

---

**PERBANDINGAN HASIL MIKROSKOPIS PREPARAT JARINGAN DENGAN  
MINYAK DAUN KAYU MANIS SEBAGAI AGEN *CLEARING*  
PADA PEMATANGAN JARINGAN**

***COMPARISON OF MICROSCOPIC RESULTS OF TISSUE PREPARATION WITH  
CINNAMIN LEAF OIL AS A CLEARING AGENT IN TISSUE MATURATION***

---

Info artikel

Diterima: 19 September 2023

Direvisi: 1 Desember 2023

Disetujui: 20 Desember 2023

---

**Asrul Yudha Fadhiila L<sup>1</sup>, Adang Durachim<sup>2</sup>, Wiwin Wiryanti<sup>3</sup>, Ani Riyani<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3,4</sup> Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

(E-mail penulis korespondensi: [asrulyudhafadhiila@gmail.com](mailto:asrulyudhafadhiila@gmail.com))

***ABSTRACT***

**Background** *Clearing is one of the stages in network processing. Clearing aims to remove alcohol and other dehydrants from the tissue. Xylol is a reagent that is commonly used as a clearing agent, but xylol is a toxic substance. The purpose of this research is to replace xylol with alternative reagents in the clearing process.*

**Method** *The type of research used is quasi-experimental with a comparative descriptive research design. The sample used was *Rattus norvegicus* rat kidney tissue. The statistical test used is the Independent T-Test when the data is normally distributed and the Mann-Whitney U test when the data is not normally distributed.*

**Results** *Based on the results of the Independent T-Test test, namely the cell nucleus color intensity value Sig 0.55 and the cytoplasm color intensity value Sig 0.582, both of which are > 0.05, meaning that there is no significant difference between the use of xylol and cinnamon leaf oil as a clearing agent.*

**Conclusion** *In this study, cinnamon leaf oil can be used as a clearing agent to replace xylol.*

**Keywords** *Tissue Maturation, Clearing, Xylol, Cinnamon Leaf Oil, Eugenol*

***ABSTRAK***

**Latar Belakang** *Clearing adalah salah satu tahapan pada *processing* jaringan. Clearing memiliki tujuan untuk menghilangkan alkohol dan juga larutan dehidran lain dari dalam jaringan. Xylol adalah senyawa kimia yang biasa digunakan sebagai agen clearing, namun xylol memiliki kekurangan yaitu bersifat toksik. Tujuan dari penelitian ini adalah mengganti xylol dengan reagen alternatif pada proses *clearing*.*

**Metode** *Jenis penelitian ini adalah quasi eksperimen dengan desain penelitian yakni deskriptif komparatif. Sampel yang digunakan adalah jaringan ginjal tikus *Rattus norvegicus*. Uji statistik yang digunakan adalah uji *Independent T-Test* pada saat data berdistribusi normal dan uji *Mann-Whitney U* pada data yang tidak berdistribusi normal.*

**Hasil** *Berdasarkan hasil nilai uji *Independent T-Test* yaitu nilai intensitas warna inti sel Sig 0.55 dan nilai intensitas warna sitoplasma Sig 0.582 yang mana keduanya bernilai > 0.05 artinya tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara penggunaan xylol dan minyak daun kayu manis sebagai agen *clearing*.*

**Kesimpulan** *Pada penelitian ini, minyak daun kayu manis dapat digunakan sebagai agen *clearing* pengganti xylol.*

**Kata Kunci** *Pematangan Jaringan, Clearing, Xylol, Minyak Daun Kayu Manis, Eugenol*

## PENDAHULUAN

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 (Mescher, 2016).

Pada processing jaringan diperlukan tahapan clearing agar sediaan dapat dilihat dengan lebih jelas dan mudah diamati. Clearing bertujuan untuk menghilangkan alkohol dan dehidran lain dari dalam jaringan. Reagen clearing harus mempunyai sifat tidak mudah terbakar, tidak menyebabkan kerusakan jaringan yang berlebih, mempunyai toksisitas yang rendah, murah serta mudah dijangkau (Khristian *et al.*, 2017).

