

# PERBANDINGAN PEWARNAAN HEMATOXYLIN-EOSIN YANG MENGGUNAKAN NATRIUM BIKARBONAT 0,5% DAN LITHIUM CARBONAT 0,5% PADA PROSES BLUEING

Chairul Yasir Nugraha<sup>1</sup>, Dani Mahmud<sup>1,2</sup>

1. Sekolah Analisis Bakti Asih, Jl. Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia
2. Poltekkes Jl. Babakan Loa No. 10a, Pasirkaliki, Kec. Cimahi Utara, Kota Cimahi, Jawa Barat 40514

E-mail : Chaiyasir103@gmail.com

## Abstrak

Pewarnaan Hematoxylin Eosin pada proses Blueing menggunakan Lithium Carbonate 0,5% sebagai kontrol dan proses Blueing menggunakan Natrium bikarbonat 0,5% dengan melakukan percobaan pada organ hati tikus putih. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin yang menggunakan Natrium Bikarbonat 0,5% dan Lithium Carbonate 0,5% pada proses Blueing. Jenis penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Hasil penelitian ini disajikan dalam bentuk uji non parametrik. Untuk melihat ada tidaknya perbedaan maka dilakukan pengujian menggunakan uji Mann-Whitney. Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney mengenai perbedaan hasil pewarnaan Hematoxylin Eosin pada proses Blueing antara Lithium Carbonate 0,5% dan Natrium Bikarbonat 0,5% didapat nilai asymp Sig. (2-tailed) 0,067 maka H<sub>0</sub> diterima dan H<sub>1</sub> ditolak yang artinya tidak ada perbedaan secara signifikan antara pewarnaan Haematoxyln Eosin pada proses Blueing menggunakan Lithium Carbonate 0,5% dan menggunakan Natrium Bikarbonat 0,5% maka penggunaan Natrium Bikarbonat 0,5% sebagai alternatif agen Blueing dapat dipertimbangkan penggunaannya karena memberikan kualitas hasil yang sama baiknya dengan Litihum Carbonate 0,5%. Untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan pengukuran pH sejauh mana pengaruh pH terhadap hasil sediaan.

**Kata kunci:** Pewarnaan Haematoxylin Eosin, Natrium Bikarbonat 0,5%, Lithium Carbonate 0,5%

## Abstract

Hematoxylin Eosin staining in the Blueing process uses 0.5% Lithium Carbonate as a control and the Blueing process uses 0.5% Sodium Bicarbonate by conducting experiments on the liver of white mice. The aim of this research is to determine the quality of Hematoxylin Eosin staining using 0.5% Sodium Bicarbonate and 0.5% Lithium Carbonate in the Blueing process. This type of research uses experimental methods. The results of this research are presented in the form of non-parametric tests. To see whether there is a difference, testing is carried out using the Mann-Whitney test. Based on the results of the Mann-Whitney test regarding the difference in Hematoxylin Eosin staining results in the Blueing process between Lithium Carbonate 0.5% and Sodium Bicarbonate 0.5%, the Sig asymp value was obtained. (2-tailed) 0.067, then H<sub>0</sub> is accepted and H<sub>1</sub> is rejected, which means there is no significant difference between Haematoxyln Eosin staining in the Blueing process using 0.5% Lithium Carbonate and using 0.5% Sodium Bicarbonate, so 0.5% Sodium Bicarbonate is used as Alternative Blueing agents can be considered because they provide the same quality results as Lithihum Carbonate 0.5%. It is recommended for future researchers to carry out pH measurements to what extent pH influences the results of the preparation.

**Keywords:** Haematoxylin Eosin Staining, Sodium Bicarbonate 0.5%, Lithium Carbonate 0.5%

## 1. Pendahuluan

Histoteknologi adalah serangkaian proses pembuatan sediaan histologi dari spesimen berupa jaringan hewan atau manusia melalui rangkaian proses tahapan tertentu sehingga sediaan dapat diamati dan dianalisis menggunakan mikroskop (Mayangsari dkk, 2019). Tujuan dari Histoteknik adalah untuk mengidentifikasi jaringan yang diinginkan, mulai dari struktur dan bentuk jaringan atau sel, adanya perubahan atau tidak pada jaringan atau sel tersebut, dan untuk mendiagnosis suatu penyakit tertentu (Nazhiifah and Sofyanita 2023).

