BAIK
Pemotongan 9 μ	G9A	5	4,5	5	5	5	4,9		KURANG BAIK
	G9B	4	4	4	4	4	4		KURANG BAIK
	G9C	4	4	4	4	4	4		KURANG BAIK
	G9D	4	4	4	4	4	4		KURANG BAIK
	G9E	5	5	5	5	5	5	4,65%	KURANG BAIK
	G9F	5	5	5	5	5	5		KURANG BAIK
	G9G	5	5	5	5	5	5		KURANG BAIK
	G9H	5	5	5	5	5	5		KURANG BAIK
	G9I	5	5	5	5	5	5		KURANG BAIK



**Gambar I.** Perhitungan Rata-Rata

Kriteria penilaian inti sel di preparat dengan pemotongan 3 μm mendapatkan hasil kurang baik dengan nilai rata-rata nilai 2,97, pemotongan 6 μm mendapatkan hasil kurang baik dengan rata-rata nilai 2,2, sedangkan pemotongan 9 μm mendapatkan hasil tidak baik dengan nilai rata-rata nilai 1.

Penilaian sitoplasma dengan pemotongan 3 μm mendapatkan hasil baik dengan rata-rata nilai 3, pemotongan 6 μm mendapatkan hasil kurang baik dengan nilai rata-rata nilai 2,88, pemotongan 9 μm mendapatkan hasil tidak baik dengan rata-rata nilai 1.

Penilaian keseragaman warna dengan pemotongan 3 μm mendapatkan hasil baik dengan rata-rata nilai 3, pemotongan 6 μm mendapatkan hasil baik dengan nilai rata-rata 3, pemotongan 9 μm mendapatkan hasil tidak baik dengan nilai rata-rata 2,65.

**Tabel II.** Data Kelompok Kualitas Preparat Sediaan

Variabel	Skor	Kualitas Preparat		
		Pemotongan 3 μm	Pemotongan 6 μm	Pemotongan 9 μm
		n (%)	n (%)	n (%)
Tidak Baik	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	4	0 (0%)	0 (0%)	4 (44,5%)
Kurang Baik	5	0 (0%)	0 (0%)	5 (55,5%)
	6	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	7	0 (0%)	2 (22,2%)	0 (0%)
Baik	8	1 (11,1%)	7 (77,8%)	0 (0%)
	9	8 (88,9%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Total (%)</b>		<b>9 (100%)</b>	<b>9 (100%)</b>	<b>9 (100%)</b>

Berdasarkan tabel II kualitas preparat kelompok pemotongan 3 µm didapatkan kualitas baik skor 8 berjumlah 1 preparat (11,1%) dan skor 9 berjumlah 8 preparat (88,9%). Hasil kualitas preparat kelompok pemotongan 6 µm didapatkan kualitas baik skor 7 berjumlah 2 preparat (22,2%) dan skor 8 berjumlah 7 preparat (77,8%). Kualitas preparat kelompok pemotongan 9 µm didapatkan kualitas kurang baik skor 5 berjumlah 5 preparat (55,5%) dan kurang baik skor 4 berjumlah 4 preparat (44,5%). Hasil presentase tersebut diperoleh berdasarkan rata-rata penilaian parameter tiap lapang pandang mikroskopis oleh dua pembaca yang kemudian dikategorikan berdasarkan skoring penilaian kualitas preparate. Penilaian kualitas preparate diatas, kemudian data dilakukan uji normalitas menggunakan *Statistical Program for Social Science (SPSS)* versi 25.

**Tabel III.** Hasil Uji Normalitas Data

Kualitas Preparat	p value	Keterangan
Pemotongan 3 µm	0.000	Ada perbedaan
Pemotongan 6 µm		
Pemotongan 9 µm		

Berdasarkan tabel 3 pada hasil uji normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk* untuk ketiga kelompok kualitas preparat sediaan ginjal mencit didapatkan signifikansi hasil ketiga perlakuan adalah  $p=0.000$  yang berarti seluruh variabel memiliki sebaran data tidak normal ( $p<0.05$ ), karena sudah diketahui distribusi data tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji hipotesis non-paramaterik *Kruskal Wallis* untuk membandingkan penilaian antara lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan secara keseluruhan (3 µm, 6 µm, 9 µm) dan untuk membandingkan hasil antara 2 kelompok dilakukan uji *Man Whitney*.

