

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"

No.178/KEPK-TJK/IV/2025

Protokol penelitian versi 1 yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Sartika Dwi Mandala Sari
Principal In Investigator

Nama Institusi : Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang
Name of the Institution

Dengan judul:
Title

"Pengaruh Penyesuaian pH Reagen Pewarna Hematoxylin dan Eosin Lama Terhadap Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara"

"The Effect of pH Adjustment of Old Hematoxylin and Eosin Staining Reagents on the Staining Quality of Breast Cancer Tissue Preparations"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 26 April 2025 sampai dengan tanggal 26 April 2026.

This declaration of ethics applies during the period April 26, 2025 until April 26, 2026. April 26, 2025
Chairperson,



Dr. Aprina, S.Kp., M.Kes

Nomor : PP.01.04/F.XXXV/2728/2025
Lampiran : 1 Berkas
Hal : Izin Penelitian

14 Mei 2025

Yth, Kepala Klinik Morotai Patologi Bandar Lampung
Di- Tempat

Sehubungan dengan penyusunan Skripsi bagi mahasiswa Tingkat IV Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Tanjungkarang Tahun Akademik 2024/2025, maka dengan ini kami mengajukan permohonan izin penelitian bagi mahasiswa di institusi yang Bapak/Ibu Pimpin. Adapun mahasiswa yang melakukan penelitian adalah sebagai berikut:

No	MAHASISWA	JUDUL	TEMPAT PENELITIAN
1.	Sartika Dwi Mendala Sari NIM: 2413353149	Pengaruh Penyesuaian pH Reagen Pewarna Hematoxylin dan Eosin Lama Terhadap Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara	Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung
2.	Made Kinta Yuliana NIM: 2113353033	Perbandingan Kualitas Sedimen Jaringan Kanker Serviks Dengan Menggunakan Ekstrak Daun Pacar Air (<i>Impatiens Balsamina L.</i>) Sebagai Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin	

Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Plh. Direktur Politeknik Kesehatan
Kemenkes Tanjungkarang,



Ns. MARTINI FAIRUS, S.Kep, M.Sc

Tembusan:
Ka..Jurusan Teknologi Laboratorium Medis

Kementerian Kesehatan tidak menerima suap dan/atau gratifikasi dalam bentuk apapun. Jika terdapat potensi suap atau gratifikasi silahkan laporkan melalui HALO KEMENKES 1500567 dan <https://halo.kemkes.go.id>. Untuk verifikasi keaslian tanda tangan elektronik, silahkan unggah dokumen pada laman <https://tla.keminfo.go.id/verifyPDF>.





Morotai Patologi

KLINIK PATOLOGI ANATOMIK & SITOLOGIK
"MOROTAI PATOLOGI"

Dr. Resti Arania, Sp.PA

Jl. Pulau Morotai Ruko Morotai Mas A5 (Samping Sekretariat IDI Cabang B. Lampung)

Bandar Lampung 35132, CP : 0823-7782-6300 (WA)

email : restiarania@gmail.com/barokahpatologi@gmail.com

No : 082/ KMP/ I /V/2025
Perihal : Izin melakukan penelitian.
Lampiran : -

Bandar Lampung, 28 Mei 2025

Kepada Yth
Ibu Dewi Purwaningsih, S.Si.T., M.Kes
Direktur Politeknik Kesehatan Tanjung Karang
Di -
Tempat

Dengan hormat,

Sehubungan dengan surat No. PP.01.04/F.XXXV/2728/2025 mengenai permohonan penelitian mahasiswa sebagai berikut :

Nama : Sartika Dwi Mandala Sari

NIM : 2413353149

Pada prinsipnya kami tidak berkeberatan dan mengizinkan untuk melakukan penelitian di Laboratorium kami.

Demikian surat ini dibuat atas kerjasamanya diucapkan banyak terima kasih.

Hormat,

dr. Resti Arania, SpPA
Pimpinan Klinik/ Laboratorium
Morotai Patologi

Bandar Lampung, 16 April 2025

SERTIFIKAT KALIBRASI
CALIBRATION CERTIFICATE

No. Sertifikat : 182/BSPJIBL/KAL/III/2025
Certificate Number

IDENTITAS ALAT

Equipment Identity

1. Nama / Name : pH Meter
2. Merek / Pabrik Manufacture : InScienPro
3. Tipe / Type : XPT-11
4. Nomor Seri / Serial Number : XPT11-23073
5. Kapasitas / Capacity : 0.00-14.00 pH
6. Resolusi / Resolution : 0.1 pH
7. Tag Name : BUMA/LAB/01/053

IDENTITAS PEMILIK

Owner Identity

- Nama / Name : Puskesmas Maja
Alamat / Address : Jl. Mahkota Dewa No.2, Desa Maja, Marga Punduh

IDENTITAS STANDAR

Standard Identity

- Nama / name : Larutan Standar Buffer pH 4.00 ; 7.00 dan 10.00
Ketelusuran / Traceability : Hasil Kalibrasi yang dilaporkan tertelusur ke D-RM-15185-01-00

METODA KALIBRASI

Calibration Method

: IK, Kal-14

ACUAN

Reference

: ASTM E70-97 R02 Standard Test Method for pH of Aqueous Solutions With the Glass Electrode

HASIL KALIBRASI DAN KETIDAKPASTIAN KALIBRASI : Halaman Selanjutnya / Next Page
Result of calibration and uncertainty of calibration

ASLI
Original



Dilarang menggandakan sebagian dari isi sertifikat ini tanpa izin tertulis dari Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Bandar Lampung

