



JLabMed

Journal Homepage: <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>

e-ISSN: 2549-9939

PERBEDAAN KUALITAS JARINGAN TULANG PIPA TIKUS MENGGUNAKAN LARUTAN DEKALSIFIKASI ASAM NITRAT 3% DAN ASAM NITRAT 10% DENGAN PENGECATAN HE

Yulia Ratna Dewi^{1*}, Fitri Nuroini², Arya Iswara²

¹ Program Studi DIV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

² Laboratorium Kimia Amami Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel

Diterima 10 Januari 2020
Direvisi 03 Februari 2020
Disetujui 06 Februari 2020
Tersedia Online 10 Maret 2020

Keywords:

Dekalsifikasi, tulang pipa tikus, asam nitrat 3%, asam nitrat 10% dan HE

Abstrak

Dekalsifikasi yaitu proses menghilangkan garam kalsium pada tulang. Proses dekalsifikasi dapat menggunakan larutan asam seperti asam nitrat 3% dan asam nitrat 10%. Asam nitrat 3% membutuhkan waktu 8 hari dan kurang efektif sedangkan pada larutan asam nitrat 10% memerlukan waktu 2 sampai 3 hari dengan hasil dapat diagnosis dan kualitas preparat baik. Tujuan penelitian mengetahui perbedaan kualitas dan kelunakan jaringan tulang pipa tikus menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% dan asam nitrat 10% dengan pengecatan HE. Jenis penelitian adalah Analitik. Subjek penelitian menggunakan jaringan tulang pipa tikus wistar (*Rattus norvegicus*) normal yang berusia 2 sampai 3 bulan dengan jenis kelamin jantan. Objek penelitian menggunakan jaringan tulang pipa tikus putih jantan dengan galur Wistar sebanyak 15 sediaan yang didekalsifikasi dengan larutan asam nitrat 3% dan 15 sediaan dengan larutan asam nitrat 10%. Hasil kelunakan jaringan tulang pipa tikus menggunakan larutan asam nitrat 10% lebih cepat lunak dibandingkan dengan asam nitrat 3%. Hasil kualitas preparat jaringan tulang pipa menggunakan asam nitrat 10% mendapatkan skor (1+) yaitu tidak dapat didiagnosis sedangkan asam nitrat 3% mendapatkan skor (3+) yaitu dapat didiagnosis. Simpulan penelitian terdapat perbedaan antara jaringan tulang pipa yang direndam dengan menggunakan larutan asam nitrat 3% dan asam nitrat 10%.

Pendahuluan

Tulang adalah struktur terpenting pada makhluk hidup karena tulang merupakan

penopang utama tubuh dan pelindung organ-organ penting di dalam tubuh seperti jantung, paru-paru, dan hati (Saryono, et. al., 2017). Tulang tersusun atas sel osteosit,

*Corresponding Author:

Yulia Ratna Dewi

Program Studi DIV Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: yuliaratnadewi16@gmail.com

osteoblast, dan osteoklas. Sel osteosit yaitu sel tulang dewasa untuk mempertahankan bentuk tulang agar tetap optimum. Sel osteoblast yaitu sel pembentuk sel tulang. Sel osteoklas sebagai penghancur tulang dan memperbaiki tulang (Wiarto, 2017). Tulang mengandung 70% mineral dan 30% organik (Sterchi, et. al., 2013). Susunan utama tulang terdiri atas matrik ekstraseluler termineralisasi yang mengandung bahan organik dan anorganik seperti fosfor, kalsium, dan protein (Aryati, et. al., 2014). Komposisi tersebut yang membuat tulang menjadi keras dan kuat sehingga dalam proses pemotongan jaringan dapat menyebabkan terjadinya kegagalan maupun kerusakan pada pisau mikrotom. Hal tersebut dapat diatasi dengan melakukan proses dekalsifikasi (Khristian, et. al., 2017).

Dekalsifikasi adalah proses menghilangkan garam-garam kalsium dan mineralisasi pada tulang, gigi, dan kalsifikasi jaringan lain. Dekalsifikasi menyebabkan jaringan menjadi lunak sehingga mikrotom dapat memotong tulang atau jaringan yang mengandung kalsium dengan mudah untuk dijadikan sediaan jaringan (Prasad, et. al., 2013). Faktor yang mempengaruhi proses dekalsifikasi untuk diagnostik antara lain ketebalan tulang, kerapatan atau densitas tulang, suhu, agitasi, vakum atau tekanan, dan volume larutan dekalsifikasi. Prinsip dekalsifikasi adalah menghilangkan kation kalsium dengan mekanisme anion. Anion diperoleh dari larutan dekalsifikasi yang biasanya mengandung larutan asam. Larutan asam yang digunakan untuk proses dekalsifikasi jaringan tulang antara lain asam nitrat 5%, Parenyi's 10%, asam klorida (HCL) 5 sampai 10%, Larutan Von Ebner's, asam format 10%, Evans dan Krajian, Kristensen, dan netral etilen diamin tetraasetat (EDTA) (Khristian, et. al., 2017).