Xylol merupakan senyawa hidrokarbon aromatik yang tidak berwarna, mudah terbakar dan memiliki bentuk gas atau cair. Xylol adalah reagen yang biasa digunakan pada proses clearing karena sifatnya sehingga xylol bisa menghilangkan alkohol dalam sediaan jaringan dengan cepat sehingga jaringan yang akan diamati dapat terlihat lebih jernih (Alwahaibi *et al.*, 2018). Kendala pada penggunaan xylol adalah mempunyai toksisitas yang tinggi. Paparan xylol baik melalui inhalasi, menelan dan kontak langsung bisa mengakibatkan keracunan pada organ tubuh seperti hati, kulit, paru paru dan sistem saraf (Bordoloi, 2018).

Banyak penelitian yang dikembangkan untuk meminimalisir penggunaan xylol di laboratorium. Pada hasil penelitian oleh Septiani, *et al* (2018) ditemukan bahwa penggunaan minyak cengkeh sebagai media alternatif xylol memiliki hasil yang baik. Minyak cengkeh mengandung eugenol dengan kadar tinggi. Selain minyak cengkeh salah satu bahan lainnya yang mengandung senyawa eugenol adalah minyak daun kayu manis yang memiliki kandungan eugenol 70% pada daunnya (Wang, R., et al, 2009).

Kayu manis atau *Cinnamomum burmanni* adalah tanaman obat yang banyak digunakan masyarakat sebagai obat masuk angin,

kembung, sakit kepala, dll. Kayu Manis mengandung eugenol yang cukup tinggi terutama pada bagian daun. Daun minyak kayu manis mengandung 70% eugenol dan sisanya adalah sinamaldehyd (Djarot, et al, 2019). Eugenol adalah senyawa kimia non polar yang dapat menarik alkohol dalam proses dealkoholisasi. (Erizal, 2019).

## METODE

Jenis penelitian yang digunakan pada perbandingan kualitas preparat jaringan ginjal tikus yang menggunakan minyak kayu manis sebagai agen *clearing* pada proses pematangan jaringan adalah penelitian quasi eksperimen. Pada penelitian ini, jaringan ginjal akan melalui proses clearing dengan menggunakan minyak kayu manis dan xylol. Selanjutnya akan melalui tahap pewarnaan jaringan dan dilakukan penilaian kualitas preparat.

Desain penelitian yang dilakukan adalah dengan menggunakan deskriptif komparatif yaitu menyeleksi dua kelompok (kelompok eksperimen dan kelompok kontrol) dalam penelitian. Dalam desain ini kelompok eksperimen menerima perlakuan yakni *clearing* menggunakan minyak kayu manis. Hasil ini kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol yakni jaringan ginjal yang melalui proses clearing menggunakan xylol.

Subjek pada penelitian ini adalah minyak kayu manis. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah jaringan ginjal tikus. Unit penelitian yang akan dilakukan yaitu jaringan ginjal tikus dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok jaringan ginjal yang *clearing* dengan xylol sebagai *gold standard* dan jaringan ginjal yang *clearing* dengan minyak kayu manis sebagai pembanding.

## HASIL

Berdasarkan hasil pemeriksaan terhadap preparat jaringan ginjal mencit dengan clearing menggunakan xylol dan minyak daun kayu manis didapatkan hasil sebagai berikut :

**Tabel 1. Penilaian Mikroskopis Preparat Jaringan Oleh Panelis**

Panelis	Nilai Total Preparat Xylol	Nilai Total Preparat Kayu Manis
Panelis 1	60	60
Panelis 2	60	60
Panelis 3	55	52
Nilai Rata Rata	2,75	2,60

Dalam penilaian mikroskopis xylol mendapatkan nilai lebih tinggi yakni 2,75 dibandingkan dengan minyak daun kayu manis yang memiliki nilai *mean* yang lebih rendah yaitu 2,60.