Hingga saat ini pemeriksaan histologi masih menjadi standar emas yang digunakan dalam patologi diagnostik. Jaringan yang dapat digunakan untuk pemeriksaan histologi yaitu jaringan keras seperti tulang dan gigi, serta jaringan lunak seperti hati, ginjal, dan lain sebagainya. Jaringan yang akan diperiksa tentu harus melalui berbagai proses, mulai dari fiksasi jaringan, dehidrasi, clearing (clearing), infiltrasi, embedding, trimming, dan pewarnaan (Lamsudiansyah et al. 2023). Langkah yang menentukan keberhasilan proses pembentukan jaringan ini adalah dengan mengamati secara jelas bagian-bagian jaringan seperti sitoplasma dan inti sel yang diwarnai di bawah mikroskop. Langkah ini disebut tahapan pewarnaan. Pewarnaan digunakan untuk menyorot bagian-bagian penting dari jaringan dan meningkatkan kontras jaringan. Untuk diagnosis medis tumor adalah prosedur medis yang umum. Pewarnaan ini dapat menentukan batas posterior dan anterior jaringan sampel untuk menemukan sel yang sakit atau tumor atau sel patologis lainnya (Apriani dkk, 2023).

Pewarna Hematoxylin dan Eosin (HE) adalah yang paling banyak digunakan histologis. Keunggulannya adalah berdasarkan kesederhanaan dan kemampuan komparatifnya menunjukkan dengan jelas sejumlah besar berbeda struktur jaringan. Blueing adalah salah satu proses dalam prosedur pengecatan HE, bertujuan untuk mengubah warna merah awal hematoxylin dalam nukleus menjadi warna biru yang tidak larut. PH basa dari larutan Blueing menjadikan perubahan pada jaringan dan menjadi lebih permanen. Tujuan utamanya yaitu untuk memperjelas warna biru pada inti sel dengan menggunakan larutan Lithium Carbonate. Jadi hematoxylin eosin itu bersifat asam. Asam akan mengikat larutan atau zat yang bersifat basa, sehingga warna inti akan menjadi biru dari zat hematoxylin. Reagen pada blueing menggunakan lithium carbonate 0,5% (lithium carbonate 0,5 gr + Akuades 1000 ml, campurkan dengan baik). Selain larutan lithium carbonate 0,5% blueing juga dapat menggunakan larutan alkalis (pH 7,8) (Ma'ruf, Abduh Fahmi, 2019).

Natrium bikarbonat atau soda kue menghasilkan gas CO<sub>2</sub> yang dibutuhkan dalam proses karbonasi. Karbonasi merupakan pelarutan karbondioksida didalam air dengan kondisi temperatur dan tekanan dan turunnya temperatur (Rahman Nasution dkk, 2018). Natrium bikarbonat merupakan sumber utama basa

dengan keunggulan tidak higroskopis, larut sempurna dalam air, tidak mahal, dan banayak tersedia dipasaran (Nursanty et al. 2022).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Untuk mengetahui kualitas pewarnaan Hematoxylin-Eosin yang menggunakan Natrium Bikarbonat dan Lithium Carbonate pada proses Blueing.

## 2. Metode

### Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2024 sampai dengan Juni 2024. Tempat penelitian ini yaitu di laboratorium Sekolah Tinggi Analisis bakti Asih dan Poltekkes Bandung. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan desain Statistic Group Comparison karena penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kelompok kontrol dan kelompok eksperimen menggunakan uji Mann-Whitney.

### Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, alkohol 96%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%), beaker glass, base mold, cover glass, Eosin, Hematoxylin, HCl 0,5%, hati tikus putih, kaset jaringan, kaca objek, kaset jaringan, label, Lithium Carbonate 0,5%, masker, mikroskop, Natrium Bikarbonat 0,5%, NBF 10%, Paraffin (1,11), oven, pisau, pinset, sarung tangan, talenan, tikus putih

### Prosedur Kerja

Tikus putih dinekropsi dan organ hati diambil selanjutnya dilakukan pembuatan preparat dengan metode pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Sampel organ hati tersebut diambil dan dipotong 1x1x1 cm, kemudian direndam dalam larutan NBF 10%. Sampel organ selanjutnya diperkecil lagi dengan irisan tipis untuk disimpan dalam tissue cassette dan dilakukan fiksasi dalam larutan NBF. Setelah difiksasi, dilakukan proses dehidrasi dan clearing dengan satu sesi larutan yang terdiri dari alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 100%), toluene, dan paraffin, secara bertahap dalam waktu sehari. Sampel organ hati di blocking dengan embedding sel yang dituangi paraffin cair kemudian didinginkan. Blok yang sudah dingin disectioning menggunakan mikrotom dengan ketebalan kurang lebih 4 mikron. Proses terakhir adalah pewarnaan metode Harris Hematoxylin-Eosin. Pada pewarnaan 16 preparat pada proses Blueing menggunakan lithium carbonate dan 16 preparat menggunakan Natrium Bikarbonat dan mounting media. Preparat diamati di bawah mikroskop. Pada setiap preparat dihitung nilai rerata pada perlakuan lithium carbonate dan natrium bikarbonat. Dengan skor nilai sebagai berikut :

1. Inti sel bewarna biru, sitoplasma bewarna merah, tidak ada artepak skor 3 (sangat baik).
2. Inti sel kurang bewarna biru, sitoplasma kurang bewarna merah, sebagian terdapat artepak skor 2

(baik).

- Inti sel tidak bewarna biru, sitoplasma tidak bewarna merah, terdapat artepak skor 1 (kurang baik).

Setelah data terkumpul, kemudian diuji statistic non parametrik Mann-Whitney analisis menggunakan SPSS.

### 3. Hasil dan Pembahasan

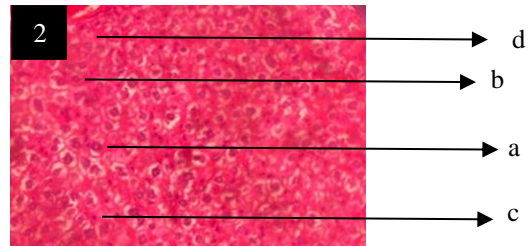
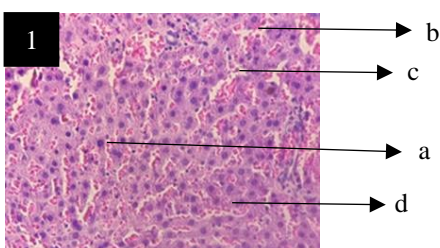
#### Hasil Mikroskopis Jaringan Hati Tikus Putih

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik pada preparat pada proses blueing menggunakan Lithium Carbonate dan natrium Bikarbonat didapatkan kualitas pewarnaan yang dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

**Tabel 1.** Penilaian preparat yang menggunakan Lithium carbonate 0,5% dan Natrium bikarbonat 0,5%

Pengulangan	Lithium Carbonat 0,5%	Natrium Bikarbonat 0,5%
1	3	3
2	2	2
3	2	3
4	3	3
5	2	3
6	3	3
7	2	3
8	2	3
9	3	3
10	2	2
11	3	3
12	2	3
13	2	2
14	3	3
15	3	3
16	3	3

**Gambar 1.** Hasil pengamatan pada sediaan jaringan hati Tikus Putih menggunakan Blueing 1. Lithium carbonate dan 2. Natrium bikarbonat, panah (a) inti sel, panah (b) sitoplasma, panah (c) eritrosit dan panah (d) serabut.



Berdasarkan hasil proses deparafinisasi dengan Natrium bikarbonat pada pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada sampel jaringan hati hewan tikus putih yang diamati secara mikroskopik seluruh sampel 100% menunjukkan gambar dengan hasil yang sangat baik (skor 3) dan baik (skor 2). Sehingga sediaan dapat didiagnosis dengan jelas pada Tabel 4. Hasil pengamatan pada sediaan jaringan hati hewan tikus putih pada kontrol menggunakan Blueing lithium carbonate menunjukkan gambar dengan hasil yang sama seperti perlakuan natrium bikarbonat yang sangat baik (skor 3) dan baik (skor 2).

