

Perbandingan Kualitas Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* Jaringan Hepar Tikus Wistar pada Proses Deparafinisasi Menggunakan *Sacha Inchi Oil* (*Plukenetia volubilis*)

Comparative Analysis of Hematoxylin Eosin Staining Quality on Wistar Rat Liver Tissue Using Deparaffinization by Sacha Inchi Oil (*Plukenetia volubilis*)

Ayasha Reina Metalia Nafiah¹, Fitri Nuroini¹

¹ Universitas Muhammadiyah Semarang, Kota Semarang

Corresponding author : fitrinuroini@unimus.ac.id

Abstrak

Pewarnaan histologi umumnya memerlukan tahap deparafinisasi untuk penghilangan parafin menggunakan *xylol* sebagai standar emas. Namun, *xylol* memiliki kekurangan diantaranya bersifat toksik, berbahaya bagi tubuh manusia, dan tidak ramah lingkungan. Diperlukan bahan alternatif pengganti *xylol* yang lebih aman. Senyawa α -pinene, sabinene, limonene, aristolene, cycloartenol, 24-methylene cycloartenol, lanosterol, β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, dan phytol dalam *Sacha Inchi Oil* bersifat non-polar, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif *xylol*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* jaringan hepar tikus wistar menggunakan *Sacha Inchi Oil* dengan dan tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi. Penelitian menggunakan desain eksperimental dengan sampel preparat jaringan hepar tikus wistar. Besar sampel dihitung dengan rumus Federer, didapatkan total sampel 38 preparat yang terbagi dalam 4 kelompok perlakuan yaitu *Sacha Inchi Oil* dengan dan tanpa pemanasan, *xylol* dan pemanasan kering oven 60°C sebagai kontrol pembandingan. Hasil skoring kualitas pewarnaan berdasarkan inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna yang dideparafinisasi dengan *xylol* dan *Sacha Inchi Oil* tanpa pemanasan didapatkan hasil 100% baik, deparafinisasi dengan *Sacha Inchi Oil* dengan pemanasan didapatkan hasil 93.75 % baik. Uji normalitas *Saphiro Wilk* didapatkan data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), data dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney U* diperoleh hasil tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap penggunaan *Sacha Inchi Oil* dengan dan tanpa pemanasan sebagai agen deparafinisasi ($p > 0,05$). Kesimpulan *Sacha Inchi Oil* efektif digunakan sebagai agen deparafinisasi pada pewarnaan *Hematoxylin Eosin*.

Kata Kunci : *Hematoxylin Eosin*, Deparafinisasi, *Xylol*, *Sacha Inchi Oil*

Abstract

Deparaffinization is a crucial step in histological staining, commonly using xylene as the gold standard. However, xylene is toxic, hazardous to health, and environmentally unfriendly, prompting the need for safer alternatives. Sacha Inchi Oil contains non-polar compounds such as α -pinene, limonene, and phytosterols, making it a potential substitute. This study aimed to compare the quality of Hematoxylin-Eosin staining on Wistar rat liver tissue using Sacha Inchi Oil with and without heating as a deparaffinization agent. An experimental design was employed with 38 liver tissue slides, divided into four

groups: Sacha Inchi Oil with heating, without heating, xylene, and dry oven heating (60°C) as controls. Staining quality was evaluated based on nuclear detail, cytoplasmic clarity, and color uniformity. All treatments, including Sacha Inchi Oil and xylene, showed 100% good staining results. Saphiro-Wilk test indicated non-normal distribution ($p < 0.05$), and further analysis using the Mann-Whitney U test showed no significant difference between heated and non-heated Sacha Inchi Oil groups ($p > 0.05$). In conclusion, Sacha Inchi Oil is effective as an alternative deparaffinizing agent in Hematoxylin-Eosin staining, with or without the application of heat.

Keywords : Hematoxylin Eosin, Deparaffinization, Xylene, Sacha Inchi Oil

PENDAHULUAN

Histologi merupakan studi mikroskopis dari jaringan organ melalui proses pembuatan preparat (histoteknik) dianalisis menggunakan mikroskop untuk mengetahui struktur maupun perubahan karakteristik yang terjadi pada jaringan. Histologi dimanfaatkan dalam diagnosis medis, kajian ilmiah, otopsi, dan penyelidikan forensik yang ditafsirkan oleh ahli patologi [1].

Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* sering digunakan dalam prosedur histologi. *Hematoxylin Eosin* terdiri atas dua macam zat warna yaitu *Hematoxylin* berfungsi mewarnai struktur asam dengan warna biru. Struktur yang ditargetkan dinamakan *basophilic* mencakup DNA dalam inti sel, RNA dalam ribosom, dan RE kasar. *Eosin* berfungsi mewarnai struktur basa *eosinophilic*, contohnya sitoplasma yang akan terwarnai rona merah [1]. Tahap yang harus dilakukan sebelum pewarnaan yaitu melakukan proses deparafinisasi.

Deparafinisasi adalah proses penghilangan parafin dari preparat agar jaringan mampu menyerap pewarna dengan optimal. Parafin, yang termasuk senyawa lemak, terdiri dari campuran hidrokarbon bersifat hidrofobik atau sukar larut dalam air, sehingga diperlukan pelarut non-polar. Salah satu pelarut non-polar yang efektif untuk melarutkan parafin adalah *xylene* atau *xylol* [2].

Xylol merupakan senyawa hidrokarbon aromatik yang sering digunakan sebagai pelarut dalam berbagai aplikasi industri dan laboratorium, tersusun atas 90,5% atom *carbon* (C) dan 9,5% *hydrogen* (H). Namun, penggunaan *xylol* jangka panjang berpotensi membahayakan kesehatan tubuh manusia juga lingkungan, karena toksisitas *xylol* cukup tinggi dan bersifat karsinogenik. Paparan singkat dengan konsentrasi 200 ppm selama 3-5 menit dapat menimbulkan iritasi pada mata, hidung, dan tenggorokan. Sementara itu, paparan inhalasi pada kadar 10.000 ppm berdampak pada fungsi ginjal, yang ditunjukkan oleh peningkatan kadar β -glukuronidase dan albumin, serta peningkatan ekskresi eritrosit dan leukosit dalam urin. Paparan kadar konsentrasi lebih tinggi menyebabkan gangguan sistem syaraf pusat [3]. Upaya yang dapat dilakukan untuk meminimalisir dampak yakni menggunakan larutan alternatif sebagai agen deparafinisasi.

Topik penelitian terdahulu, telah banyak pengembangan berbagai minyak nabati sebagai bahan alternatif agen deparafinisasi, seperti menggunakan minyak kelapa mandar dan tanpa pemanasan sebagai bahan alami alternatif pengganti *xylol* diperoleh skor 3 (baik) dengan persentase 100% [4]. Lalu terdapat penelitian yang menggunakan minyak kelapa murni melaporkan bahwa penggunaan minyak kelapa murni dengan pemanasan 50°C selama 10 menit menghasilkan preparat yang baik [5]. Kemudian terdapat penelitian yang menggunakan *Ylang Ylang Oil* sebagai agen deparafinisasi diperoleh hasil 100% kualitas baik dengan perlakuan pemanasan dan perlakuan tanpa pemanasan 88,9% kualitas baik [6]. Salah satu faktor perbandingan kualitas tersebut, dapat dipengaruhi oleh perbedaan kadar viskositas atau kekentalan pelarut. Suhu berkaitan erat dengan viskositas, meningkatnya suhu sebanding dengan mempercepat laju difusi molekul, serta mengurangi kadar viskositas [7].

Sacha Inchi Oil (Plukenetia volubilis) merupakan minyak nabati yang mengandung beberapa senyawa *monoterpen* dan hidrokarbon meliputi *α -pinene*, *sabinene*, *limonene*, *aristolene*, *cycloartenol*, *24-methylene cycloartenol*, *lanosterol*, *β -sitosterol*, *stigmasterol*, *campersterol*, dan *phyto* [8]. Berdasarkan kandungan senyawa tersebut, *Sacha Inchi Oil* tersusun oleh kelompok besar *terpenoid* yang dapat digunakan sebagai larutan alternatif pengganti *xylol*. Kelebihan *Sacha Inchi Oil* yaitu terbuat dari bahan alami yang tidak bersifat karsinogenik, larutan bersifat asam dengan rentang pH 5-6 sehingga memiliki potensi untuk memperjelas inti sel pada pewarnaan jaringan, serta mengandung senyawa hidrokarbon yang memiliki kesamaan fungsi dengan kandungan pada *xylol*.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti terdorong untuk melaksanakan studi yang berfokus pada topik mengenai perbandingan kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* jaringan hepar tikus wistar pada proses deparafinisasi dengan dan tanpa pemanasan menggunakan *Sacha Inchi Oil (Plukenetia volubilis)*.

METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi kit alat bedah, toples kaca dengan penutup, pinset, kassa, jarum, *styrofoam*/alas bedah, *cassette histology*, *base mold*, *embedding station*, *microtome*, *waterbath*, *oven*, *chamber* pewarnaan, *staining jar rack*, *timer*, *thermocouple*, *object glass*, *deck glass*, dan mikroskop. Material yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beberapa komponen berikut misalnya jaringan hepar tikus putih wistar, *chloroform*, NaCl, NBF (*Neutral Buffer Formalin*) 10%, alkohol, *xylol*, parafin, *hematoxylin*, *bluing*, *eosin*, *aquadest*, *entellan*, dan *Sacha Inchi Oil (Plukenetia volubilis)*.

Penelitian yang digunakan bersifat eksperimental, dilakukan pada bulan Juni 2025 di Laboratorium Penelitian Hewan Coba Universitas Muhammadiyah Semarang dan Laboratorium Kesehatan Hewan Kota Semarang. Populasi penelitian yakni preparat jaringan hepar tikus wistar. Sampel yang digunakan adalah jaringan hepar tikus wistar. Organ hati dipilih karena memiliki tekstur yang sesuai–tidak terlalu keras

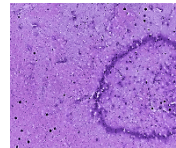
maupun terlalu lunak—serta merupakan kelenjar terbesar dengan struktur histologi yang kompleks. Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer $(n - 1)(t - 1) \geq 16$. Sampel kemudian dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, terdiri dari dua kelompok kontrol pembanding dan dua kelompok variabel bebas. Rincian pembagian kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

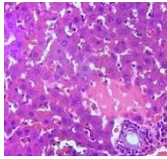
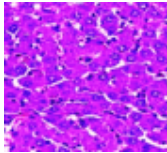
Tabel 1. Pembagian kelompok eksperimen

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Sampel
Kontrol (xylol)	Dicelupkan pada xylol I, II, III masing-masing selama 10 menit.	3
Kontrol (pemanasan kering oven 60°C)	Dipanaskan tanpa pelarut pada oven 60°C selama 30 menit. Posisi <i>Staining Jar Rack</i> sediaan dimiringkan $\pm 45^\circ$.	3
A (Sacha Inchi Oil dengan pemanasan)	Dicelupkan pada <i>Sacha Inchi Oil</i> yang dipanaskan pada <i>waterbath</i> suhu 60°C, <i>chamber</i> I, II, III masing-masing selama 10 menit. Stabilitas suhu minyak dalam <i>chamber</i> , diukur menggunakan <i>thermocouple</i> .	16
B (Sacha Inchi Oil tanpa pemanasan)	Dicelupkan pada <i>Sacha Inchi Oil</i> I, II, III masing-masing selama 10 menit.	16
Total Sampel		38

Setiap sampel kemudian diwarnai menggunakan metode *Hematoksin-Eosin* untuk menilai kualitas pewarnaannya berdasarkan sistem skoring yang tercantum pada Tabel 2. Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*), dimulai dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Karena data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), analisis dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok.

Tabel 2. Kriteria Penilaian Mikroskopis Kualitas
Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* oleh observer

No	Deskripsi	Kualitas		Gambar
		Skala Ordinal	Skor	
1	Warna biru pada inti sel kurang tegas, merah pada sitoplasma tampak redup, dan keseluruhan preparat menunjukkan pewarnaan yang tidak merata.	Tidak baik	1	

2	Inti sel tampak berwarna biru dengan ketajaman rendah, sitoplasma menunjukkan warna merah yang kurang jelas, dan pewarnaan preparat secara keseluruhan tidak merata.	Kurang baik	2	
3	Inti sel terlihat biru dengan jelas, sitoplasma berwarna merah terang, dan pewarnaan preparat menunjukkan keseragaman yang baik.	Baik	3	

Tabel 3. Range Interpretasi Skoring Total

Rata-rata/ Skor Akhir	Interpretasi Kualitas	Keterangan
1.0 - 1.9	Tidak Baik	Warna redup/tidak jelas, detail inti/sitoplasma tidak tampak, artefak dominan.
2.0 - 2.5	Kurang Baik	Kontras warna kurang jelas, detail struktur sel tampak sebagian, tampak sedikit artefak.
2.6 - 3.0	Baik	Warna jelas, kontras seragam, struktur sel tampak jelas dan detail utuh, tidak terdapat artefak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Analisis terhadap hasil penelitian ini dilakukan secara menyeluruh di Laboratorium Sitohistoteknologi Universitas Muhammadiyah Semarang, dengan penerapan metode skoring untuk menilai secara sistematis kualitas pewarnaan preparat jaringan yang menggunakan minyak Sacha Inchi sebagai agen deparafinisasi, baik yang diberi perlakuan pemanasan maupun yang tidak. Untuk memastikan validitas dan konsistensi hasil, kualitas pewarnaan tersebut dibandingkan dengan kelompok kontrol yang menggunakan Xylol serta perlakuan pemanasan kering pada oven bersuhu 60°C. Hasil evaluasi kualitatif dari seluruh preparat kemudian dirinci dan disajikan secara lengkap dalam tabel berikut:

Tabel 4. Persentase Kualitas Pewarnaan pada Kategori Inti Sel & Sitoplasma

Kelompok Perlakuan Variabel Bebas	Skoring Kualitas Pewarnaan Inti Sel & Sitoplasma					
	Tidak Baik (1.0 - 1.9)		Kurang Baik (2.0 - 2.5)		Baik (2.6 - 3.0)	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Kontrol Xylol	0	0 %	0	0 %	3	100 %
Kontrol Pemanasan kering oven 60°C	3	100%	0	0 %	0	0 %
Sacha Inchi Oil dengan pemanasan 60°C	0	0 %	0	0 %	16	100 %
Sacha Inchi Oil tanpa pemanasan	0	0 %	0	0 %	16	100 %

Tabel 5. Persentase Kualitas Pewarnaan pada Kategori Keseragaman Warna

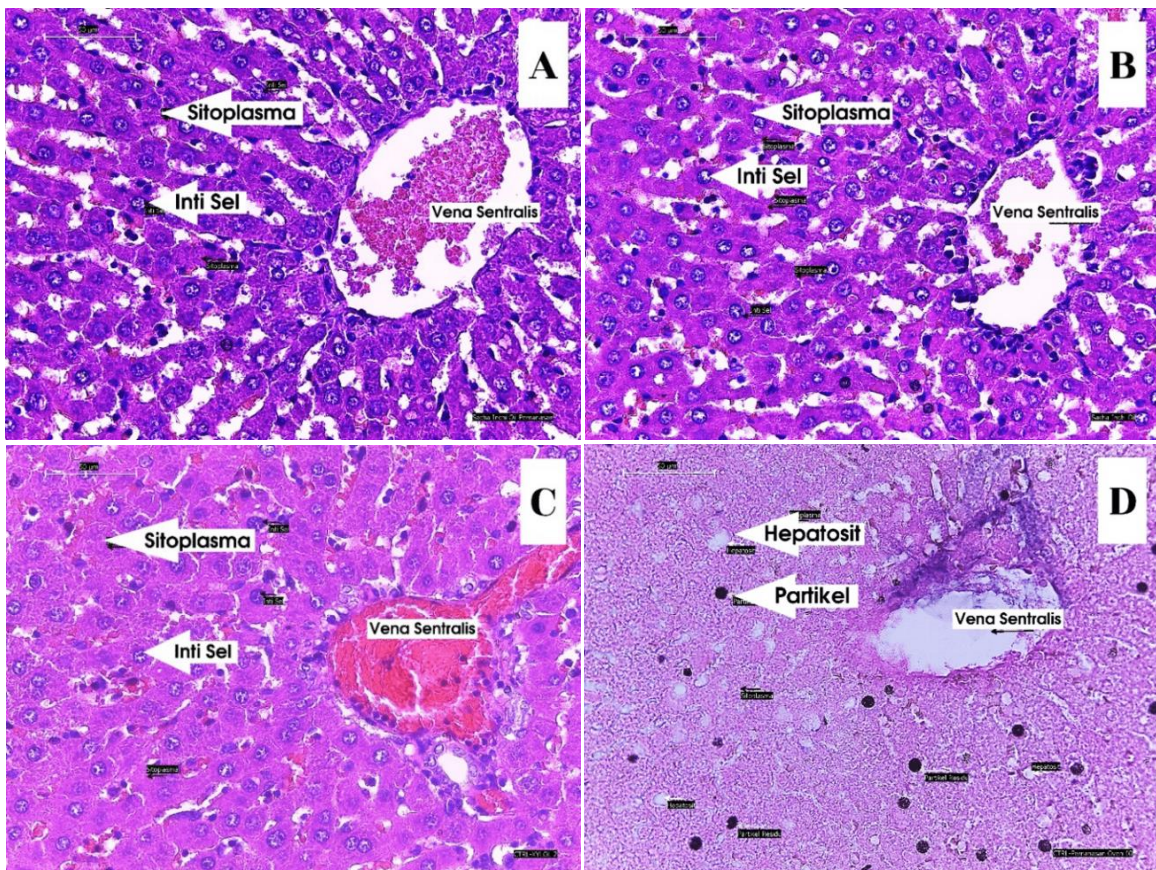
Kelompok Perlakuan Variabel Bebas	Skoring Kualitas Keseragaman Warna					
	Tidak Baik (1.0 - 1.9)		Kurang Baik (2.0 - 2.5)		Baik (2.6 - 3.0)	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Kontrol Xylol	0	0 %	0	0 %	3	100 %
Kontrol Pemanasan kering oven 60°C	3	100%	0	0 %	0	0 %
Sacha Inchi Oil dengan pemanasan 60°C	0	0 %	3	18.75 %	13	81.25 %
Sacha Inchi Oil tanpa pemanasan	0	0 %	0	0 %	16	100 %

