



PENGUNAAN *METHYLENE BLUE* SEBAGAI PENGGANTI HEMATOKSILIN PADA SEDIAAN HISTOLOGI

Naysilla Wardaniya¹, Juliana Christyaningsih^{2*}, Lully Hanni Endarini³, Anita Dwi Anggraini⁴

Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya

e-mail: nwardaniyaa@gmail.com¹, juliana.christy123@gmail.com^{2*}, lendarini@poltekkes-surabaya.ac.id³, anita.anggraini40@poltekkes-surabaya.ac.id⁴

Diterima: 28/07/2026; Direvisi: 05/08/2026; Diterbitkan: 23/08/2026

ABSTRAK

Pewarnaan sediaan histologi berperan penting dalam memperjelas struktur sel dan jaringan. Hematoksin sebagai pewarna inti pada metode Hematoksin-Eosin (HE) memiliki keterbatasan, antara lain harga yang relatif mahal dan stabilitas penyimpanan yang kurang baik, sehingga diperlukan alternatif pewarna yang lebih ekonomis, seperti *methylene blue*. Penelitian ini bertujuan mengetahui penggunaan *methylene blue* sebagai pengganti hematoksin pada sediaan histologi jaringan hati mencit. Penelitian menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan kelompok kontrol pewarnaan Hematoksin-Eosin dan kelompok perlakuan *methylene blue* konsentrasi 10%, 11%, dan 13%. Kualitas preparat dinilai secara mikroskopis menggunakan metode skoring berdasarkan kejelasan inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna, kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis dan Mann–Whitney. Hasil menunjukkan kelompok kontrol menghasilkan 100% preparat berkategori baik. Pada *methylene blue* 10% diperoleh 16,7% preparat berkategori baik dan 83,3% cukup baik, konsentrasi 11% menghasilkan 83,3% cukup baik dan 16,7% tidak baik, sedangkan konsentrasi 13% menghasilkan 66,6% cukup baik dan 33,3% tidak baik. Uji Kruskal–Wallis menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p=0,000$; $p<0,05$). Dengan demikian, *methylene blue* berpotensi digunakan sebagai pewarna alternatif pengganti hematoksin, terutama pada konsentrasi 10% yang menghasilkan kualitas preparat terbaik di antara kelompok perlakuan.

Kata Kunci: hematoksin, *methylene blue*, pewarnaan

ABSTRACT

Histological staining plays an essential role in enhancing the visualization of cellular and tissue structures. Hematoxylin, the nuclear stain used in the Hematoxylin–Eosin (HE) method, has several limitations, including relatively high cost and limited storage stability, necessitating the development of more economical alternatives such as *methylene blue*. This laboratory experimental study aimed to evaluate the use of *methylene blue* as a substitute for hematoxylin in mouse liver histological sections. The control group was stained using the Hematoxylin–Eosin method, while the treatment groups received *methylene blue* at concentrations of 10%, 11%, and 13%. Slide quality was evaluated microscopically using a scoring method based on nuclear clarity, cytoplasmic appearance, and color uniformity, followed by Kruskal–Wallis and Mann–Whitney analyses. The control group produced 100% good-quality slides. The 10% *methylene blue* group yielded 16.7% good and 83.3% fairly good slides. The 11% concentration produced 83.3% fairly good and 16.7% poor slides, whereas the 13% concentration resulted in 66.6% fairly good and 33.3% poor slides. The Kruskal–Wallis test revealed a significant difference among the groups ($p=0.000$; $p<0.05$). These findings indicate that *methylene blue*, particularly at a concentration of 10%, has potential as an alternative nuclear stain to hematoxylin because it produced the best staining quality among the treatment groups.