**Tabel IV.** Hasil Uji *Kruskal Wallis*

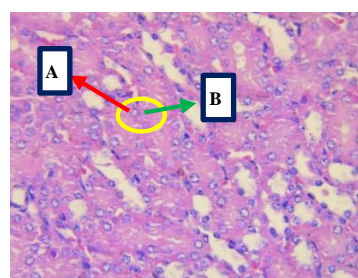
Kualitas Preparat	p value	Keterangan
Pemotongan 3 µm	0.000	Ada perbedaan
Pemotongan 6 µm		
Pemotongan 9 µm		

Berdasarkan tabel 4 pada hasil hipotesis *Kruskal-Wallis* di atas, diperoleh nilai signifikan 0.000 ( $p<0.05$ ) maka hipotesis diterima atau dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan hasil kelompok kualitas pewarnaan preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) pada pemotongan 3 µm, 6 µm dan 9 µm.

**Tabel V.** Hasil Non-Parametrik *Man Whitney*

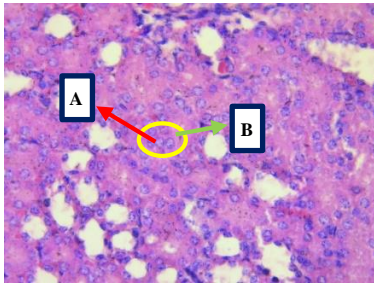
Kualitas Preparat	P value	Keterangan
Pemotongan 3 µm	0.000	Ada perbedaan
Pemotongan 6 µm		
Pemotongan 3 µm	0.000	Ada Perbedaan
Pemotongan 9 µm		
Pemotongan 6 µm	0.000	Ada Perbedaan
Pemotongan 9 µm		

Berdasarkan tabel 5 pada hasil hipotesis *Man Whitney* di atas, diperoleh nilai signifikan 0.000 ( $p<0.05$ ) dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan hasil kelompok kualitas pewarnaan preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) antara 2 kelompok perlakuan (3 µm dan 6 µm, 3 µm dan 9 µm, 6 µm dan 9 µm).



**Gambar II.** Mikroskopis Sediaan Ginjal Mencit (*Mus musculus*) pemotongan 3 µm. (HE, 400X)

- (A) Inti sel skor 3 = bentuk jelas, biru keunguan
- (B) Sitoplasma skor 3 = merah muda
- Keseragam warna = seragam

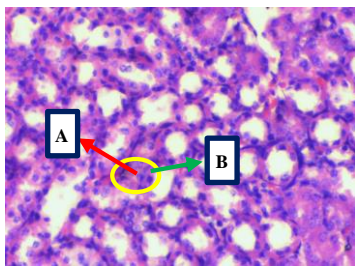


**Gambar III.** Mikroskopis Sediaan Ginjal Mencit (*Mus musculus*) pemotongan 6 µm. (HE, 400X)

(A) Inti sel skor 2 = bentuk jelas, biru keunguan

(B) Sitoplasma skor 2 = merah muda

Keseragam warna = seragam



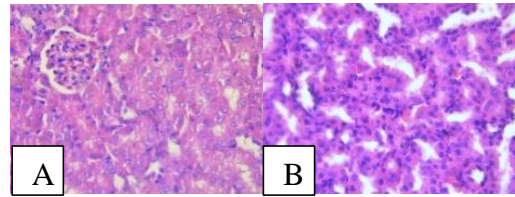
**Gambar IV.** Mikroskopis Sediaan Ginjal Mencit (*Mus musculus*) pemotongan 9 µm. (HE, 400X)

(A) Inti sel = bentuk tidak jelas (sel bertumpuk)

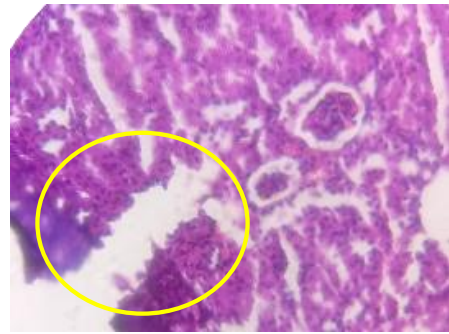
(B) Sitoplasma = tidak tampak jelas warna merah muda

Keseragam warna = seragam

Dilihat pada gambar II, III, IV preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) terlihat adanya perbedaan. Pemotongan 3 µm inti sel tampak jelas bewarna biru keunguan, sitoplasma bewarna merah muda dan keseragaman warna yang baik. Pemotongan 6 µm inti sel tampak kurang jelas bewarna biru keunguan, sitoplasma kurang tampak bewarna merah muda dan keseragaman warna yang baik. Pemotongan 9 µm inti sel tampak tidak jelas warna biru keunguan, sitoplasma tidak tampak bewarna merah muda dan keseragaman warna yang baik.