HASIL KALIBRASI

Result of Calibration

NO. SERTIFIKAT : 182/BSPJIBL/KAL/III/2025
NAMA ALAT : pH Meter
TEMPAT KALIBRASI : Laboratorium Kalibrasi BSPJI Bandar Lampung
TANGGAL DITERIMA : 26 Maret 2025
TANGGAL KALIBRASI : 11 April 2025
SUHU RUANGAN : $(20,55 \pm 0,27)^{\circ}\text{C}$
KELEMBABAN : $(61,1 \pm 5,5)\% \text{RH}$

No	Unit Under Test (UUT) (pH)	Koreksi <i>Correction</i> (pH)	Ketidakpastian <i>Uncertainty</i> ($\pm$ pH)
1.	4,10	-0,10	0,060
2.	7,02	-0,02	0,092
3.	9,70	0,29	0,098

Catatan :

1. Hasil kalibrasi di atas ditetapkan pada suhu 20°C , sesuai dengan CoA
2. Hasil yang ditampilkan hanya berhubungan dengan peralatan yang dikalibrasi
3. Ketidakpastian yang dilaporkan adalah ketidakpastian bentangan dengan tingkat kepercayaan 95% dan faktor cakupan $k=2$

**DIPERIKSA OLEH
MANAJER TEKNIK**

Buana Prawira Negara

----- Akhir Sertifikat / End of Certificate -----

Dilarang menggandakan sebagian dari isi sertifikat ini tanpa izin tertulis dari Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Bandar Lampung

Laboratorium Patologi Anatomi Morotai Patologi Bandar Lampung	PROSEDUR PROSESING JARINGAN PATOLOGI ANATOMIK		
	NO. Dokumen : IV	No. Revisi : -	Halaman :
PROSEDUR TETAP PROSESING JARINGAN	Tanggal Terbit 5 Januari 2019	 Ditetapkan Kepala Lab PA Morotai Patologi <u>Dr. Resti Arania, Sp.PA</u>	
PENGERTIAN	Prosesing jaringan secara manual meliputi tahan fiksasi, dehidrasi, clearing dan infiltrasi parafin.		
TUJUAN	Mempertahankan struktur sel, menghilangkan / menarik air dalam jaringan dengan cara mulai konsentrasi rendah sampai konsentrasi tinggi dan menarik keluar kadar alkohol jaringan dan mengisi pori-pori pada jaringan setelah di tinggal cairan sebelumnya (xylol).		
KEBIJAKAN	Buku Pedoman Pelayanan Patologi Anatomi Indonesia, Kementerian Kesehatan RI tahun 2015.		
PROSEDUR	1. Pemrosesan spesimen berlangsung dengan manual yang mencakup Program jaringan kecil (Biopsi) : - Fiksasi : Formalin buffer2 jam suhu 37°C - dehidrasi dengan alkohol bertingkat - Alkohol 70%15 menit suhu 40°C - Alkohol 80%15 menit suhu 40°C - Alkohol 96%15 menit suhu 40°C - Etanol30 menit suhu 40°C		

- clearing dengan xylol

Xylol I	15 menit suhu 40°C
Xylol II	15 menit suhu 40°C
Xylol III	15 menit suhu 40°C

- dan infiltrasi dengan parafin cair.
Paraffin yang digunakan hendaknya memiliki titik leleh

Parafin I	15 menit suhu 65°C
Parafin II	15 menit suhu 65°C

Program jaringan besar :

- Fiksasi :

Formalin buffer	3 jam suhu 37°C
-----------------	-----------------
- dehidrasi dengan alkohol bertingkat

Alkohol 70%	60 menit suhu 40°C
Alkohol 80%	60 menit suhu 40°C
Alkohol 96%	60 menit suhu 40°C
Etanol	120 menit suhu 40°C

- clearing dengan xylol

Xylol I	90 menit suhu 40°C
Xylol II	90 menit suhu 40°C
Xylol III	90 menit suhu 40°C

- dan infiltrasi dengan parafin cair.
Paraffin yang digunakan hendaknya memiliki titik leleh

Parafin I	60 ^o , 120 ^o 90 menit suhu 57°C
Parafin II	90 menit suhu 57°C

- Proses penanaman spesimen (embedding) untuk meletakkan dan memposisikan spesimen sedemikian rupa dalam paraffin
- Proses pemotongan dengan mikrotom
Pemotongan kasar (trimming) untuk menghilangkan kelebihan parafin di atas spesimen.
Pemotongan halus (sectioning) setebal 3 mikron. Khusus untuk spesimen biopsi ginjal dilakukan pemotongan setebal 1 mikron
- Proses pengembangan pita paraffin spesimen menggunakan waterbath berisi air hangat dengan suhu tidak lebih dari 60 derajat (titik didih paraffin liat petunjuk produsen) dan ditempelkan pada slide. Slide yang telah tertempel pita paraffin perlu ditiriskan dengan posisi miring secukupnya untuk mencegah gelembung udara yang

	akan membuat lubang 5. Proses pemanasan dengan menggunakan hotplate dengan suhu sesuai titik leleh paraffin (lihat petunjuk produsen) 6. Proses pewarnaan slaid : Pewarnaan slaid Hematoksilin dan Eosin 7. Proses penutupan slaid menggunakan kaca penutup yang bersih, rata, dan tipis, dengan perekat (mounting medium) dengan indeks retraksi baik
KEWENANGAN	ATLM (Ahli Teknik Laboratorium Medik)
UNIT TERKAIT	Bagian Administrasi