Keywords: hematoxylin, methylene blue, staining



PENDAHULUAN

Histologi merupakan salah satu bidang ilmu biologi yang berfokus pada kajian struktur mikroskopis sel dan jaringan (Amelia & Baiturrahmah, 2020). Keakuratan pengamatan struktur jaringan sangat bergantung pada kualitas preparat histologi yang dihasilkan melalui serangkaian tahapan histoteknik. Tahapan tersebut meliputi proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, pemotongan jaringan (*sectioning*), hingga pewarnaan. Ketepatan pada tahap fiksasi turut menentukan kualitas akhir preparat, karena variasi suhu dan lama fiksasi dapat memengaruhi derajat kekontrasan warna inti dan sitoplasma yang dihasilkan; fiksasi jaringan hati tikus pada suhu 37°C selama 1,5 jam terbukti memberikan kualitas preparat terbaik dibandingkan variasi waktu dan suhu lainnya (Muthiawati, Wiryanti, Durachim, & Sundara, 2023). Selain itu, ketebalan potongan jaringan pada tahap *sectioning* turut memengaruhi kejelasan hasil pewarnaan, sebagaimana ditunjukkan pada preparat kulit mencit yang menghasilkan kualitas pewarnaan terbaik pada ketebalan 6 µm dibandingkan 3 µm maupun 9 µm (Nazhiifah & Sofyanita, 2023). Setiap tahapan memiliki fungsi yang saling berkaitan, namun proses pewarnaan menjadi salah satu tahap yang paling menentukan karena bertujuan meningkatkan perbedaan kontras antara komponen jaringan, seperti inti sel, sitoplasma, dan struktur jaringan lainnya. Dengan adanya pewarnaan yang optimal, detail morfologi jaringan dapat terlihat lebih jelas saat diamati menggunakan mikroskop sehingga mempermudah proses identifikasi struktur normal maupun perubahan patologis (Amelia & Baiturrahmah, 2020).

Metode pewarnaan yang paling sering dipilih dalam pembuatan sediaan histologi adalah Hematoksilin-Eosin (HE). Hematoksilin memberikan warna biru pada inti sel melalui ikatannya dengan asam nukleat, sedangkan eosin menghasilkan warna merah muda pada sitoplasma dan jaringan ikat. Kombinasi kedua pewarna tersebut mampu menghasilkan perbedaan warna yang jelas sehingga memudahkan identifikasi struktur jaringan normal maupun perubahan patologis. Oleh karena itu, metode HE masih menjadi standar utama dalam laboratorium histopatologi, bahkan dikombinasikan dengan metode lain seperti *Periodic Acid-Schiff* untuk mengevaluasi kerusakan jaringan hepar mencit yang diinduksi aloksan (Putri, Khristian, & Durachim, 2023; Hidayat & Dewi, 2024). Namun, kualitas pewarnaan dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti kondisi reagen, ketebalan irisan jaringan, waktu pewarnaan, dan proses diferensiasi. Pemilihan larutan fiksatif turut berpengaruh, sebagaimana perbandingan antara *neutral buffer formalin* 10% dan etanol 50% yang menunjukkan perbedaan derajat penyusutan dan artefak pada jaringan ginjal (Salsabila, Durachim, Wiryanti, & Rahmat, 2023). Faktor lama penyimpanan blok parafin sebelum pewarnaan juga terbukti memengaruhi kualitas akhir preparat (Duda, Rahmawati, & Nailufar, 2025). Selain itu, penggunaan agen *clearing xylol* yang bersifat toksik mulai digantikan dengan bahan yang lebih ramah lingkungan, misalnya minyak zaitun yang mampu menghasilkan kualitas pewarnaan HE sebanding pada jaringan kulit dan hepar mencit (Sofyanita, Iswara, & Priyatno, 2022; Wibowo & Maulani, 2024), maupun pada tahap deparafinisasi menggunakan *virgin coconut oil* (Badjuri, Durachim, Wiryanti, Riyani, & Dani, 2023) dan minyak kenanga/*ylang-ylang oil* (Putri, Diyanah, & Iswara, 2024) serta minyak zaitun dengan pemanasan sebagai larutan penjernih pada sediaan hepar mencit (Annisa, Sofyanita, Kuncara, & Surati, 2023). Ketidaktepatan pada tahapan tersebut dapat menyebabkan hasil preparat kurang optimal dan menghambat interpretasi mikroskopis (Rihanesa Diana Putri & Eko Naning Sofyanita, 2023).

Meskipun hematoksilin banyak digunakan, pewarna ini memiliki beberapa keterbatasan. Hematoksilin berasal dari ekstrak kayu *Haematoxylum campechianum* yang harus

mengalami proses oksidasi menjadi hematein serta membutuhkan mordant agar dapat berikatan dengan inti sel. Proses tersebut menyebabkan kestabilan hematoksilin lebih rendah selama penyimpanan. Selain itu, biaya yang relatif tinggi dan keterbatasan bahan baku menjadi kendala bagi beberapa laboratorium (Lorsuwannarat et al., 2024). Oleh sebab itu, diperlukan alternatif pewarna yang lebih ekonomis, stabil, dan mudah diperoleh. Sejumlah bahan pewarna alami telah diujicobakan sebagai pengganti komponen pewarnaan HE, di antaranya ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana* L.) yang mampu berperan sebagai *counterstaining* pengganti eosin meskipun belum mampu menggantikan hematoksilin dalam mewarnai inti sel (Rahmawati, Purwaning Sari, Huda, & Rousdy, 2023), serta ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang berpotensi menggantikan hematoksilin karena mampu mewarnai nukleus dengan cukup baik (Adiningsih, Rahmawati, & Nailufar, 2024).