Tabel 6. Kesimpulan Total Persentase Kualitas Pewarnaan dari Ketiga Kategori

Kelompok Perlakuan Variabel Bebas	Skoring Kualitas Keseluruhan						Total Persentase (a) + (b) + (c) ----- 3
	Inti Sel (a)		Sitoplasma (b)		Keseragaman Warna (c)		
	Kualitas	(%)	Kualitas	(%)	Kualitas	(%)	
Kontrol Xylol	Baik	100 %	Baik	100 %	Baik	100 %	100 % Baik
Kontrol Pemanasan kering oven 60°C	Tidak Baik	100%	Tidak Baik	100 %	Tidak Baik	100 %	100 % Tidak Baik
Sacha Inchi Oil dengan pemanasan 60°C	Baik	100 %	Baik	100 %	Baik	81.25 %	93.75 % Baik 6.25 % Kurang Baik
					Kurang Baik	18.75 %	

Sacha Inchi Oil tanpa pemanasan	Baik	100 %	Baik	100 %	Baik	100 %	100% Baik
--	------	-------	------	-------	------	-------	----------------------

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 6, dapat dilihat bahwa kualitas pewarnaan preparat secara keseluruhan yang dideparafinisasi menggunakan Xylol maupun Sacha Inchi Oil tanpa pemanasan menunjukkan skor baik pada seluruh preparat, mencapai persentase 100%. Sementara itu, preparat yang dideparafinisasi dengan Sacha Inchi Oil dan diberi pemanasan pada suhu 60°C sebagian besar memperoleh skor baik, yaitu sebesar 93,75%, sedangkan terdapat 3 preparat atau sekitar 6,25% yang masuk dalam kategori kurang baik, khususnya pada aspek keseragaman pewarnaan. Untuk memastikan validitas dan konsistensi hasil, perlakuan tersebut kemudian diverifikasi menggunakan kelompok kontrol berupa pemanasan kering pada oven bersuhu 60°C, yang seluruhnya mendapatkan nilai 100% pada kategori tidak baik, sehingga menunjukkan perbedaan yang jelas dibandingkan perlakuan dengan agen deparafinisasi.



Gambar 1. Kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin sediaan hepar tikus wistar
Keterangan: (A) Sacha Inchi Oil dengan pemanasan 60°C skor 3, (B) Sacha Inchi Oil tanpa pemanasan skor 3, (C) Kontrol Xylol skor 3, (D) Kontrol pemanasan kering oven 60°C skor 1.

Berdasarkan pengamatan yang disajikan pada Gambar 1, kualitas pewarnaan preparat jaringan menggunakan metode Hematoksilin-Eosin menunjukkan hasil yang baik pada sampel yang dideparafinisasi dengan minyak *Sacha Inchi*, baik yang diberi perlakuan pemanasan pada suhu 60 °C maupun yang tidak dipanaskan, sehingga kualitasnya setara dengan kelompok kontrol yang menggunakan Xylol sebagai agen deparafinisasi. Hal ini ditunjukkan dengan inti sel yang berwarna biru dengan jelas, sitoplasma yang terwarnai merah secara terang, serta distribusi warna yang seragam pada seluruh lapangan pandang preparat. Sebaliknya, pada kelompok kontrol yang diperlakukan dengan pemanasan kering menggunakan oven bersuhu 60 °C, diperoleh skor 1 yang masuk dalam kategori tidak baik. Kondisi ini terlihat dari ketidakmampuan membedakan antara inti sel dan sitoplasma, pewarnaan yang tidak merata, lapangan pandang yang tampak buram akibat adanya residu parafin, serta munculnya partikel hitam yang menandakan terjadinya karbonisasi pada jaringan.