**Gambar V.** Batas antar sel baik pada pemotongan (A) 3 µm dan Batas antar sel kurang baik (B) 9 µm



**Gambar VI.** Preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terlipat dan robek

Dilihat pada gambar V preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) terlihat pada gambar A dengan batas antar sel yang baik dan pada gambar B dengan batas antar sel yang kurang baik. Pada gambar VI menunjukkan preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dengan pemotongan 9 µm terlipat dan robek

### Pembahasan

Pada tabel I dan II didapatkan hasil kualitas preparat ginjal mencit (*Mus musculus*) kelompok pemotongan 3 µm memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan kelompok pemotongan 6 µm dan 9 µm. Hal ini sesuai dengan penelitian Brilian (2021) menjelaskan bahwa sediaan ginjal dipotong dengan ketebalan 3-5 µm yang menunjukkan hasil kualitas sediaan yang baik yaitu warna biru terang pada inti sel, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan warna pada preparat seragam (Brilian, 2021).

Hasil pemotongan yang kurang baik dapat dipengaruhi oleh kurangnya ketajaman pisau dan konsistensi dalam kecepatan pemotongan sehingga mengakibatkan tampaknya garis-garis pada pita jaringan, suhu blok jaringan harus dingin agar pita parafin tidak menggulung,

air pada *waterbath* harus bersih untuk menghindari adanya artefak pada preparat sediaan. Pada gambar 6 pemotongan mikrotom yang terlalu tebal menyebabkan pita parafin menggulung dan robek sehingga proses pewarnaan tidak menyerap dengan sempurna (Ariyadi & Suryono, 2017). Irisan jaringan yang terlalu tebal dapat mengakibatkan lipatan pita parafin akibat panas pada jaringan karena gesekan antara blok parafin dan pisau mikrotom saat melakukan pemotongan yang lebih dari satu kali (Alwi, 2016).

Hasil pengamatan mikroskopis yang kurang baik dapat disebabkan karena faktor pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) yang berperan sebagai pewarna dasar. Pewarnaan HE memiliki prinsip *Hematoxylin* bersifat basa yang menghasilkan senyawa hematin dan akan memberikan warna biru keunguan terhadap zat yang mengandung asam nukleat seperti inti sel (Halim, 2018). *Eosin* memiliki sifat asam dan akan mengikat molekul protein yang bermuatan positif di sitoplasma dan jaringan ikat serta dapat memberikan perbedaan warna merah dan merah muda (Mutoharoh et al., 2020).

Dalam penelitian ini parameter inti sel pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$  diperoleh hasil terbaik dibandingkan dengan kelompok pemotongan mikrotom 6  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$ . Inti tampak berwarna biru keunguan pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , sedangkan pada kelompok pemotongan mikrotom 6  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$  inti sel terlihat saling bertumpuk yang disebabkan oleh penyerapan yang kurang baik karena pemotongan yang terlalu tebal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Brilian (2021) bahwa pemotongan 3-5  $\mu\text{m}$  menghasilkan sediaan yang baik dengan presentase 100% inti sel baik (Brilian, 2021). Faktor yang dapat mempengaruhi pewarnaan inti diantaranya proses fiksasi terlalu lama yang menyebabkan pengerasan jaringan sehingga kurang dalam penyerapan warna, dan proses penghilangan parafin (*deparafinisasi*) yang tidak sempurna (Suprianto, 2014).