Methylene blue merupakan salah satu pewarna yang berpotensi digunakan sebagai pengganti hematoksilin. Pewarna sintesis ini bersifat basa atau kationik sehingga mampu berikatan dengan komponen sel bermuatan negatif, terutama DNA dan RNA pada inti sel melalui interaksi elektrostatis. Ikatan tersebut menyebabkan inti sel tampak berwarna biru sehingga memiliki kemampuan pewarnaan yang menyerupai hematoksilin (Khan et al., 2022). Selain itu, *methylene blue* memiliki keunggulan berupa kelarutan yang baik dalam air, stabilitas penyimpanan yang lebih tinggi, serta harga yang lebih rendah (Charisma et al., 2025).

Beberapa penelitian menunjukkan hasil penggunaan *methylene blue* yang bervariasi berdasarkan konsentrasinya. Konsentrasi 1% dilaporkan belum memberikan hasil optimal, sedangkan konsentrasi 10% mampu menghasilkan visualisasi inti sel yang lebih jelas dibandingkan konsentrasi 15% (Rahmawati et al., 2023; Atha et al., 2025). Berdasarkan hasil tersebut, efektivitas *methylene blue* sangat dipengaruhi oleh konsentrasi yang digunakan. Namun, penelitian terdahulu umumnya hanya membandingkan konsentrasi yang memiliki rentang cukup jauh sehingga belum mampu menggambarkan perubahan kualitas pewarnaan pada rentang konsentrasi yang lebih sempit di sekitar konsentrasi optimum. Sebagai perbandingan, pada organ hati mencit ketebalan potongan jaringan yang optimal untuk menghasilkan kualitas preparat histologi yang baik dilaporkan berada pada kisaran 5 μ m (Elen, 2022), sehingga standar ketebalan tersebut turut menjadi acuan dalam penelitian ini. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi *methylene blue* sebesar 10%, 11%, dan 13% untuk mengevaluasi pengaruh peningkatan konsentrasi secara bertahap terhadap kualitas pewarnaan jaringan hati mencit. Pemilihan konsentrasi tersebut menjadi kebaruan penelitian karena memberikan interval konsentrasi yang lebih sempit dibandingkan penelitian sebelumnya, sehingga diharapkan mampu mengidentifikasi konsentrasi yang paling optimal sebagai alternatif pengganti hematoksilin. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi *methylene blue* sebagai pewarna histologi yang lebih ekonomis dengan kualitas pewarnaan yang tetap baik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui gambaran mikroskopis inti sel dan sitoplasma pada sediaan histologi hati mencit (*Mus musculus*) menggunakan *methylene blue* dengan variasi konsentrasi 10%, 11%, dan 13% sebagai pewarna pengganti hematoksilin. Objek penelitian berupa sediaan jaringan hati mencit yang diberikan perlakuan pewarnaan menggunakan Hematoksilin-Eosin (HE) sebagai kontrol serta *methylene blue* dengan berbagai konsentrasi. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Surabaya, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dan Balai Besar Veteriner Farma (PUSVETMA) Surabaya pada bulan Oktober 2025

hingga Mei 2026. Sampel penelitian berjumlah 24 preparat yang terdiri atas 6 preparat kontrol HE, serta masing-masing 6 preparat dengan pewarna *methylene blue* konsentrasi 10%, 11%, dan 13%.

Data diperoleh melalui pengamatan mikroskopis terhadap kualitas pewarnaan inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna menggunakan metode skoring. Penilaian dilakukan oleh tiga validator yang memiliki kompetensi di bidang histoteknologi secara independen menggunakan lembar penilaian yang sama. Setiap validator menilai seluruh preparat berdasarkan parameter kejelasan inti sel, kejelasan sitoplasma, dan keseragaman warna, kemudian hasil penilaian dirata-ratakan untuk memperoleh skor akhir setiap preparat sehingga dapat meminimalkan subjektivitas penilaian.