Berdasarkan penelitian Liu et. al. (2017) diketahui bahwa larutan dekalsifikasi paling baik menggunakan asam nitrat 3% pada pengecatan hematoxylin eosin (HE) dengan hasil pengecatan yang merata. Berdasarkan observasi pada saat melakukan praktik belajar lapangan (PBL) 2 di rumah sakit dan penelitian Prasad et. al. (2013) proses dekalsifikasi tulang, gigi, atau jaringan yang mengandung kalsium menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 10% untuk pengecatan HE yang hasil pengecatannya merata. Oleh karena itu tujuan penelitian tentang mengetahui perbedaan kualitas jaringan tulang pipa tikus menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% dan asam nitrat 10% dengan pengecatan HE

Bahan dan Metode

Penelitian menggunakan metode analitik. Bahan yang digunakan adalah entelan, xylol, alkohol (70%, 80%, 90%, 96%, dan absolut), hematoxylin eosin (HE), bufer formalin 10%, parafin, larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% dan asam nitrat 10%. Alat yang digunakan adalah mikrotom, waterbath, embeding, mikroskop, oven, staining jar, dan kaset blocking. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Muntilan Kabupaten Magelang dan Laboratorium Sitohistoteknologi Universitas Muhammadiyah Semarang.

Penelitian menggunakan 6 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) usia 2 sampai 3 bulan galur Wistar memiliki berat badan 100 sampai 150 gram dengan sampel yang diambil bagian tulang pipa tikus. Tulang pipa tikus dibagi menjadi 2 kelompok. Setiap kelompok berisi 15 tulang pipa tikus direndam ke dalam larutan dekalsifikasi yaitu kelompok asam nitrat 10% selama 3 hari dan kelompok asam nitrat

***Corresponding Author:**

Yulia Ratna Dewi

Program Studi DIV Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: yuliaratnadewi16@gmail.com

3% selama 5 hari. Jaringan tulang dilihat tingkat kelunakannya berdasarkan tabel 1.

Selanjutnya, tulang pipa tikus yang didekalsifikasi diamati tingkat kelunakannya dan diberikan skor sesuai dengan kriteria yang sudah ditentukan. Jaringan tulang pipa tikus selanjutnya diproses menjadi 30 blok parafin.

Hasil penilaian diberi skor sesuai dengan kriteria pada tabel 1 dan 2 penilaian kemudian dianalisis dengan statistik menggunakan *Software* komputer. Uji normalitas menggunakan Shapiro Wilk ($n < 50$).

Tabel 1. Kriteria penilaian kelunakaan sediaan jaringan tulang pipa tikus

No.	Deskripsi	Kriteria	Skor
1.	Jaringan tulang pipa tikus ditusuk menggunakan jarum tanpa kekuatan tidak mudah ditusuk bagian tulang pipa	Tidak Lunak	1+
2.	Jaringan tulang pipa tikus ditusuk menggunakan jarum tanpa kekuatan mudah ditusuk tetapi belum sampai menembus tulang pipa tikus	Kurang Lunak	2+
3.	Jaringan tulang pipa tikus ditusuk menggunakan jarum tanpa kekuatan mudah menembus bagian tulang pipa	Lunak	3+

Tabel 2. Kriteria penilaian kualitas sediaan jaringan tulang pipa tikus

No	Deskripsi	Kriteria	Skor
1.	Warna biru pada inti sel tidak ada, warna merah (<i>eosin</i>) pada sitoplasma jaringan tulang pipa kurang, dan kerusakan pita-pita preparat lebih dari 40% perlapang pandang yang dapat diamat pada perbesaran 400x sehingga sediaan jaringan tulang pipa tidak dapat didiagnosis dengan baik.	Tidak baik	1+
2.	Warna biru pada inti sel kurang jelas, warna merah (<i>eosin</i>) pada sitoplasma dan kerusakan pita-pita preparat 20% sampai 40% perlapang pandang yang dapat diamati pada perbesaran 400x sehingga sediaan jaringan tulang pipa kurang bagus tapi masih bisa didiagnosis.	Kurang Baik	2+
3.	Warna biru terang jelas pada inti sel, warna merah (<i>eosin</i>) pada sitoplasma, dan kerusakan pita-pita preparat 0% sampai 20% perlapang pandang yang dapat diamati pada perbesaran 400x sehingga sediaan jaringan tulang pipa dapat didiagnosis.	Baik	3+

Setiap 1 blok parafin menjadi 1 preparat. Preparat tulang pipa tikus dicat menggunakan pengecatan hematoxylin eosin, dan diamati secara mikroskopis kualitas jaringannya berdasarkan kriteria dan skor pada tabel 2.