Menurut (Michael Page 2022) blueing adalah salah satu proses dalam prosedur pengecatan HE, bertujuan untuk mengubah warna merah awal hematoxylin dalam nukleus menjadi warna biru yang tidak larut. PH basa dari larutan Blueing menjadikan perubahan pada jaringan dan menjadi lebih permanen. Tujuan utamanya yaitu untuk memperjelas warna biru pada inti sel.

Blueing menggunakan Lithium carbonate dalam pewarnaan HE karena Lithium carbonate dapat digunakan untuk menstabilkan dan menyesuaikan pH larutan pewarnaan. pH yang tepat penting untuk memastikan warna hematoxylin pada inti sel tetap biru dan tidak terlalu gelap atau terlalu terang. Secara umum, menghirup lithium carbonate dalam jangka panjang dapat memiliki dampak histologis tertentu, terutama terkait dengan organ-organ seperti ginjal, tiroid, dan paratiroid (Han dkk, 2020). Dengan begitu perlu dilakukan pengganti alternatif larutan lithium carbonate salah satunya menggunakan larutan Natrium bikarbonat.

Natrium bikarbonat adalah senyawa kimia dengan rumus  $\text{NaHCO}_3$  dalam penyebutannya kerap disingkat menjadi bicnat. Senyawa ini termasuk kelompok garam, senyawa ini disebut juga backing powder (MAFLAHAH dkk, 2022). Natrium bikarbonat mempunyai kesamaan dengan lithium carbonate yaitu keduanya adalah garam organik, ditemukan dalam Golongan 1 tabel periodik, Golongan ini dicirikan dengan memiliki satu elektron pada kulit terluarnya, kedua senyawa ini mengandung karbon dan oksigen sebagai bagian dari anion karbonat dan keduanya larut dalam air, meskipun dengan kelarutan yang berbeda. Akan tetapi kedua senyawa ini mempunyai perbedaan yaitu komposisi kimia, struktur dan sifat kimia, dan toksisitasnya (Richard stevenson 2019).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah organ hati hewan tikus putih setiap 1 blok yang terbagi atas lithium carbonate dan natrium bikarbonat. Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis, 16 preparat lithium carbonate didapatkan hasil sangat baik dikarenakan sel berwarna biru, sitoplasma berwarna merah, tidak ada artepak dan didapatkan baik karena inti sel berwarna biru, sitoplasma berwarna kurang merah, sedangkan 16 preparat yang menggunakan larutan natrium bikarbonat didapatkan hasil yang sama dengan preparat yang menggunakan lithium carbonate yaitu didapatkan hasil sangat baik dikarenakan sel berwarna biru, sitoplasma berwarna merah, tidak ada artepak dan didapatkan baik karena inti sel berwarna biru, sitoplasma berwarna kurang merah.

Berdasarkan hasil penelitian penggunaan Natrium bikarbonat sebagai alternatif agen blueing pengganti lithium carbonate dapat dipertimbangkan penggunaannya juga dilihat dari segi warna agak berbeda, dikarenakan pH natrium bikarbonat kurang optimal dibandingkan dengan lithium carbonate sehingga kualitas gambaran preparat terdapat perbedaan.

Selain itu lithium carbonate memiliki banyak kelebihan dalam pelarut blueing yang umum digunakan selama ini. Larutan natrium bikarbonat atau soda kue berfungsi sebagai bahan pengembang kue yang dipakai untuk meningkatkan volume. Secara kimiawi efek toksik lithium carbonate lebih toksik sifatnya daripada natrium bikarbonat yang dianggap tidak berbahaya.