Data penelitian dianalisis menggunakan uji non-parametrik Kruskal–Wallis. Apabila terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan, analisis dilanjutkan menggunakan uji Mann–Whitney untuk mengetahui pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

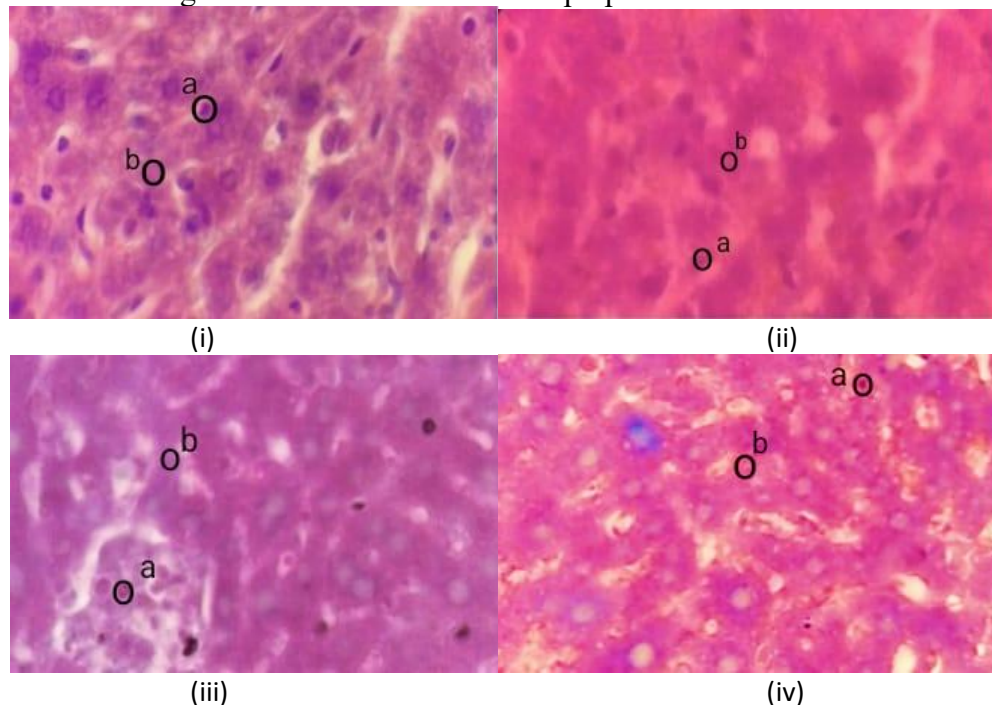
Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kualitas pewarnaan *methylene blue* sebagai pengganti hematoksin pada sediaan histologi jaringan hati mencit. Kualitas preparat dinilai berdasarkan tiga parameter, yaitu kejelasan inti sel, kejelasan sitoplasma, dan keseragaman warna menggunakan metode skoring oleh validator. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) menghasilkan kualitas preparat terbaik. Seluruh preparat pada kelompok kontrol (100%) masuk dalam kategori baik. Temuan ini menunjukkan bahwa hematoksin masih memberikan hasil pewarnaan yang paling optimal dibandingkan perlakuan lainnya. Hematoksin mampu menghasilkan kontras yang jelas antara inti sel dan sitoplasma sehingga memudahkan pengamatan struktur jaringan. Sementara itu, pewarnaan *methylene blue* menunjukkan kemampuan dalam mewarnai inti sel, meskipun kualitasnya belum sepenuhnya menyamai hematoksin. Perbedaan kualitas pewarnaan terlihat pada tingkat kejelasan detail histologis yang dihasilkan. Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa *methylene blue* memiliki potensi sebagai pewarna alternatif dalam preparasi histologi. Namun, diperlukan penelitian lanjutan untuk mengoptimalkan konsentrasi dan prosedur pewarnaannya agar dapat menghasilkan kualitas preparat yang lebih baik.

Tabel 1. Hasil Kualitas Sediaan Jaringan Hati Mencit

Perlakuan	Kriteria Penilaian Kualitas					
	Tidak baik (1-3)		Cukup Baik (4-6)		Baik (7-9)	
	N	0%	N	0%	N	0%
Perlakuan I	0	0%	0	0%	6	100%
Perlakuan II	0	0%	5	83,3%	1	16,7%
Perlakuan III	1	16,7%	5	83,3%	0	0%
Perlakuan IV	2	33,3%	4	66,6%	0	0%

Berdasarkan Tabel 1, kualitas preparat pada kelompok perlakuan berbeda sesuai konsentrasi *methylene blue* yang digunakan. Konsentrasi 10% menghasilkan kualitas preparat terbaik di antara seluruh kelompok perlakuan, ditandai masih ditemukannya preparat berkategori baik (16,7%) dan sebagian besar berkategori cukup baik (83,3%). Sebaliknya, peningkatan konsentrasi menjadi 11% dan 13% diikuti dengan munculnya preparat berkategori tidak baik serta tidak ditemukannya lagi preparat berkategori baik. Temuan ini menunjukkan

bahwa peningkatan konsentrasi *methylene blue* tidak selalu meningkatkan kualitas pewarnaan, tetapi justru cenderung menurunkan kualitas visual preparat.