Selanjutnya, dilakukan uji perbedaan dari 2 kelompok yang sama yaitu uji Kruskal Wallis karena data primer yang diperoleh tidak berdistribusi normal.

***Corresponding Author:**

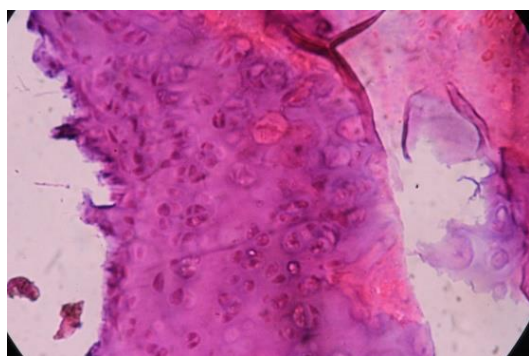
Yulia Ratna Dewi

Program Studi DIV Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: yuliaratnadewi16@gmail.com

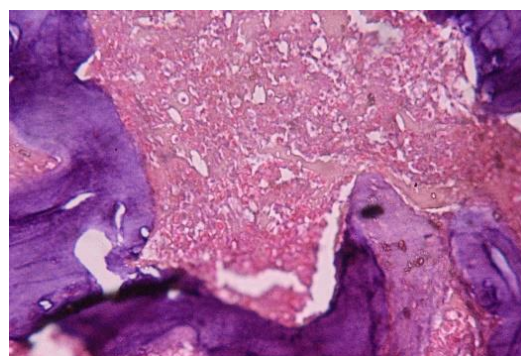
Hasil

Gambar 1 merupakan gambaran mikroskopis preparat tulang pipa tikus menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% dengan pengecatan hematoxylin eosin preparat tersebut dinyatakan warna biru terang jelas pada inti sel, warna merah (eosin) pada sitoplasma, dan kerusakan pita-pita preparat 0 sampai 20% perlapang pandang yang dapat diamati pada perbesaran 400x sehingga sediaan jaringan tulang pipa dapat didiagnosis.



Gambar 1. Hasil mikroskopis Jaringan tulang pipa menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% dengan pengecatan HE

ada, warna merah (eosin) pada sitoplasma jaringan tulang pipa kurang, dan kerusakan pita-pita preparat lebih dari 40% perlapang pandang yang dapat diamati pada perbesaran 400x sehingga sediaan jaringan tulang pipa tidak dapat didiagnosis dengan baik. Hasil uji statistik ada perbedaan yang bermakna rata-rata kelunakan dan kualitas preparat jaringan tulang pipa tikus menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% dan asam nitrat 10% dengan pengecatan HE.



Gambar 2. Hasil mikroskopis Jaringan tulang pipa menggunakan larutan dekalsifikasi asam

Tabel 3. Hasil penilaian kelunakaan sediaan jaringan tulang pipa tikus dan kualitas preparat jaringan tulang pipa tikus

Larutan Dekalsifikasi	Kelunakan Tulang Jaringan Tulang Pipa Tikus	Kualitas Preparat Jaringan Tulang Pipa Tikus
	Rata-rata	Rata-rata
Asam nitrat 3%	2	3
Asam nitrat 10%	3	1

Gambar 2 merupakan gambaran mikroskopis preparat tulang pipa tikus menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 10% dengan pengecatan hematoxylin eosin preparat tersebut dinyatakan tidak baik menunjukan Warna biru pada inti sel tidak

Diskusi

Hasil penilaian kelunakan tulang pipa tikus menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% lebih rendah dibandingkan dengan asam nitrat 10%. Hal ini disebabkan larutan dekalsifikasi asam nitrat 10%

***Corresponding Author:**

Yulia Ratna Dewi

Program Studi DIV Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: yuliaratnadewi16@gmail.com

memiliki kadar konsentrasi asam kuat yang lebih tinggi dibandingkan asam nitrat 3% yang merupakan asam kuat konsentrasi rendah. Sebab, mekanisme kerja larutan asam untuk melunakkan tulang dengan cara melepaskan senyawa organik yang terdapat pada substansi dasar pembentuk tulang dan jaringan sehingga larutan asam kuat dengan konsentrasi tinggi. Dari hasil data statistik didapatkan hasil p value = 0,017 yang berarti terdapat pengaruh pasang dan surut air laut terhadap kadar NO_2^- pada air sumur di Kelurahan Tanjung Mas Semarang yang tidak memenuhi persyaratan layak konsumsi membutuhkan waktu yang lebih singkat.