Laboratorium Patologi Anatomi Morotai Patologi Bandar Lampung	PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN		
	NO. Dokumen : VI	No. Revisi :-	Halaman :-
PROSEDUR TETAP PEWARNAAN HEMATOKSILIN EOSIN	Tanggal Terbit 5 Januari 2019	Ditetapkan Kepala Lab PA Morotai Patologi Dr.Resti Arania, Sp.PA	
PENGERTIAN	Sebuah tehnik yang digunakan untuk memberikan warna pada organel sel sehingga lebih mudah diamati dibawah mikroskop.		
TUJUAN	Agar dapat mempertajam atau memperjelas berbagai elemen jaringan terutama sel-selnya, sehingga dapat dibedakan dan ditelaah dengan mikroskop.		
KEBIJAKAN	Buku Pedoman Pelayanan Patologi Anatomi Indonesia, Kementerian Kesehatan RI tahun 2015.		
PROSEDUR	Cara pulasan pewarnaan Hematoksilin Eosin : a. Deparanisasi dengan menggunakan memasukkan slide unstained kedalam • Xylol I 5 menit • Xylol II 5 menit b. Masukkan ke dalam alkohol absolut 1 menit c. Masukkan ke dalam alkohol 96% 2 menit d. Masukkan ke dalam alkohol 70% 2 menit e. Rendam dengan quadest 2 menit f. Masukkan ke dalam Harris-Hematoksilin 7-10 menit g. Rendam/ bilas dengan air mengalir 1 menit h. Masukkan ke dalam Eosin 1-2 menit i. Masukkan ke dalam alkohol 70% 2 menit j. Masukkan ke dalam alkohol 96% 2 menit k. Masukkan ke dalam alkohol absolut 2 menit l. Masukkan ke dalam Xylol I 1 menit		

	l. Masukkan ke dalam alkohol absolut II 2 menit m. Masukkan ke dalam Xylol I 5 menit n. Masukkan ke dalam Xylol II 5 menit o. Keringkan sampel, tetesi dengan entelan (mounting) secukupnya dan tutup dengan cover glass Beri Identitas pasien pada slide
KEWENANGAN	ATLM
UNIT TERKAIT	- Bagian administrasi

Log Book Penelitian

Nama Mahasiswa : Sartika Dwi Mandala Sari
Nim : 2413353149
Judul skripsi : Pengaruh Penyesuaian pH Reagen Pewarna Hematoxylin dan Eosin Lama Terhadap Kualitas Hasil Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara
Pembimbing Utama : Lendawati,SKM.,MM.,M.Si
Pembimbing Pendamping : Siti Aminah, S.Pd. M.Kes

No.	Hari/Tanggal	Jenis Kegiatan	Paraf
1	14/5/2025	Persiapan alat dan Bahan di Lab moratar	A
2	14/5/2025	alat yang dibawa sendiri seperti pH meter, larutan as-asetat & NaOH, & APD	A
3		Potong grossing oleh teknis Lab moratar Jar- Kanker payudara.	A
2	15/5/2025	Prosesing jaringan	B
3	19/5/2025	Pemotongan mikrotomis dan pewarnaan preparat	B
		Mengukur pH Reagen HE baru dan pH meter Mengukur pH reagen HE lama dan pH meter	B
		Melakukan penyesuaian reagen HE, lalu melakukan perarnaan, Mounting dan Labeling	B
		Preparat siap dibaca dr sp. PA	B

Bandar Lampung, 28 Mei 2024



Dr. Resti Arania, Sp.PA

Lampiran 9.

**Penilaian Kualitas Pewarnaan Hematoxylin Eosin
Menggunakan Reagen Baru (kontrol)**

No Slide	Inti Sel	Sitoplasma	Intestitas Pewarnaan	Kontras Pewarnaan	Skor	Tidak Baik (1-5)	Baik (6-8)
1	2	2	2	2	8		Baik
2	2	2	2	2	8		Baik
3	2	2	2	2	8		Baik
4	2	2	2	2	8		Baik
5	2	2	2	2	8		Baik
6	2	2	2	2	8		Baik
7	2	2	2	2	8		Baik
8	2	2	1	2	7		Baik
9	2	2	1	2	7		Baik

**Penilaian Kualitas Pewarnaan Hematoxylin Eosin
lama 3 bulan pemakaian (perlakuan 1)**

No Slide	Inti Sel	Sitoplasma	Intestitas Pewarnaan	Kontras Pewarnaan	Skor	Tidak Baik (1-5)	Baik (6-8)
1	2	2	2	2	8		Baik
2	2	2	1	2	7		Baik
3	1	2	1	1	5	Tidak baik	
4	1	1	1	1	4	Tidak baik	
5	2	1	1	2	6	Tidak baik	
6	2	1	1	2	6	Tidak baik	
7	2	1	1	2	6	Tidak baik	
8	2	2	1	2	7		Baik
9	2	1	1	1	5	Tidak Baik	

**Penilaian Kualitas Pewarnaan Hematoxylin Eosin
lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH (perlakuan 2)**

No Slide	Inti Sel	Sitoplasma	Intestitas Pewarnaan	Kontras Pewarnaan	Skor	Tidak Baik (1-5)	Baik (6-8)
1	1	2	1	1	5	Tidak Baik	
2	1	1	1	1	4	Tidak Baik	
3	2	2	2	1	7		Baik
4	2	1	1	1	5	Tidak Baik	
5	1	1	1	1	4	Tidak Baik	
6	2	2	1	2	7		Baik
7	2	2	1	1	6	Tidak Baik	
8	1	1	1	2	5	Tidak Baik	
9	1	1	1	1	4	Tidak Baik	

Bandar Lampung, 28 Mei 2024



dr. Resti Arania, Sp.PA

[DataSet0]

Kelompok

Case Processing Summary

Kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Total Skor	Kelompok kontrol	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	Kelompok perlakuan 1	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	Kelompok perlakuan 2	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Total Skor	Kelompok 1 (kontrol)	,471	9	,000	,536	9	,000
	Kelompok 2 (perlakuan 1)	,167	9	,200*	,963	9	,830
	Kelompok 3 (perlakuan 2)	,240	9	,143	,851	9	,076

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Salah satu Nilai Sig. yaitu kelompok 1 $0,000 < 0,05$ artinya tidak terdistribusi normal.