Berdasarkan hasil uji statistik uji Mann-Whitney pada Tabel 4.5 Menyatakan bahwa nilai asymp Sig (2-tailed) > 0.05 maka H<sub>0</sub> diterima dan H<sub>1</sub> ditolak yang artinya tidak ada perbedaan secara signifikan antara perlakuan blueing menggunakan Lithium carbonate dan Natrium bikarbonat. Maka dapat disimpulkan larutan blueing yang menggunakan natrium bikarbonat bisa menjadi alternatif pengganti larutan lithium carbonate.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil dari pengamatan mikroskopis sediaan jaringan hati tikus putih dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin pada proses Blueing yang menggunakan Lithium Carbonate 0,5% dan Natrium Bikarbonat 0,5% dapat disimpulkan bahwa kualitas sediaan sangat baik. Maka Natrium Bikarbonat 0,5% dapat digunakan sebagai bahan alternatif pengganti Lithium carbonate 0,5%. (slude) hasil pirolisis limbah sarung tangan lateks dengan variasi katalisator terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap zona hambat pada pengujian antimikroba.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Apriani, Andrianus, Stephanie Marisca, and Patricia Diana. 2023. "Ez Prep Concentrate (Ez Prep) Sebagai Alternatif Reagen Deparafinasi Pada Pewarnaan Hematoksin Eosin." *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan* 7 (1): 96–102. <https://doi.org/10.33379/gtech.v7i1.1874>.
- Han, Bing, Rana Anwar UI Haq, and Marjatta Louhi-Kultanen. 2020. "Lithium Carbonate Precipitation by Homogeneous and Heterogeneous Reactive Crystallization." *Hydrometallurgy* 195 (March): 105386. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2020.105386>.
- Lamsudiansyah, Asrul Yudha Fadhiila, Adang Durachim, Wiwin Wiryanti, and Ani Riyani. 2023. *Perbandingan Hasil Mikroskopis Preparat Jaringan Dengan Minyak Daun Kayu Manis Sebagai Agen Clearing Pada Pematangan Jaringan*. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*. Vol. 18. <https://doi.org/10.36086/jpp.v18i2.1832>.
- MAFLAHAH, IFFAN, Sofi Anshori, and Supriyanto Supriyanto. 2022. "Pengaruh Penambahan Natrium Bikarbonat Dan Asam Sitrat Terhadap Karakteristik Mutu Garam Mandi (Bath Bomb Salt)." *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri* 10 (3): 360. <https://doi.org/10.24843/jrma.2022.v10.i03.p13>.
- Mayangsari, Mela Aprilia, Fitri Nuroini, and Tulus Ariyadi. 2019. "Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut Pada Proses Deparafinasi Menggunakan Xylol Dan Minyak Zaitun Pada Pewarnaan HE." *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus 2* (1): 190–94. <http://prosiding.unimus.ac.id>.
- Nazhiifah, Tristania Shofi, and Eko Naning Sofyanita. 2023. "Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) Pada Histologi Kulit Mencit (*Mus Musculus*) Berdasarkan Ketebalan Pembedahan 3 Mm, 6 Mm Dan 9 Mm." *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology* 6 (1): 474–80. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v6i1.6090>.
- Nursanty, Regita Pramesti, Windah Anugrah Subaidah, Handa Muliasari, Yohanes Juliantoni, and Wahida Hajrin. 2022. "PENGARUH VARIASI KONSENTRASI ASAM SITRAT DAN NATRIUM BIKARBONAT TERHADAP SIFAT FISIK GRANUL EFFERVESCENT SARI BUAH DUWET (*Syzygium Cumini* L.)." *Jurnal Farmasi Dan Farmakologi* 26 (1): 38–43. <https://doi.org/10.20956/mff.v26i1.12800>.
- Rahman Nasution, Abdullah, Ismed Suhaidi, Lasma Nora Limbong, Program A Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian USU Medan Jl Sofyan No, and Kampus USU Medan. 2018. "PENGARUH PENAMBAHAN NATRIUM BIKARBONAT (NaHCO<sub>3</sub>) DAN ASAM SITRAT

TERHADAP MUTU MINUMAN SARI BUAH  
KEDONDONG BERKARBONASI (The Effect of  
Addition of Sodium Bicarbonate ( $\text{NaHCO}_3$ ) and  
Citric Acid on Quality of Carbonated Kedondong  
Juice Drink)." *Ilmu Dan Teknologi Pangan*  
*J.Rekayasa Pangan Dan Pert 6 (2): 202-9.*