Pembahasan

Minyak *Sacha Inchi* terbukti efektif sebagai pelarut alternatif pengganti *Xylol* dalam proses deparafinisasi preparat jaringan. Temuan ini diperkuat oleh hasil analisis statistik menggunakan uji *Mann-Whitney U*, yang membandingkan kelompok perlakuan preparat yang dideparafinisasi dengan *Sacha Inchi Oil* baik dengan pemanasan maupun tanpa pemanasan. Hasil uji menunjukkan nilai Asymp. Sig (2-tailed) sebesar 0,074, yang mengindikasikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara kedua kelompok perlakuan tersebut. Dengan kata lain, pemanasan pada minyak *Sacha Inchi* tidak memberikan pengaruh tambahan terhadap kualitas pewarnaan preparat, sehingga penggunaan minyak ini sebagai agen deparafinisasi dapat dianggap sama efektifnya baik dengan maupun tanpa pemanasan.

Kandungan senyawa non-polar dalam minyak, terutama asam lemak tak jenuh seperti omega-3, omega-6, dan omega-9, berperan penting sebagai biosolven yang efektif dalam melarutkan parafin pada preparat jaringan. Selain itu, senyawa ini juga berkontribusi dalam meningkatkan permeabilitas jaringan terhadap zat pewarna, sehingga pewarnaan dapat berlangsung secara merata dan optimal. Di sisi lain, kandungan antioksidan yang terdapat dalam minyak, seperti *tokopherol*, *flavonoid*, dan *triterpenoid*, berfungsi melindungi struktur jaringan dari degradasi yang dapat disebabkan oleh radikal bebas selama proses pemanasan. Perlindungan ini membantu mempertahankan integritas morfologi jaringan, sekaligus memastikan bahwa detail histologis tetap jelas dan dapat diamati secara akurat selama evaluasi mikroskopis [9]. Pemanasan minyak hingga mencapai suhu sekitar 50–60 °C memiliki peran yang signifikan dalam menurunkan viskositas minyak, sehingga molekul-molekul minyak menjadi lebih mudah bergerak dan proses pelarutan parafin dari jaringan dapat berlangsung lebih cepat dan efisien. Dalam konteks ini, penggunaan *Sacha Inchi Oil* dengan pH yang optimal pada rentang 5–6 juga memiliki kontribusi

penting terhadap efektivitas deparafinisasi. pH yang sedikit asam tersebut menyebabkan gugus protein dalam jaringan, seperti residu lysine dan arginine, mengalami protonasi, sehingga meningkatkan kemampuan ikatan dengan eosin yang bersifat anionik. Dengan demikian, pengendalian pH yang tepat tidak hanya memfasilitasi interaksi antara pewarna dan jaringan, tetapi juga menghasilkan pewarnaan yang seimbang, tajam, dan mempertahankan detail struktural jaringan dengan jelas, sehingga kualitas preparat untuk pengamatan mikroskopis menjadi lebih optimal [10].

Pada kelompok *Sacha Inchi Oil* dengan pemanasan 60°C, ditemukan 3 preparat (dari total 16 sampel) yang dinilai kurang baik dalam kategori keseragaman warna. Dalam penelitian ini faktor yang memengaruhi adalah timbulnya gelembung kecil dan kontras warna yang kurang seragam di beberapa lapang pandang. Minyak Sacha Inchi memiliki kandungan tinggi asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) sangat rentan mengalami perubahan fisikokimia saat pemanasan, membentuk struktur yang menyerap dan membiaskan cahaya secara tidak merata, menimbulkan artefak visual seperti bayangan kabut di bawah mikroskop [11]. Interaksi antara lipid dan pelarut selama proses histologi dapat menyebabkan pembentukan struktur mikroskopik berbentuk bulat jernih, mirip vakuola atau gelembung, akibat inkompatibilitas distribusi antar fase cair dan pelarut [12].

Kelompok kontrol pemanasan kering oven 60°C, diperoleh skor 1 dengan kategori tidak baik. Metode pemanasan tanpa pelarut non-polar gagal menghilangkan parafin secara efektif, parafin tidak terdifusi keluar dari jaringan karena tidak terbentuk gradien larutan yang memfasilitasi ekstraksi [13]. Dalam penelitian ini, kegagalan metode deparafinisasi kering juga dipengaruhi jenis parafin yang digunakan termasuk *grade* rendah, ditandai dengan warna *wax* putih buram, tidak bening, serta tekstur mikrokristalin tidak homogen. Parafin berkualitas rendah memiliki kandungan pengotor seperti resin atau *wax* sintetis yang lebih tinggi, serta titik leleh yang tidak konsisten [14]. Karakteristik ini menyebabkan parafin sulit larut dan meninggalkan residu mikroskopik yang menyumbat struktur jaringan dan menurunkan kemampuan absorpsi zat warna. Artefak disebabkan oleh karbonisasi lokal akibat panas kering yang tidak tersebar merata atau pengendapan pewarna cat pada residu parafin menghasilkan deposit berwarna gelap [15]. Faktor-faktor ini secara sinergis berkontribusi pada penurunan kualitas preparat histologi, ditandai dengan kontras warna yang buruk, pengendapan pewarna, serta artefak visual berupa partikel hitam pada preparat.