LANJUT KE UJI KRUSKAL WALLIS.

[DataSet0]

Kruskal-Wallis Test

Ranks		
Kelompok	N	Mean Rank
Kelompok kontrol	9	21,94
Kelompok perlakuan 1	9	11,94
Kelompok perlakuan 2	9	8,11
Total	27	

Test Statistics ^{a,b}	
	Total Skor
Chi-Square	15,318
df	2
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Kelompok

Nilai Asymp. Sig. $0,000 < 0,05$, artinya ada perbedaan signifikan antar kelompok.

[DataSet0]

Mann-Whitney Test 1

Ranks			
Kelompok		N	Mean Rank
Kelompok kontrol		9	13,17
Total Skor	Kelompok perlakuan 1	9	5,83
Total		18	

Test Statistics ^a	
	Total Skor
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	52,500
Z	-3,075
Asymp. Sig. (2-tailed)	,002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^b

Nilai Asymp. Sig. (2-tailed) $0,002 < 0,05$, artinya ada perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1.

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

[DataSet0]

Mann-Whitney Test 2

Ranks			
Kelompok		N	Mean Rank
Kelompok kontrol		9	13,78
Total Skor	Kelompok perlakuan 2	9	5,22
Total		18	

Test Statistics ^a	
	Total Skor
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	47,000
Z	-3,537
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

Nilai Asymp. Sig. (2-tailed) $0,000 < 0,05$, artinya ada perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 2.

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

[DataSet0]

Mann-Whitney Test 3

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Total Skor	Kelompok perlakuan 1	9	11,11	100,00
	Kelompok perlakuan 2	9	7,89	71,00
	Total	18		

Test Statistics ^a	
	Total Skor
Mann-Whitney U	26,000
Wilcoxon W	71,000
Z	-1,315
Asymp. Sig. (2-tailed)	,189
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,222 ^b

Nilai Asymp. Sig. (2-tailed) 0,189 > 0,05 , artinya tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2.

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

LAMPIRAN 11.



Gambar 1. Jaringan Kanker Payudara



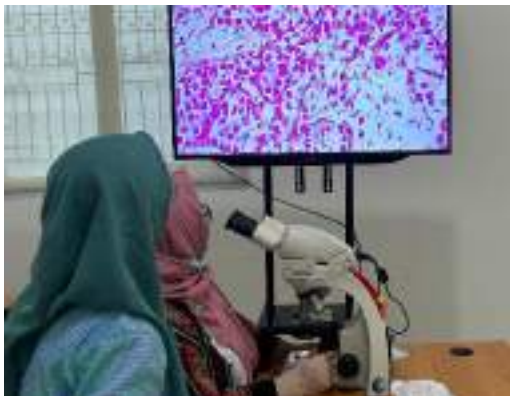
Gambar 2. Prosesing Jaringan



Gambar 3. Blok Jaringan



Gambar 4. Pemotongan Mikrotom



Gambar 5. Penjelasan hasil mikroskopis preparat histopatologi oleh dr. Resti,Sp.PA





Gambar 6. Pengukuran pH reagen Hematoxylin baru



Gambar 7. Pengukuran pH reagen hematoxylin lama 3 bulan pemakaian



Gambar 8. Pengukuran pH reagen Eosin baru



Gambar 9. Pengukuran pH reagen lama 3 bulan pemakaian



Gambar 10. Pengukuran pH Larutan asam asetat



Gambar 11. Pengukuran pH larutan Naoh



Gambar 12. Penambahan larutan asam asetat pada hematoxylin lama



Gambar 13. Pengukuran larutan Naoh pada eosin lama



Gambar 14. Pengukuran pH Hematoxylin lama setelah penyesuaian



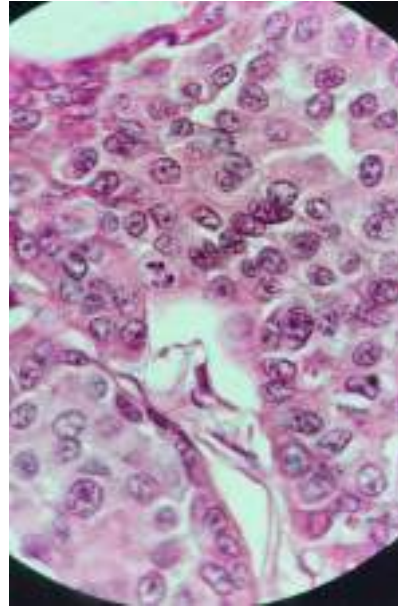
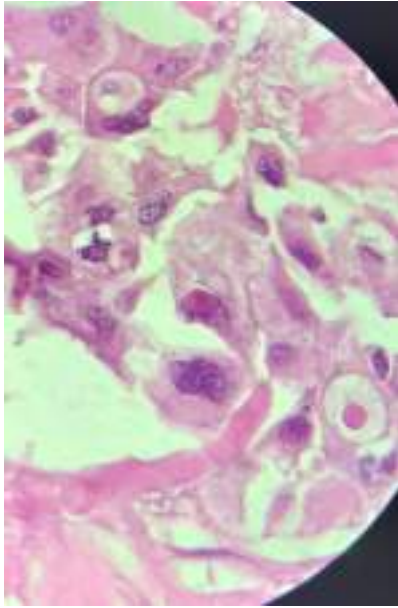
Gambar 15. Pengukuran pH Eosin lama setelah penyesuaian



