

Analisis Komparatif Kualitas Pewarnaan Histopatologi dengan Hematoxylin Mayer dan Harris di RSD Nganjuk

Comparative Analysis of Histopathology Staining Quality with Mayer and Harris Hematoxylin at RSD Nganjuk

Vina Fitriana¹, Indra Fauzi Sabban^{2*}, Devi Mardya Filosa³, Rizal Aditya Hermawan⁴, Erawati⁵, Ida Septika W⁶, Mike Endah Rahayu M⁷, Gilang Kusdinar⁸, Ismiy Noer Wahyuni⁹, Ida Rizqa Nuraini¹⁰, Nurul widyawati¹¹

^{1,2,4} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

^{3,5} D3 Teknologi Laboratorium Medis, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

⁹ D4 PTT, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, Indonesia

^{6,7} RSD Nganjuk, Indonesia

⁸ RSUD Simpang Lima Gumul Kediri

^{10,11} Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

* indra.fauzi@iik.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Pewarnaan yaitu pemberian warna pada sel yang akan dipotong hingga membentuk sel pada jaringan, sehingga dapat diamati pada mikroskop. Pewarnaan Hematoxillin-Eosin (HE) memiliki prinsip dimana inti yang bersifat asam akan menarik zat atau larutan Hematoxillin yang bersifat basa dan akan bewarna biru sampai ungu. Sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan menarik zat atau larutan Eosin yang bersifat asam sehingga memberikan warna merah muda. Hematoxillin yang sering digunakan adalah Hematoxillin Mayer dan Hematoxillin Harris. Tujuan: Untuk mengetahui analisa perbandingan hasil pewarnaan HE sediaan histopatologi menggunakan Hematoxillin Mayer dan Hematoxillin Harris di RSD Nganjuk. Metode: Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap, acak kelompok atau faktorial. Populasi yang dilakukan dalam penelitian ini blok parafin jaringan tubuh manusia yang tersimpan di laboratorium Patologi Anatomi RSD Nganjuk. Teknik sampling penelitian yang digunakan adalah Quota Sampling. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sejumlah 16 responden. Hasil: hasil Hematoxillin Mayer dengan jumlah 16 responden didapatkan keterangan Kurang baik sebanyak 3 sampel dan baik sebanyak 13 sampel sedangkan pada Hematoxillin Harris didapatkan keterangan tidak baik sebanyak 4 sampel, kurang baik sebanyak 8 sampel dan baik sebanyak 4 sampel. Berdasarkan uji statistik Independent Sampel T-Test dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan antara pewarnaan Hematoxillin Mayer dengan Hematoxillin Harris di RSD Nganjuk dibuktikan dengan nilai sig. = 0.184 atau nilai sig. (2-tailed) > 0,05 maka H0 diterima dan H1 ditolak. Simpulan dan saran: Kesimpulan dari penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan pada hasil pewarnaan sediaan histopatologi dan pewarnaan Hematoxillin mayer lebih baik dibandingkan dengan Hematoxillin harris di RSD Nganjuk.