Dari keseluruhan hasil secara kualitatif dan statistik, hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* preparat jaringan hepar tikus wistar pada proses deparafinisasi menggunakan *Sacha Inchi Oil* dengan pemanasan 60°C (93,75% skor baik) ataupun deparafinisasi menggunakan *Sacha Inchi Oil* tanpa pemanasan (100% skor baik). Hal ini menunjukkan bahwa *Sacha Inchi Oil* secara efektif mampu menggantikan fungsi *xylol* sebagai bahan alternatif agen deparafinisasi.

Hasil ini sejalan dengan penelitian yang menyebutkan bahwa *xylol* dapat digantikan dengan *Ylang Ylang Oil (Cananga Odorata)* sebagai agen deparafinisasi [6]. Hasil evaluasi pewarnaan preparat hati marmut menunjukkan bahwa deparafinisasi menggunakan Xylol maupun Ylang Ylang Oil dengan pemanasan menghasilkan kualitas 100% baik. Sementara itu, deparafinisasi dengan Ylang Ylang Oil tanpa pemanasan menghasilkan 11,1% preparat dengan kualitas kurang baik dan 88,9% preparat dengan kualitas baik. Minyak Ylang Ylang mengandung senyawa β -caryophyllene yang bersifat non-polar, sehingga mampu melarutkan lemak dalam jaringan dan membuka pori-pori jaringan secara efektif sehingga dapat menghilangkan sisa paraffin pada jaringan agar memudahkan pada proses pewarnaan.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang melaporkan hasil kualitas sediaan jaringan hati marmut yang dideparafinisasi dengan *xylol* [16], minyak kelapa mandar dengan pemanasan, dan minyak biji pala tanpa pemanasan diperoleh skor 3 (baik) dengan persentase 100% baik [3]. Hal ini disebabkan karena minyak biji pala yang bersifat non-polar yang mudah larut dalam parafin sehingga dapat melarutkan parafin dari jaringan. Kesimpulan didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan kualitas hasil pewarnaan berdasarkan uji statistik. Maka, minyak biji pala efektif dimanfaatkan sebagai alternatif larutan deparafinisasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* yang dilakukan deparafinisasi menggunakan *Sacha Inchi Oil (Plukenetia volubilis)* dengan pemanasan diperoleh skor 3 (baik) persentase 93.75 %, dan *Sacha Inchi Oil (Plukenetia volubilis)* tanpa pemanasan diperoleh skor 3 (baik) persentase 100 %. Tidak terdapat perbandingan signifikan antara kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* yang dilakukan deparafinisasi menggunakan *Sacha Inchi Oil (Plukenetia volubilis)* dengan ataupun tanpa pemanasan. *Sacha Inchi Oil* efektif digunakan sebagai alternatif agen deparafinisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] H. Alturkistani, T. F, dan M. Z, "Histological Stains: A Literature Review and Case Study," *Glob. Jurnal Health Sci*, vol. 8, no. 3, hal. 72-79, Juni 2015. Tersedia : <https://doi.org/10.5539/gjhs.v8n3p72>.
- [2] N. Pratiwi dan D. Armalina, "Mikroskopis Preparat Mus Musculus Jaringan Ginjal yang Dideparafinisasi dengan Minyak Zaitun pada Pengecatan Hematoxylin Eosin (HE)," *Jurnal Lab Medis*, vol. 3, no. 1, hal. 61-66, Mei 2021. Tersedia: <https://doi.org/10.31983/jlm.v3i1.8005>.
- [3] R. A. Sulisyanto, Hubungan Paparan Xylene dengan Profil Darah (Eritrosit, Trombosit, Leukosit, Ldl, Total Kolesterol) dan Keluhan Neurotoksik pada Pekerja Percetakan di Kota Surabaya. Surabaya: Universitas Airlangga, 2020.