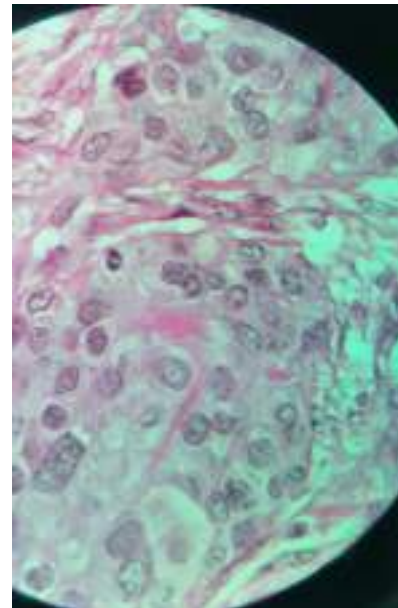
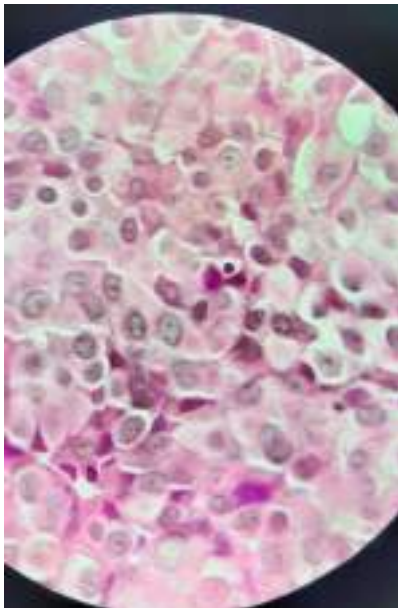
Gambar 16. Pewarnaan



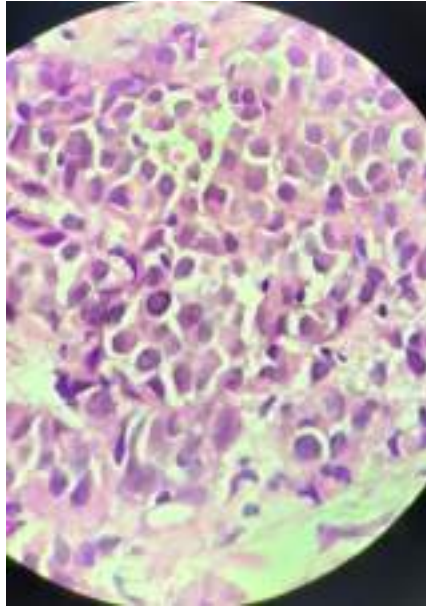
Gambar 17. Mounting



Gambar 18. Hasil preparat kontrol menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin baru pada kontrol 1 dan kontrol 2



Gambar 19. Hasil preparat menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian (preparat nomor 2 dan nomor 9)



Gambar 20. Hasil preparat menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH (preparat nomor 11)

ORIGINALITY REPORT

14%

SIMILARITY INDEX

14%

INTERNET SOURCES

3%

PUBLICATIONS

6%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

repository.poltekkes-tjk.ac.id

Internet Source

5%

2

www.scribd.com

Internet Source

1%

3

pdfcoffee.com

Internet Source

1%

4

repository.karyailmiah.trisakti.ac.id

Internet Source

1%

5

Submitted to Badan PPSDM Kesehatan
Kementerian Kesehatan

Student Paper

<1%

6

repo.poltekkesdepkes-sby.ac.id

Internet Source

<1%

7

Submitted to Universitas Negeri Jakarta

Student Paper

<1%

8

Submitted to Universitas Jenderal Achmad
Yani

Student Paper

<1%

Pengaruh Penyesuaian pH Reagen Pewarna Hematoxylin Dan Eosin Lama Terhadap Kualitas Hasil Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara

Sartika Dwi Mandala Sari¹, Lendawati², Siti Aminah³

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana
Terapan Poltekkes Kesehatan Tanjungkarang

ABSTRAK

Pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE) merupakan metode standar dalam pemeriksaan histopatologi, terutama dalam penegakan diagnosis kanker payudara. Salah satu faktor yang memengaruhi kualitas pewarnaan adalah pH reagen. Reagen hematoxylin dan eosin yang telah digunakan selama tiga bulan berpotensi mengalami perubahan pH, yang dapat menurunkan kualitas hasil pewarnaan jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penyesuaian pH terhadap reagen hematoxylin dan eosin yang telah digunakan selama tiga bulan terhadap kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan kanker payudara. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2025 di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan tiga kelompok perlakuan: reagen baru (kontrol), reagen lama tanpa penyesuaian pH (perlakuan 1), dan reagen lama yang telah disesuaikan pH-nya menggunakan larutan asam asetat dan NaOH (perlakuan 2). Sebanyak 27 preparat dianalisis menggunakan metode skoring berdasarkan empat parameter: inti sel, sitoplasma, intensitas, dan kontras pewarnaan. Analisis data dilakukan dengan uji Kruskal-Wallis. Hasil menunjukkan nilai p-value sebesar 0,000 ($<0,05$), yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Namun, penyesuaian pH pada reagen lama tidak memberikan perbaikan kualitas pewarnaan pada preparat jaringan kanker payudara.