**Tabel 2. Pengukuran Intensitas Warna Inti Sel Preparat Jaringan**

Kriteria	Nilai OD Xylol	Nilai OD Kayu Manis
Inti	136,771	136,771
Sitoplasma	148,662	149,902

Adapun hasil uji statistic T-Test terhadap intensitas warna pada inti sel adalah sebagai berikut :

**Tabel 3. Uji Statistik**

Kriteria	Hasil .Sig Uji Normalitas	Hasil .Sig T-Test
Inti Sel	.055	.582
Sitoplasma	.114	.292

Dari hasil uji *Independent T-Test* dapat dilihat bahwa data intensitas inti sel didapat nilai signifikansi sebesar 0,582 yang mana  $> 0,05$  dan berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari sebaran kedua data diatas.

Dari uji normalitas diatas dapat dilihat bahwa data intensitas inti sel didapat nilai signifikansi sebesar 0,055 yang mana  $> 0,114$  dan dapat disimpulkan bahwa data diatas terdistribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan pengolahan data *Independent T-Test*.

## PEMBAHASAN

Fiksasi jaringan adalah langkah awal dalam pembuatan preparat histologi jaringan. Tujuan dari fiksasi jaringan adalah untuk mencegah terjadinya autolisis, pembusukan pada jaringan, dan mengawetkan sel-sel jaringan agar sama seperti jaringan tersebut masih dalam

keadaan hidup. (Musyarifah & Agus, 2018). Dalam histologi rutin, media yang paling umum digunakan untuk embedding adalah paraffin. Air yang terkandung jaringan tidak dapat langsung digantikan oleh paraffin, tetapi harus melalui tahap dehidrasi dan clearing terlebih dahulu sebagai perantara. Pada penelitian ini jaringan ginjal di clearing dengan xylol dan minyak daun kayu manis.

Clearing adalah salah satu tahapan pada proses pematangan jaringan yang memiliki tujuan untuk membersihkan jaringan dari sisa-sisa alkohol dari proses dehidrasi. Rongga kosong yang disebabkan oleh air yang terdehidrasi kemudian diganti dengan agen clearing seperti xylol, sehingga jaringan menjadi bening. (Rusch et al., 2021). Larutan clearing berfungsi sebagai media antara larutan dehidrasi dan infiltrasi karena sifatnya larut dalam kedua larutan dan sebagian besar merupakan

hidrokarbon dengan indeks bias yang mirip dengan protein.

Pelarut nonpolar yang banyak digunakan dalam tahap clearing adalah xylol (Subowo, 2009). Xylol merupakan larutan yang biasa digunakan untuk proses clearing karena kemampuannya untuk berikatan dengan alkohol dan paraffin (Sumanto, 2014). Tetapi, penggunaan xylol dalam jangka waktu panjang dapat mengganggu kesehatan, selain itu harganya yang mahal, dan xylol termasuk larutan yang sulit didapat karena berasal dari import. Hal ini menyebabkan banyak peneliti berusaha untuk mencari agen clearing alternatif yang lebih rendah toksisitasnya, murah dan lebih mudah didapat pelarutnya.