- [4] G. S. A. Putri dan N. F. Zalzabillah, "Penggunaan Minyak Kelapa Mandar sebagai Agen Alternatif Deparafinisasi pada Pewarnaan Rutin Hematoksilin-Eosin," *Jurnal Lab Medis*, vol. 7, no. 1, hal. 44-51, Mei 2025. Tersedia: <https://doi.org/10.31983/jlm.v7i1.12688>
- [5] F. Badjuri, D. Adang, W. Wiwin, R. Ani, dan M. Dani, "Pengaruh Variasi Suhu Dan Waktu Virgin Coconut Oil Pada Proses Deparafinisasi Pewarnaan Hematoxylin Eosin Terhadap Kualitas Preparat," *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, vol. 4, no. 1, hal. 172-181, Agustus 2023. Tersedia: <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1473>
- [6] A. Y. Putri, D. Diyanah, dan A. Iswara, "The Effectiveness of Ylang-Ylang Oil (Canaga Odorata) as a Deparaffinizing Agent in Hematoxylin-Eosin Staining," *Jurnal Lab Medis*, vol. 6, no. 1, hal. 1-8, Mei 2024. Tersedia: <https://doi.org/10.31983/jlm.v6i1.10824>
- [7] P. Lumbantoruan dan E. Yulianti, "Pengaruh Suhu Terhadap Viskositas Minyak Pemanas (Oli)," *jurnal.univpgri-palembang.ac.id*, vol. 13, no. 2, hal. 26-34, September 2016. Tersedia: <https://doi.org/10.31851/sainmatika.v13i2.993>
- [8] A. Valencia, F. Romero-Oregon, A. Viñas-Ospino, D. Barriga-Rodriguez, A. Muñoz, dan F. Ramos-Escudero, "Sacha Inchi Seed (*Plukenetia volubilis* L.) Oil: Terpenoids," dalam *Terpenes and Terpenoids - Recent Advances*, S. Perveen, Ed., London: IntechOpen, 2021, hlm. 1-22
- [9] I. Maya, Y. Rika, Y. Purwanti, F. C. Saputri, N. Sugihartini, dan S. N. Wardhani, "Physicochemical characteristics, fatty acid profile, and in vitro antioxidant activity evaluation of Sacha Inchi seed oil from Indonesia," *Jurnal Cosmetics*, vol. 10, no. 6, hal. 171, Desember 2023. Tersedia: <https://doi.org/10.3390/cosmetics10060171>
- [10] H. Mohd Radzuan, W. F. N. Wan Omar, dan M. D. Halim, "Effect of pH on H&E staining in small and large intestines of rats," *International Journal Allied Heal Sci*, vol. 5, no. 1, hal. 2140, Juni 2021. Tersedia: <https://doi.org/10.31436/ijahs.v5i1.577>
- [11] W. H. Ramos-Vera, J. L. Rentería-Castro, dan S. Carrillo-Domínguez, "Physicochemical changes of vegetable oils under heat treatment and oxidative stress," *Jurnal Food Chem*, vol. 286, hal. 324-331, Juli 2019. Tersedia: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.173>
- [12] T. A. Niewold, V. M. Horneffer-van der Sluis, dan E. J. A. Veldhuizen, "Lipid artifacts in histology: Effects of sample handling and fixatives on visualization," *Histochem. Jurnal Cell Biol.*, vol. 156, no. 5, hal. 389-399, 2021. Tersedia: <https://doi.org/10.1007/s00418-021-02007-2>
- [13] E. Ó. Faoláin *et al.*, "Raman spectroscopic evaluation of efficacy of current paraffin wax section dewaxing agents," *Jurnal Histochem Cytochem*, vol. 53, no. 1, hal. 121-129, Februari 2005. Tersedia: <https://doi.org/10.1177/002215540505300114>
- [14] T. Liu, H. Zhang, X. Li, dan Y. Yang, "Evaluation of paraffin embedding quality in histopathology: Impact of paraffin type and tissue dehydration," *International Journal Clin Exp. Pathol.*, vol. 10, no. 8, hal. 8800-8807, Agustus 2017. Tersedia: <https://doi.org/10.18433/j3zj5b>

-
- [15] M. R. Ankle, "Histopathological artifacts: Origin, identification and implications," *Jurnal Oral Maxillofac Pathol*, vol. 17, no. 2, hal. 234-240, Juli 2013. Tersedia: <https://doi.org/10.4103/0973-029X.119765>.
- [16] Y. Erwin, T. Ariyadi, dan F. Nuroini, "Perbedaan Kualitas Preparat Hati Marmut pada Proses Deparafinisasi Menggunakan Xilol dan Minyak Zaitun pada Pewarnaan He," dalam *Prosiding 2019 Konferensi Mahasiswa Seminar Nasional Unimus, Semarang, Indonesia, 2019*, hlm. 185-189. doi: <https://doi.org/10.4103/0973-029X.119765>