Kata kunci: Stain; Pewarnaan; Eosin; patologi anatomi; Mameae

ABSTRACT

Background: Staining is the giving of color to cells that will be cut to form cells in the tissue, so that they can be observed under a microscope. Hematoxylin-Eosin (HE) staining has a principle where the acidic nucleus will attract the basic Hematoxylin substance or solution and will be colored blue to purple. While the basic cytoplasm will attract the acidic Eosin substance or solution so that it gives a pink color. Hematoxylin that is often used is Hematoxylin Mayer and Hematoxylin Harris. Purpose: To determine the comparative analysis of HE staining results of histopathology preparations using Hematoxylin Mayer and Hematoxylin Harris at RSD Nganjuk. Method: The type of research used is experimental research with a completely randomized design, randomized block or factorial. The population used in this study was a paraffin block of human body tissue stored in the Anatomical Pathology laboratory of RSD Nganjuk. The research sampling technique used was Quota Sampling. The sample used in this study was 16 respondents. Results: The results of Hematoxylin Mayer with 16 respondents showed that 3 samples were less than good and 13 samples were good, while Hematoxylin Harris showed that 4 samples were not good, 8 samples were less than good, and 4 samples were good. Based on the Independent Sample T-Test statistical test, it can be concluded that there is no significant difference in the results between Hematoxylin Mayer and Hematoxylin Harris staining at RSD Nganjuk, as evidenced by the sig. = 0.184 or sig. (2-tailed) > 0.05, then H_0 is accepted and H_1 is rejected. Conclusions and suggestions: The conclusion of this study is that there is no difference in the results of histopathology preparation staining and Hematoxylin Mayer staining is better than Hematoxylin Harris at RSD Nganjuk.

Keywords: *Stain; Coloring; Eosin; anatomical pathology; Mamae*

PENDAHULUAN

Teknik pembuatan sediaan histologi (histoteknik) merupakan suatu proses yang diawali dengan pemotongan jaringan hingga pengamatan di bawah mikroskop (Prahanarendra, 2015). Sediaan yang baik adalah suatu sediaan yang dapat menggambarkan kondisi sel atau jaringan layaknya yang masih di dalam tubuh. Proses pembuatan sediaan jaringan diawali dengan proses fiksasi, dehidrasi, penjernihan (clearing), pembedahan (embedding), pengeblokan (blocking), pemotongan (sectioning), hingga proses pewarnaan (Wicaksana & Rachman, 2018).

Pewarnaan yaitu pemberian warna pada sel yang akan dipotong hingga membentuk sel pada jaringan, sehingga dapat diamati pada mikroskop. Pewarnaan Hematoxillin-Eosin (HE) memiliki prinsip dimana inti yang bersifat asam akan menarik zat atau larutan Hematoxillin yang bersifat basa dan akan bewarna biru sampai ungu. Sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan menarik zat atau larutan Eosin yang bersifat asam sehingga memberikan warna merah muda (Fitriani,dkk 2018). Lebih lanjut dijelaskan bahwa Hematoxillin akan memberikan warna biru pada (basofilik) dan pada inti sel akan memberikan warna merah pada (nucleus). Eosin sendiri akan bersifat asam ketika afinitas

terhadap sitoplasma sel. Apabila afinitas eosin bekerja, maka sitoplasma sel dan jaringan penyambungannya akan bewarna merah muda (Mescher, 2016).

Hematoxylin merupakan pewarna dasar yang umum digunakan dalam histopatologi. Dimana merupakan pewarna alami yang diekstrak dari pohon *Haematoxylon campechianum* bewarna biru tua atau ungu. Pewarna ini bermuatan positif, sehingga akan berikatan dengan zat yang bermuatan negatif seperti DNA dan RNA. Hematoxylin sangat memerlukan mordant dalam melakukan pengikatan dengan komponen-komponen jaringan lainnya. Oleh karena itu, pewarnaan ini biasanya digunakan untuk pemeriksaan histologis rutin pada komponen jaringan.

Hematoxylin adalah zat pewarna yang diambil dari ekstrak getah pohon *Haematoxylon campechianum*. Hematoxylin mempunyai afinitas yang cukup kecil terhadap jaringan, sehingga perlu dikombinasikan dengan bahan lain untuk mempercepat proses pewarnaan inti sel jaringan (Nurnajmina, 2020). Hematoxylin teroksidasi menjadi hematin dan berikatan dengan ion logam (mordant). Kompleks hematin-mordant bermuatan positif kemudian berikatan dengan fosfat berikatan negatif dari inti DNA. Hematoxylin digunakan sebagai pewarna dasar dengan warna biru keunguan pada struktur jaringan yang terwarnai. Zat yang mengandung asam nukleat akan terwarnai. Hematoxylin memiliki afinitas terhadap nucleus (Nurahma, 2022).