Hasil penilaian kualitas preparat jaringan tulang pipa tikus menggunakan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% lebih tinggi dibandingkan dengan asam nitrat 10%. Hal ini disebabkan larutan dekalsifikasi asam nitrat 3% memperoleh skor (3+) sedangkan asam nitrat 10% memperoleh skor (1+) preparat jaringan tulang pipa tidak dapat diamati. Larutan asam nitrat 10% yang sudah melewati batas endopoin. Endopoin merupakan batas maksimal larutan melakukan proses dekalsifikasi. Adanya pelampauan batas endopoin menyebabkan jaringan disekitarnya menjadi tidak dapat diamati. Perendaman jaringan pada larutan asam nitrat 10% apabila melebihi waktu akan menyebabkan jaringan tulang menjadi rusak dan pewarnaan pada inti jaringan hilang sehingga saat pengecatan jaringan tidak terlalu baik dan jaringan menjadi lebih basah sehingga sulit untuk dilakukan pengamatan jaringan.

Kehilangan warna pada inti sel jaringan disebabkan perendaman larutan asam kuat yang berlebih sering merusak komponen pewarnaan yang bersifat basophilic seperti inti sel. Inti sel yang bersifat asam apabila terkena terlalu banyak larutan yang bersifat

asam akan membuat jaringan inti rusak dan menjadi lebih asam sehingga pewarnaan larutan hematoxylin yang bersifat basa tidak dapat masuk dan mewarnai ke dalam inti sel (Khristian, et. al., 2017). Hal lain yang dapat mempengaruhi hasil kualitas jaringan tulang pipa antara lain proses fiksasi dan processing jaringan. Proses fiksasi merupakan langkah dasar yang paling penting untuk mencegah pembusukan dan kerusakan jaringan sehingga jaringan dapat diamati secara anatomis dan mikroskopis. Jaringan tulang pipa tikus difiksasi menggunakan buffer formalin 10% selama 24 jam (Hikmah, 2015). Menurut Musyarifah, et. al. 2018 proses fiksasi tulang yang paling baik menggunakan *helly's fixative* sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang larutan yang digunakan untuk fiksasi pada tulang. Processing jaringan yang mempengaruhi hasil kualitas terletak pada tahap infiltrasi parafin. Infiltrasi parafin pada jaringan tulang memerlukan titik leleh yang lebih tinggi dibandingkan yang lebih jaringan lunak (Khristian, et. al., 2017). Titik leleh yang lebih tinggi dibutuhkan agar parafin dapat mudah masuk ke dalam jaringan tulang yang keras sehingga perlu penelitian lebih lanjut tentang pengaruh proses infiltrasi parafin terhadap kualitas jaringan.

Referensi

- Ariyadi, T., & Suryono, H. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave Dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. Jurnal Labora Medika, 1(1): 7-17.
- Hikmah, N.2015. Profil Osteoblas Dan Osteoklas Tulang Alveolar Pada Model Tikus Diabetes Tahap Awal Dengan Aplikasigaya Ortodonti

*Corresponding Author:

Yulia Ratna Dewi

Program Studi DIV Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: yuliaratnadewi16@gmail.com

- Yang Berbeda. *Kedokteran Gigi Universitas Jember*. 5(2):97-102.
- Kapila, S. N., Natarajan, S., Boaz, K., Pandya, J. A., & Yinti, S. R. 2015. Driving the Mineral out Faster: Simple Modifications of the Decalcification Technique. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 9(9): 93-97.
- Khristian, E., & Inderiati, D. 2017. *Sitohistoteknologi*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Liu, H., 2017. Evaluation of Decalcification Techniques for Rat Femurs Using. *BioMed Research International*. 6: 1-6.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. 2018. Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7(3): 443-453.
- Nazar, Julizar. 2008. Tulang: Tinjauan Dari Sudut. *Majalah Kedokteran Andalas*. 2(2):127-134.
- Pearce, E. C. 2016. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Prasad, P., & Donoghue, M. 2013. A comparative study of various decalcification techniques. *Indian Journal of Dental Research*. 24(3): 302-308.
- Saryono, Warsinah, Proverawati, A., & Putri, W. A. 2017. Deteksi Kalsium Melalui Pemeriksaan Kepadatan Tulang pada Lansia di Desa Linggasari, Sebagai Upaya Alih Teknologi dan Peningkatan Pengetahuan Kader Kesehatan Menuju Desa Mandiri Kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers*. 641-647.
- Skinner, R. A. 2008. Decalcification of Bone Tissue. *Center for Orthopaedic Research*. 1: 167-184.
- Wiarto, G. 2017. *Nyeri Tulang dan Sendi*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.

***Corresponding Author:**

Yulia Ratna Dewi

Program Studi DIV Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: yuliaratnadewi16@gmail.com