Pada penelitian ini parameter sitoplasma pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$  diperoleh hasil terbaik dibandingkan dengan kelompok pemotongan mikrotom 6  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$ . Sitoplasma tampak jelas dan berwarna merah muda pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , sedangkan pada kelompok pemotongan mikrotom 6  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$  sitoplasma kurang dapat diamati dengan jelas karena batar antar sel yang kurang jelas. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Herawati (2022) bahwa pemotongan 3-4  $\mu\text{m}$  menghasilkan sediaan yang baik dengan sitoplasma 100% inti sel baik (Herawati, 2022). Faktor yang dapat mempengaruhi pewarnaan sitoplasma dapat disebabkan oleh fiksasi yang tidak adekuat, pH terlalu tinggi, dehidrasi dengan alkohol terlalu lama, dan waktu pewarnaan yang tidak adekuat dapat mengakibatkan warna sitoplasma menjadi lebih pucat dan batas antar sel kabur, dapat dilihat pada gambar 5 (Elen, 2019).

Parameter keseragaman warna pada kelompok pemotongan mikrotom 3  $\mu\text{m}$  dan 6  $\mu\text{m}$  diperoleh hasil terbaik karena memiliki keseragaman pewarnaan dengan intensitas warna yang merata pada seluruh lapang pandang dibandingkan dengan kelompok pemotongan 9  $\mu\text{m}$ . Menurut Pratiwi (2021) keseragaman warna yang kurang baik dapat disebabkan karena kurangnya waktu pada tahap deparafinisasi untuk menghilangkan parafin menggunakan *xylene* dari jaringan sehingga menyebabkan artefak pada preparat serta adanya endapan pada reagen karena sebelum dilakukan proses pewarnaan, cat tidak disaring dengan sempurna (Pratiwi, 2021).

Hasil seluruh skor lapang pandang kemudian diuji normalitas datanya, berdasarkan tabel 4.3 diperoleh hasil data ( $p=0.000$ ) terdistribusi tidak normal. Apabila sebaran datanya tidak normal maka dilanjutkan dengan uji statistik non-parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis* untuk membandingkan penilaian antara lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan secara keseluruhan (3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$ , 9  $\mu\text{m}$ ) dan untuk membandingkan hasil antara 2 kelompok dilakukan uji *Man Whitney*.

Tabel 4 diperoleh hasil uji *Kruskal Wallis* dengan signifikan  $p=0.000$  ( $p<0.05$ ) yang menunjukkan ada perbedaan kualitas sediaan preparat secara statistik antara kelompok pemotongan 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$ , dan 9  $\mu\text{m}$ . Tabel 5 diperoleh hasil uji *Man Whitney* dengan signifikan  $p=0.000$  ( $p<0.05$ ) dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan hasil kelompok kualitas pewarnaan preparat sediaan ginjal mencit (*Mus musculus*) antara 2 kelompok perlakuan (3  $\mu\text{m}$  dan 6  $\mu\text{m}$ , 3  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$  dan 9  $\mu\text{m}$ ). Dalam penelitian ini dapat dikatakan bahwa ada perbedaan hasil pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) pada histologi ginjal mencit berdasarkan ketebalan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$ , dan 9  $\mu\text{m}$  dengan ukuran yang terbaik terdapat pada pemotongan 3  $\mu\text{m}$ .

## KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu ketebalan pemotongan mikrotom yang terbaik untuk organ ginjal mencit (*Mus musculus*) adalah pemotongan 3  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata nilai inti sel 2,97 sitoplasma dengan rata-rata nilai 3, keseragaman warna dengan rata-rata nilai 3. Untuk peneliti selanjutnya dapat pemotongan (*sectioning*) menggunakan ketebalan mikrotom 3  $\mu\text{m}$ , 6  $\mu\text{m}$ , dan 9  $\mu\text{m}$  pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan menggunakan jenis organ yang berbeda.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Poltekkes Kemenkes Semarang yang telah memberikan ilmu serta pengarahannya dalam skripsi ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada pihak RS. Paru dr. Ario Wirawan Salatiga dan pihak Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah membantu dalam penelitian skripsi ini. Serta terima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan semangat dan doa sehingga berjalan dengan baik dan lancar.