Hematoxylin yang sering digunakan adalah Hematoxylin Mayer dan Hematoxylin Harris. Kedua Hematoxylin ini mengandung Ammonium atau Potassium alum, Sodium iodate, serta Kristal Hematoxylin, tetapi pada kedua Hematoxylin ini terdapat perbedaan kandungan yaitu Hematoxylin Mayer mengandung citric acid dan Chloral hydrate sebagai pengawet sementara yang memiliki pH 2,4 yang bersifat asam, dan Hematoxylin Harris mengandung merkuri oksida dan Glacial acetic acid dengan pH 2,3 – 2,8 yang bersifat asam (Avwioro, 2011).

Hematoxylin Mayer merupakan pewarna yang lebih kuat dengan waktu pewarnaan 10-15 menit. Hematoxylin Mayer dapat digunakan sebagai pewarna glikogen, amyloid dan mucicarmine, dimana Hematoxylin mayer mengandung natrium iodat yang mengoksidasi Hematoxylin ke haematein dan dapat digunakan segera setelah persiapan. Chloral hydrate di Hematoxylin Mayer bertindak sebagai pengawet sementara serta asam sitrat mempertajam pewarnaan. Sedangkan pada Hematoxylin Harris merupakan pewarna yang kuat dalam kemampuan pewarnaan. Umumnya digunakan dalam sitologi eksfoliatif untuk melihat bentuk sel-sel ganas dan non ganas. Hematoxylin Harris memiliki waktu pewarnaan 15-20 menit dimana mengandung oksida merkuri, yang dapat mengoksidasi Hematoxylin ke hematin (kebiruan) dan pada metode pewarnaannya menggunakan alkohol asam dan blueing (Avwioro, 2011).

Pewarna Hematoxylin Mayer dengan mewarnai inti bewarna ungu sangat jelas tetapi pada Hematoxylin Harris bewarna biru keunguan kurang jelas dikarenakan pada metode pewarnaan Hematoxylin Harris menggunakan alkohol asam yang berfungsi melunturkan Sebagian warna pada jaringan (Jusuf, 2009). Berdasarkan uraian diatas, maka

penulis ingin melakukan penelitian tentang perbandingan hasil pewarnaan HE sediaan histopatologi menggunakan Hematoxillin Mayer dan Hematoxillin Harris di RSD Nganjuk.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah experiment analitik. Populasi pada penelitian ini adalah pasien Ca Prostat di Instalasi Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Daerah Nganjuk pada bulan April – September 2023 sebanyak 62 orang. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 16 sampel. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah quota sampling dimana mempunyai ciri-ciri tertentu sampai jumlah kuota yang diinginkan. (Notoatmodjo, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap 16 responden penderita Ca Prostat di RSD Nganjuk didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Data Hasil Pengamatan

NO	Kode Sampel	Skala Nominal	
		<i>Hematoxillin Mayer</i>	<i>Hematoxillin Harris</i>
1.	A1	3	1
2.	A2	3	2
3.	A3	3	2
4.	A4	3	2
5.	A5	3	2
6.	A6	3	1
7.	A7	3	1
8.	A8	3	2
9.	A9	3	1
10.	A10	3	3
11.	A11	3	3
12.	A12	3	2
13.	A13	2	2
14.	A14	3	3
15.	A15	2	2
16.	A16	2	3

(Sumber : Da(Hasil Penelitian)

Tabel 2. Data Statistika Hasil Pewarnaan *Hematoxillin Mayer*

		Independent Samples Test									
		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means					
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
									Lower	Upper	
Hasil Pewarnaan	Equal variances assumed	1.849	.184	3.896	30	.001	.81250	.20854	.38660	1.23840	
	Equal variances not assumed			3.896	23.364	.001	.81250	.20854	.38147	1.24353	
		Frekuensi				Presentase					
		Tidak Baik	0			0%					
		Kurang Baik	3			19%					
		Baik	13			81%					