Pada penelitian ini dilakukan percobaan penggantian reagen clearing pada proses pematangan jaringan. Minyak daun kayu manis digunakan sebagai pengganti xylol dalam proses clearing. Minyak daun kayu manis adalah senyawa organik non polar yang mengandung senyawa eugenol sebanyak 70% (Thompson & Ablard (2022). Eugenol sendiri mengandung gugus karbon yang mana sangat berperan pada proses dealkoholisasi. Dealkoholisasi merupakan proses ketika gugus karbon menyerap sisa alkohol dari proses sebelumnya sehingga kedua senyawa berikatan (Jacobson & McLean (2003). Berdasarkan itu minyak daun kayu manis sesuai dengan kriteria larutan yang bisa digunakan untuk proses clearing.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tidak terdapat perbedaan kualitas pewarnaan preparat jaringan ginjal yang signifikan dengan menggunakan xylol dan minyak daun kayu manis sebagai agen clearing pada proses pematangan jaringan. Ditunjukkan dari statistik dengan menggunakan uji Independent T-Test dengan hasil data homogen dengan nilai Sig 0.582 pada inti sel dan Sig 0.292 pada sitoplasma keduanya bernilai  $> 0.05$  yang berarti hasil pengamatan intensitas warna (*optical density*) inti sel dan sitoplasma menunjukkan bahwasanya tidak terdapat perbedaan signifikan pada menggunakan xylol dan minyak daun kayu manis. Pada penelitian ini minyak daun kayu manis dapat digunakan sebagai agen clearing.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Alwahaibi, N., Aljaradi, S., & Alazri, H. (2018). Alternative to xylene as a clearing agent in histopathology. *Journal of Laboratory Physicians*, 10(02), 189-193.
2. Ankle, M. R., & Joshi, P. S. (2011). A study to evaluate the efficacy of xylene-free hematoxylin and eosin staining procedure as compared to the conventional hematoxylin and eosin staining: An experimental study. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, 15(2), 161.
3. Aprianto, A. (2011). *Ekstraksi Oleoresin Dari Kayu Manis Berbantu Ultrasonik Dengan Menggunakan Pelarut Alkohol* (Doctoral dissertation, Universitas Diponegoro).
4. Bordoloi, B. (2018). Xylene Its Health Hazards And Biocompatible Susbtitutes.
5. Djarot, P., & Ambarwati, D. (2019). Lilin aromatik minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai repelen lalat rumah (*Musca domestica*). *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, 19(2), 5564.
6. Erizal, E. (2019). Immobilisasi eugenol pada matriks TMPT dengan induksi radiasi. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 124128.
7. Gartner, L. P. (2020). *Textbook of histology e-book*. Elsevier Health Sciences.
8. Jacobson, G. A., & McLean, S. (2003). Biological monitoring of low level occupational xylene exposure and the role of recent exposure. *Annals of Occupational Hygiene*. 47(4): 331-336.
9. Jusuf, A. A. (2009). *Histoteknik dasar. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta*.
10. Idris, H., & Mayura, E. (2019). Teknologi Budidaya Dan Pasca Panen Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanii*).
11. Iswara, A., & Tri, W. (2017). Pengaruh Variasi Waktu Clearing Terhadap Kualitas Sediaan Awetan Permanen *Ctenocephalides felis*. *Jurnal Labora Medika*, 1(1), 12-15.

12. Kartika, A. A., Hotnida, H. C. H., & 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), 147-154.
13. Khristian, E., & Inderiati, D. (2017). Sitohistoteknologi. *Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan*.
14. Kunhua, W., Chuming, F., Tao, L., Yanmei, Y., Xin, Y., Xiaoming, Z., ... & Xun, L. (2012). Novel Non-Toxic Xylene Substitute (SBO) for histology. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(1), 43-49.
15. Mescher, A., & Mescher, A. (2013). *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas 14e*. McGraw Hill Medical Publishing Division.
16. Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses fiksasi pada pemeriksaan histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 443-453.
17. Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Kajian Pustaka: Penggunaan Tikus Sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*, 10.
18. Rajan, S. T., & Malathi, N. (2014). Health hazards of xylene: a literature review. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(2), 271.
19. Rusch, H., Brammerloh, M., Stieler, J., Sonntag, M., Mohammadi, S., Weiskopf, N., Morawski, M. (2021). Finding the best clearing approach - Towards 3D wide-scale multimodal. Elsevier Inc.
20. Septiani, F. (2018). *Perbedaan Kualitas Preparat Permanen Pediculus Humanus Capitis Pada Proses Clearing Menggunakan Xylol Dan Minyak Cengkeh*
21. Slaoui, M., & Fiette, L. (2011). Histopathology procedures: from tissue sampling to histopathological evaluation. *Drug Safety Evaluation: Methods and Protocols*, 69-82.
22. Subowo. (2009). *Histologi Umum*. Jakarta: Sagung Seto.
23. Ablard, K. (2022). *Cinnamomum verum* (leaf) monograph. Certified Master Aromatherapist Program v12022-06. Essence of Thyme College of Holistic Studies.
24. Wang, R., Wang, R., & Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2)