Kata Kunci : Hematoxylin, Eosin, pH Reagen, Pewarnaan Jaringan, Kanker Payudara

The Effect of pH Adjustment in Aged Hematoxylin and Eosin Staining Reagents on the Staining Quality of Breast Cancer Tissue Preparations

ABSTRACT

Hematoxylin and Eosin (HE) staining is a standard method in histopathological examinations, particularly for diagnosing breast cancer. One factor influencing staining quality is the pH of the reagents. Hematoxylin and eosin reagents that have been used for three months are prone to pH changes, which may reduce the staining quality of tissue sections. This study aims to determine the effect of pH adjustment on hematoxylin and eosin reagents used for three months on the staining quality of breast cancer tissue preparations. The research was conducted from March to May 2025 at the Morotai Pathology Clinic in Bandar Lampung City. This experimental study involved three treatment groups: fresh reagents (control), aged reagents without pH adjustment (treatment 1), and aged reagents with pH adjustment using acetic acid and NaOH (treatment 2). A total of 27 slides were analyzed using a scoring method based on four parameters: nuclear detail, cytoplasmic clarity, staining intensity, and contrast. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test. The results showed a p-value of 0.000 (<0.05), indicating a significant difference between the control and treatment groups. However, pH adjustment of aged reagents did not improve the staining quality of breast cancer tissue preparations.

Keywords : Hematoxylin, Eosin, Reagent pH, Tissue Staining, BreastCancer

Corresponding Author:

Sartika Dwi Mandala Sari

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Program Studi Teknologi Laboratorium Medis

Program Sarjana Terapan, Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, Jalan Soekarno-Hatta No. 1 Bandar Lampung,

E-mail: sartikadwimandalasari@gmail.com

Kanker payudara adalah penyakit di mana sel-sel payudara abnormal tumbuh tak terkendali dan membentuk tumor. Sel kanker dapat menyebar ke jaringan payudara di dekatnya (invasi). Hal ini menciptakan tumor yang menyebabkan benjolan atau penebalan. Jika tidak ditangani, tumor dapat menyebar ke seluruh tubuh dan berakibat fatal. Pada tahun 2022, terdapat 2,3 juta wanita yang didiagnosis menderita kanker payudara dan 670.000 kematian di seluruh dunia (WHO, 2024).

Pada pewarnaan ini, Hematoxylin yang berfungsi sebagai pewarna basa (basofilik) yang mengikat dan memberi warna biru ke struktur yang bersifat asam, seperti DNA dan RNA dalam inti sel, sedangkan Eosin adalah pewarna asam (eosinofilik) yang mengikat dan memberi warna merah atau merah muda ke struktur yang lebih basa, seperti protein sitoplasma (Digambiro & Parwanto, 2024).

Metode

Data di analisis menggunakan uji *Kruskal Wallis Test* dan dinilai berdasarkan 4 parameter penilaian yaitu, intisel, sitoplasma, intensitas pewarnaan dan Kontras pewarnaan. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Mei 2025 dengan tempat penelitian di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung.

Berdasarkan hasil penelitian tentang Tabel pengaruh peneyusain ph reagen pewarna hematoxylin dan eosin lama terhadap kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan kanker terhadap 27 sediaan yang memenuhi kriteria inklusi pada Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung pada bulan Maret-Mei 2025 diperoleh data sebagai berikut:

Hematoxylin dan Eosin lama 3 bulan pemakaian tanpa penyesuaian pH

		Rusun Duta						Kontras Pewarnaan	
		Intisel		Sitoplasma		Intensitas Pewarnaan			
		N	%	N	%	N	%	N	%
Baik		9	100	9	100	7	77,8	9	100
Tidak Baik		0	0	0	0	2	22,2	0	0
Total		9	100	9	100	9	100	9	100

Tabel 2 Hasil Uji Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara Menggunakan Hematoxylin dan Eosin lama 3 bulan pemakaian tanpa penyesuaian Ph

	Intisel		Sitoplasma		Intensitas Pewarnaan		Kontras Pewarnaan	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Baik	7	77,8	4	44,4	1	11,1	6	66,7
Tidak Baik	2	22,2	5	55,6	8	88,9	3	33,3
Total	9	100	9	100	9	100	9	100

Tabel 3 Hasil Uji Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara Menggunakan Hematoxylin dan Eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian Ph

Hasil Uji Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara Menggunakan Hematoxylin dan Eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH

	Intisel		Sitoplasma		Intensitas Pewarnaan		Kontras Pewarnaan	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Baik	4	44,4	4	44,4	1	11,1	2	22,2
Tidak Baik	5	55,6	5	55,6	8	88,9	7	77,8
Total	9	100	9	100	9	100	9	100

Berdasarkan tabel 3 hasil kualitas baik pewarnaan hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH pada preparat histopatologi jaringan kanker payudara, untuk parameter inti sel 44,4%, sitoplasma 44,4%, intensitas pewarnaan 11,1% dan kontras pewarnaan 22,2%.