## REFERENSI

- Alwi, M. A. 2016. *Studi Awal: Fiksasi 2 Minggu Pada Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus Sprague Dawley Dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin*. FKIK UIN Jakarta.
- Annisa, A. S. 2022. *Pengaruh Penggunaan Minyak Zaitun Dengan Pemanasan Sebagai Larutan Penjernih (Clearing) Terhadap Kualitas Sediaan Hepar Mencit (Mus musculus)*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Semarang.
- Ariyadi, T., & Suryono, H. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave Dan Convventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *Jurnal Labora Medika*, 1(1).
- Aulina, N., & Iswara, A. 2019. *Perbandingan Kualitas Sediaan Organ Ginjal Tikus Sprague Dawley Dengan Fiksasi 24 Jam+ 2 Minggu Menggunakan BNF 10% dan Alkohol 70% Pada Pewarnaan HE*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Brilian, T. V. 2021. Mikroskopis Jaringan Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) yang Difiksasi dengan Madu Konsentrasi 10 % Selama 24 Jam. *Jaringan Laboratorium Medis*, 03(02), 127–133.
- Chlipala, E., Bendzinski, C. M., Chu, K., Johnson, J. I., Brous, M., Copeland, K., & Bolon, B. 2020. Optical density-based image analysis method for the evaluation of hematoxylin and eosin staining precision. *Journal of Histotechnology*, 43(1), 29–37. <https://doi.org/10.1080/01478885.2019.1708611>
- Elen, M. R. 2019. *Gambaran Kualitas Mikroskopis Sediaan Hepar Mencit (Mus Musculus) Dengan Pemotongan Ketebalan 2 Mm, 5 Mm dan 8 Mm*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Semarang.
- Halim, R. 2018. *Asam Cuka Sebagai Agen Deparafinisasi Pada Pengecatan Hematoksin Eosin (HE)*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Herawati, A. 2022. *Gambaran Mikroskopis Histologi Ginjal Mencit (Mus musculus) Yang Difiksasi Menggunakan Madu 10%, 20% dan 30%*. Poltekkes Kemenkes Semarang.
- Kartika, A. A., Siregar, H., H. C., & Fuah, A. M. 2013. Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus Norvegicus*) Dan Mencit (*Mus Musculus*) Di Fakultas Peternakan



- Ipb. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 1(3).
- Mohammed, F., Arishiya, T. F., & Mohamed, S. 2012. Microtomes and Microtome Knives – A Review and Proposed Classification. *Annal Dent Univ Malaya*, 19(2).
- Mutoharoh, L., Santoso, S. D., & Mandasari, A. A. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Sebagai Alternatif Pewarna Alami Sediaan Sitologi Pengganti Eosin Pada Pengecatan Diff Quik. *Jurnal SainHealth*, 4(2). <https://doi.org/10.51804/jsh.v4i2.770.21-26>
- Nugroho, R. A. 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press. Samarinda.
- Prahanarendra, G. 2015. *Studi Awal Histoteknik: Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus Sprague dawley dengan Pewarnaan HE dengan Fiksasi 3 Minggu*. UIN Jakarta.
- Pratiwi, E. dan D. A. 2021. *Mikroskopis Preparat Musculus Jaringan Ginjal yang Dideparafinisasi dengan Minyak Zaitun pada Pengecatan Hematoxylin Eosin ( HE ) Microscopic of Mus Musculus Kidney Preparation Deparafinized with Olive Oil in Eosin Hematoxylin ( HE ) Staining* ELA NUR. 03(01), 61–66.
- Rukminingsih, Adnan, G., & Latief, M. A. 2020. Metode Penelitian Pendidikan. Penelitian Kuantitatif, Penelitian Kualitatif, Penelitian Tindakan Kelas. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Shields, V. D. ., & Heinbockel, T. 2019. Introductory Chapter: Histological Microtechniques. In *Histology*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82017>
- Sofyanita, E. N., Iswara, A., & Priyatno, D. 2022. Minyak Zaitun Sebagai Pengganti xylene pada Prosesing Jaringan Histologis Untuk Pewarnaan Kulit dan Hepar Mencit dengan Hematoxylin Eosin: Sebuah Studi Perbandingan. *Jaringan Laboratorium Medis*, 4(2), 117–124. <https://doi.org/10.31983/jlm.v4i2.8688>
- Sumanto, D. 2014. *Belajar Sitohistoteknologi untuk Pemula*.
- Suprianto, A. 2014. *Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital Dengan Metode Konvensional Pada Kualitas Gambaran Histologis Hepar*. Tanjungpura University.
- Tyas, R., Ariyadi, T., & Nuroini, F. 2018. *Gambaran Mikroskopis Kualitas Sediaan Jantung yang Difiksasi dengan Alkohol 70% dan NBF 10% pada Pewarnaan HE*. Universitas Muhammadiyah Semarang.