Tabel 3. Data Statistika Hasil Pewarnaan *Hematoxillin Harris*

	Frekuensi	Presentase
Tidak Baik	4	25%
Kurang Baik	8	50%
Baik	4	25%

Tabel 4. Uji Independent Sampel T-Test

Data analisis dilakukan dengan menggunakan uji Independent Samples Test didapatkan nilai signifikan (sig) pada hasil pemeriksaan dengan nilai sig. = 0.184 atau nilai sig. (2-tailed) > 0,05 maka H0 diterima dan H1 ditolak. Maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan antara pewarnaan Hematoxillin Mayer dengan Hematoxillin Harris di RSD Nganjuk.

Dalam penelitian yang berjudul “Perbandingan Hasil Pewarnaan Sediaan Histopatologi Menggunakan Hematoxillin Mayer dan Hematoxillin Harris Di RSD Nganjuk” diperoleh sampel sebanyak 16 responden. Pewarnaan yang digunakan pada penelitian ini adalah pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Berdasarkan hasil pembacaan sediaan histopatologi,

didapatkan data statistika hasil pewarnaan Hematoxillin Mayer pada tabel. 2 didapatkan 16 responden dengan frekuensi kurang baik 3 sampel dan baik 13 sampel. Berdasarkan tabel 3 pada data statistika hasil pewarnaan Hematoxillin Harris didapatkan hasil frekuensi tidak baik berjumlah 4 sampel, kurang baik berjumlah 8 sampel dan baik berjumlah 4 sampel.

Hal ini disebabkan karena Hematoxillin Mayer memiliki kelebihan dapat memberikan warna pada inti sel dan jaringan secara baik dan jelas dikarenakan pada pewarnaan ini bersifat progresif. Hematoxillin Mayer adalah hematoxillin tawas, pada pewarna umum yang digunakan sebagai pewarnaan progresif dan regresif. Ini sering digunakan sebagai pewarna nuklir untuk pewarnaan khusus dan imunohistokimia. Untuk aplikasi ini mayer digunakan untuk mewarnai inti dan kemudian membiru tanpa menggunakan pembeda. Mayer's adalah pewarna berbahan dasar air. Progresif dalam pewarnaan ini dapat dikontrol dengan mudah, dengan kemungkinan pewarnaan yang lebih ringan digunakan dimana akan menodai inti sel dan menyebabkan bahan inti menjadi biru ketika dibilas dengan air.

Hematoxillin Harris adalah hematoxillin tawas lain yang umum digunakan sebagai pewarna progresif spesimen sitologi tetapi juga dapat digunakan untuk pewarnaan progresif atau regresif dalam histologi. Pewarnaan tersebut cenderung memberikan detail inti yang jelas. Salah satu tantangan dalam saat menggunakan Harris adalah baik dibedakan dengan asam ringan, dibandingkan dengan pembeda berbasis asam klorida yang lebih umum digunakan. Harris adalah pewarna berbahan dasar alkohol. Regtesif dalam pewarnaan ini dikarenakan bentuk hematoxillin yang lebih kuat menodai semua yang ada pada kaca objek dan melekat erat pada jaringan saat dibilas. Jaringan akan diberi tekanan berlebihan dan kemudian dibedakan dalam larutan asam klorida atau alkohol untuk mencapai hasil yang diinginkan. Adapun kelebihan dari pewarnaan ini yaitu menggunakan alkohol asam sebagai defrensiasi dan bluing. Sedangkan kekurangan pada pewarnaan ini yaitu mengandung merkuri sehingga bersifat karsinogen.

Oleh karena itu antara pewarnaan Hematoxillin Mayer lebih baik dibandingkan pewarnaan Hematoxillin Harris. Selain itu, dalam pengerjaan pewarnaan harris juga memiliki kekurangan terkait dengan SOP pewarnaan harris, dimana pada bagian SOP tersebut tidak memiliki urutan deferensiasi dan bluing. Diferensiasi merupakan proses dekolorisasi zat warna yang berlebih. Adapun tujuan dilakukan diferensiasi untuk mengurangi warna biru pada inti dan menghilangkan warna biru pada sitoplasma sel.