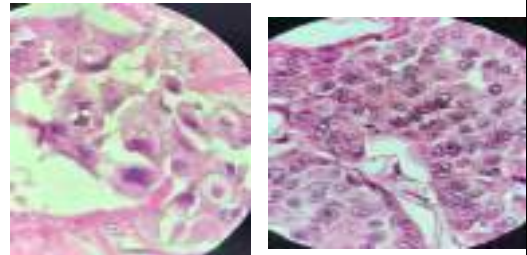
Tabel 2 Hasil Uji Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara Menggunakan Hematoxylin dan Eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH

Kualitas Baik						
Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Preparat	Intisel	Sitoplasma	Inten sitas pewarnaan	Kontra Pewarnaan	Rerata Skor	
1.Hematoxylin dan Eosin Baru (Kontrol)	100	100	100	100	7,8	
2.Hematoxylin dan Eosin lama pemakai 3 bulan tanpa penyesuaian pH	77,8	44,4	11,1	66,7	6	
3.Hematoxylin dan Eosin lama pemakaian 3 bulan dengan penyesuaian pH	44,4	44,4	11,1	22,2	5,2	

Berdasarkan tabel 4 uji kualitas pewarnaan menggunakan reagen hematoxylin eosin baru sebagai kontrol memiliki rerata skor maksimum yaitu 8, kualitas pewarnaan menggunakan reagen hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian memiliki rerata skor 6,38 dari skor maksimum 8, dan kualitas pewarnaan menggunakan reagen hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH memiliki rerata skor 5,94 dari skor maksimum 8, yang berarti pewarnaan dengan hematoxylin eosin baru sebagai kontrol memiliki hasil kualitas pewarnaan terbaik untuk parameter inti sel, sitoplasma, intensitas pewarnaan dan kontras pewarnaan dibanding perlakuan lainnya. Kualitas inti sel, intensitas pewarnaan, dan kontras pewarnaan pada pewarnaan hematoxylin

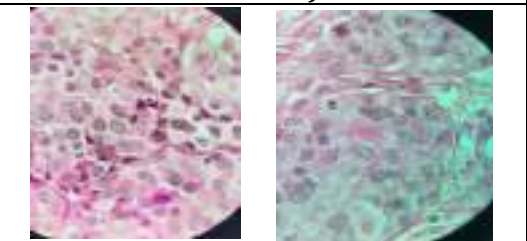
eosin lama 3 bulan pemakaian lebih baik dibandingkan pewarnaan hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH. Sedangkan untuk kualitas sitoplasma didapatkan hasil skor yang sama antara pewarnaan hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian tanpa penyesuaian pH dan dengan penyesuaian pH.

Hasil pemeriksaan preparat menggunakan larutan pewarnaan hematoxylin dan eosin baru sebagai kontrol



eosin baru sebagai kontrol dilakukan pada 2 slide dan didapatkan hasil kualitas baik, yaitu pada inti sel yaitu 100% (2 preparat), sitoplasma yaitu 100% (2 preparat), intensitas pewarnaan yaitu 100% (2 preparat) dan kontras pewarnaan yaitu 100% (2 preparat).

Hasil preparat menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian (preparat nomor 2 dan nomor 9)



larutan pewarna hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian didapatkan hasil baik pada inti sel yaitu 75% (12 preparat) dan hasil tidak baik 25% (4 preparat), Sitoplasma memiliki kualitas baik 62,5% (10 preparat) dan hasil tidak baik 37,5% (6 preparat), Intensitas pewarnaan memiliki hasil baik yaitu 37,5% (6 preparat) dan hasil tidak baik 62,5% (10 preparat) dan kontras pewarnaan memiliki hasil baik yaitu 62,5% (10 preparat) dan hasil tidak baik 37,5% (6 preparat).

Hasil preparat menggunakan pewarnaan hematoxylin eosin lama 3 bulan



Hasil pemeriksaan preparat menggunakan larutan pewarna hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH didapatkan hasil baik pada inti sel yaitu 56,2% (9 preparat) dan hasil tidak baik 43,8% (7 preparat), Sitoplasma memiliki kualitas baik 62,5% (10 preparat) dan hasil tidak baik 37,5% (6 preparat), Intensitas pewarnaan memiliki hasil baik yaitu 31,2% (5 preparat) dan hasil tidak baik 68,8% (11 preparat) dan kontras pewarnaan memiliki hasil baik yaitu 43,8% (7 preparat) dan hasil tidak baik 56,2% (9 preparat).

Pembahasan

Berdasarkan kualitas pewarnaan menggunakan reagen hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH memiliki rerata skor 5,94 dari skor maksimum 8. Pengukuran pH dilakukan menggunakan alat pH meter, didapatkan nilai pH reagen hematoxylin baru yaitu 2,6 dan pH reagen eosin baru yaitu 4,8, kemudian pH reagen hematoxylin lama 3 bulan pemakaian yaitu 2,9, dan pH reagen eosin lama 3 bulan pemakaian yaitu 4,6. Selisih nilai pH yang diperoleh tersebut disesuaikan dengan penambahan larutan asam asetat yang diteteskan pada reagen hematoxylin lama dan naoh yang diteteskan pada reagen eosin lama. Dan hasil rerata skor pada kualitas preparat menggunakan reagen hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian yaitu 6,38 dengan nilai inti sel 75%, sitoplasma 62,5%, intensitas pewarnaan 37,5% dan kontras pewarnaan 62,5% yang artinya memiliki nilai baik. Sedangkan hasil rerata skor pada kualitas preparat menggunakan reagen hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian dengan penyesuaian pH yaitu 5,94 dengan nilai inti sel 56,2%, sitoplasma 62,5%, intensitas pewarnaan 31,2% dan kontras pewarnaan 43,8% yang artinya memiliki nilai tidak baik

Daftar Pustaka

Bancroft, J. D., & Layton, C. (2018). Chapter 10 - The hematoxylin and eosin. In Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques (pp. 126–138).