Hasil penelitian pada tabel 1 kemudian di analisis dengan uji independent sampel t-test yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata dua sampel yang tidak berpasangan. Dengan menggunakan Uji Independent t-test didapatkan nilai signifikan (sig) = 0.184 atau nilai sig. (2-tailed) > 0,05 maka H0 diterima dan H1 ditolak. Dari hasil ini dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil pewarnaan HE sediaan histopatologi menggunakan Hematoxillin Mayer dan Hematoxillin Harris. Meskipun kedua perlakuan tersebut menggunakan cara kerja manual yang sama

tetapi memiliki prosedur SOP yang berbeda, dimana pada SOP pewarnaan Hematoxillin Harris tidak melakukan proses deferensiasi dan bluing.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan pada hasil pewarnaan sediaan histopatologi dan pewarnaan Hematoxillin mayer lebih baik dibandingkan dengan Hematoxillin harris di RSD Nganjuk.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini adalah salah satu luaran penelitian kerjasama nasional yang dikerjakan bersama program studi D4 TLM, D3 TLM, D4 PTT Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri dengan pihak eksternal RSD Nganjuk dan RSUD Simpang Lima Gumul Kediri. Peneliti sangat berterimakasih pada semua pihak yang berperan membantu terselesainya kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Avwioro, G. Histochemical uses of Haematoxylin - A review. *Jpcs* 1, 24–34 (2011).
- Fitriani, F., Husmimi, H. & Akmal, M. Aplikasi Metode Emersi Fiksatif Berbeda terhadap Morfologi Histologi Testis dan Epididimis Kambing Lokal(Capra sp.). *J. Agripet* 18, 24–29 (2018).
- Jusuf, A. A. (2009). Histoteknik dasar. Bagian Histology Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Notoatmodjo, Soekidjo. 2018. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nurnajmina, Niva, et al. Pengaruh Variasi Konsentrasi Larutan Pencuci Piring sebagai Agen Deparafinisasi terhadap Kualitas Pewarnaan Hematoxilin Eosin. Diss. Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung, 2020.
- Mutmaina, G. N., & Nurahma, I. A. (2022). Utilization Dishwashing Soap as a Subtitute of Xylol in the Deparaffinization process of Hematoxylin-Eosin Dye: Review Article. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 5(1), 47-55.
- Baudrillard, J. 1970. *La Société de Consommation*. Nottingham Trent University. Nottingham. Terjemahan J.P. Mayer dan B.S. Turner. 1998. *The Consumer Society: Myths and Structures*. Sage Publication Inc. London
- Dewi, A. R. 2003. Pengaruh Konservatisme Laporan Keuangan Terhadap Earnings Response Coeficient. *Prosiding Simposium Nasional Akuntansi VI Surabaya. Universitas Airlangga*: 119-159.
- Kalana, I., S. Ngumar, dan I.B. Riharjo. 2012. Independensi Auditor Berbasis Kultur dan Filsafat Herbert Blumer. *Simposium Nasional Akuntansi XV Banjarmasin*. 20-23 September.
- Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan RI. 2011. *Pendidikan Anti Korupsi untuk Perguruan Tinggi*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Jakarta

- Merna, T. dan F. F. Al-Thani. 2008. *Corporate Risk Management*. 2nd ed. John Welly and Sons Ltd. England.
- Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 20 Tahun 2003 *Sistem Pendidikan Nasional*. 8 Juli 2003. Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 4301. Jakarta
- Riduwan, A. 2010. Etika dan Perilaku Koruptif dalam Praktik Manajemen Laba. *Jurnal Akuntansi & Auditing Indonesia* 14(2).