Brown, S. (2012). *The Science and Application of Hematoxylin and Eosin Staining*. Robert H. Lurie Comprehensive Cancer Center, Northwestern University. Retrieved from the uploaded document.

Conde-Sousa, E., Vale, J., Feng, M., Xu, K., Wang, Y., Della Mea, V., ... & Polónia, A. (2022). HEROHE Challenge: Predicting HER2 Status in Breast Cancer from Hematoxylin–Eosin Whole-Slide Imaging. *Journal of Imaging*, 8(8), 213. <https://doi.org/10.3390/jimaging8080213>

Coughlin, S. S., & Ekwueme, D. U. (2009). Breast cancer as a global health concern. *Cancer Epidemiology*, 33(5), 315–318. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2009.10.003>

Dani, Filda Sari. 2023. *Perbandingan Hasil Kualitas Pewarnaan Hematoxylin- Eosin Baru Dan Lama Pada Preparat Histopatologi Kanker Payudara Di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung*. Skripsi. Fakultas Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjung Karang

Digambiro, R. A. & Parwanto, E., 2024. *Panduan prosesi dan pewarnaan jaringan dalam histopatologi*. Klaten: Penerbit Lakeisha.

Digambiro, R. A. & Parwanto, E., 2024. *Panduan prosesi dan pewarnaan jaringan dalam histopatologi*. Klaten: Penerbit Lakeisha.

Hadi, A. G., Humedy, E. H., Saddam, N. S., & Abd-alameer, F. S. (2016). *Spectrophotometric study of complex formation between hematoxylin and Al^{3+} and Fe^{3+} ions*. International Journal of PharmTech Research, 9(5), 292–298. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/304952204>

Kemenkes. 2022. *Kanker Payudara Paling Banyak di Indonesia, Kemenkes Targetkan Pemerataan Layanan Kesehatan*. <https://sehatnegeriku.kemkes.go.id/baca/umum/202202/1639254/kanker-payudara-paling-banyak-di-indonesia-kemenkes-targetkan-pemerataan-layanan-kesehatan/> (Diakses: 3Desember2024)

- Khristian, E. ;, & Dewi, I. (2017). Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik : Sitohistopatologi. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia.
- Kiernan, J. A. (2015). *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice* (5th ed.). Scion Publishing.
- Llewellyn, Bryan D. " Memformulasikan Hematoksilin Tawas" *Stainsfile* , <https://www.stainsfile.com/theory/methods/hematoxylin-eosin-staining/formulating-alum-hematoxylin/> Diakses pada 12 Maret 2025.
- Lisowski, Andrew R. 2021. *Dasar-dasar Pewarnaan H&E*: Leica Biosystems
- Mubarak, M., 2023. Quality Assurance in Histopathology Laboratories. *Journal of Clinical and Translational Pathology*, 3(4), pp. 184–189. Available at: <https://doi.org/10.14218/JCTP.2023.00035>
- Nadiyah, Intan. 2021. *Perbedaan variasi pH Eosin Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin Terhadap Gambaran Histologi Inti Sel Dan Sitoplasma Sel Hepar Mencit*. Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta
- PDQ Adult Treatment Editorial Board. 2024. *Breast Cancer Treatment (PDQ®): Patient Version*. National Cancer Institute. Diakses dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65969/>
- Rahmadani, Aviani Fitri.2018. *Pengaruh Lama Fiksasi BNF 10% Dan Metanol Terhadap Gambaran Mikroskopis Jaringan Denagn Pewarnaan HE (Hematoxylin-Eosin)*. Skripsi. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang
- Radzuan, H. M., Omar, W. F. N. W., & Halim, M. D., 2020. Effect of pH on H&E staining in small and large intestines of rats. *KRD Conference Proceedings*. <https://journals.iium.edu.my/ijahs/index.php/IJAHS/article/view/577/543>
- Rolls, Geoffrey; Davies; Gallagher;. 2020. *101 Langkah Untuk Histologi Yang Lebih Baik* : Leica Biosystems
- Sampias, Cindy: Rolls, Geoffrey:, 2020. *H&E Staining Overview: A Guide to Best Practices* : Leica Biosystems Accessed January 3, 2025. <https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/he-staining-overview-a-guide-to-best-practices/>.
- Simanullang, Agnes. 2022. *Validasi Pemeriksaan Ultrasonografi Payudara Terhadap Pemeriksaan Histopatologi Untuk Mendiagnosis Kanker Payudara Di RSUD Dr. Pirngadi Kota Medan Tahun 2019-2020*. Skripsi. Fakultas Pendidikan Kedokteran Universitas HKBP Nommensen
- Soesilawati, P, 2020. *Histologi Kedokteran Dasar*, Surabaya: Airlangga University Press.
- Sravya, T., Rao, G. V., Kumari, M. G., Sagar, Y. V., Sivarajani, Y., & Sudheerkanth, K. (2018). Evaluation of biosafe alternatives as xylene substitutes in hematoxylin and eosin staining procedure: A comparative pilot study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 22(1), 148. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_172_16
- Titford, M. (2009). The long history of hematoxylin. *Biotechnic & Histochemistry*, 84(4), 159–172.
- Tomlinson-Hansen, S. E., Budh, D. P., & Sapra, A., 2024. *Breast Cancer Screening in the Average-Risk Patient*. StatPearls Publishing. Diakses dari <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32310510>