Gambar 1. Hasil mikroskopis pewarnaan histologi perlakuan I (i), perlakuan II (ii), perlakuan III (iii), perlakuan IV (iv); (a) inti sel, (b) sitoplasma

Tabel 2. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics	Hasil Uji
Kruskal–Wallis H	17.928
Df	3
Asymp. Sig.	0,000

Hasil analisis menggunakan uji Kruskal–Wallis pada Tabel 2 menunjukkan nilai Asymp. Sig. sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan kualitas preparat yang signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi *methylene blue* memberikan pengaruh terhadap kualitas pewarnaan sediaan histologi sehingga diperlukan analisis lanjutan untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda secara bermakna.

Tabel 3. Hasil Uji Mann-Whitney

No.	Perbandingan	Asymp. Sig. (2-tailed)	Keterangan
1	Hematoksilin dan <i>Methylene Blue</i> 10%	0,006	Ada perbedaan signifikan
2	<i>Hematoksilin</i> dan <i>Methylene Blue</i> 11%	0,003	Ada perbedaan signifikan
3	Hematoksilin dan <i>Methylene Blue</i> 13%	0,003	Ada perbedaan signifikan
4	<i>Methylene Blue</i> 10% dan <i>Methylene Blue</i> 11%	0,048	Ada perbedaan signifikan
5	<i>Methylene Blue</i> 10% dan <i>Methylene Blue</i> 13%	0,008	Ada perbedaan signifikan
6	<i>Methylene Blue</i> 11% dan <i>Methylene Blue</i> 13%	0,207	Tidak ada perbedaan signifikan

Berdasarkan hasil uji Mann–Whitney pada Tabel 3, hampir seluruh pasangan kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Perbedaan tidak ditemukan antara

kelompok *methylene blue* 11% dan 13% ($p=0,207$), yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi dari 11% menjadi 13% tidak memberikan perubahan kualitas preparat yang bermakna. Sebaliknya, konsentrasi 10% berbeda signifikan dengan konsentrasi 11% maupun 13%, mengindikasikan bahwa konsentrasi tersebut menghasilkan karakteristik kualitas preparat yang lebih baik dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi.

- Pewarnaan hematoksilin dengan *Methylene Blue* 10%.
- Pewarnaan hematoksilin dengan *Methylene Blue* 11%.
- Pewarnaan hematoksilin dengan *Methylene Blue* 13%.
- Pewarnaan *Methylene Blue* 10% dengan *Methylene Blue* 11%.
- Pewarnaan *Methylene Blue* 10% dengan *Methylene Blue* 13%.

Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan perbandingan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin dengan *methylene blue* konsentrasi 10%, 11%, dan 13% berdasarkan kejelasan inti sel, sitoplasma, serta keseragaman warna. Temuan menunjukkan bahwa seluruh preparat pada kelompok kontrol HE memiliki kualitas baik (100%), sedangkan kelompok *methylene blue* menghasilkan kualitas yang bervariasi. Konsentrasi 10% memberikan hasil terbaik di antara seluruh kelompok perlakuan, dengan 83,3% preparat berkategori cukup baik dan 16,7% berkategori baik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa *methylene blue* telah mampu mewarnai inti sel, meskipun kualitasnya masih belum menyamai Hematoksilin-Eosin.

Kemampuan *methylene blue* dalam mewarnai inti sel dipengaruhi oleh sifatnya sebagai pewarna kationik yang berikatan secara elektrostatis dengan gugus fosfat DNA dan RNA. Pada konsentrasi 10%, jumlah molekul pewarna yang berdifusi ke dalam jaringan masih berada pada kondisi yang mampu menghasilkan kontras yang cukup baik antara inti sel dan sitoplasma sehingga struktur jaringan masih dapat dibedakan dengan jelas (Khan et al., 2022). Kondisi tersebut menyebabkan inti sel tampak terwarnai secara memadai tanpa mengurangi kejelasan komponen jaringan lainnya.

Sebaliknya, peningkatan konsentrasi *methylene blue* menjadi 11% dan 13% justru diikuti oleh penurunan kualitas preparat. Kondisi ini diduga terjadi akibat fenomena *overstaining*, yaitu keadaan ketika jumlah molekul pewarna yang berikatan dengan jaringan terlalu banyak sehingga intensitas warna menjadi berlebihan. Akumulasi pewarna yang tinggi menyebabkan inti sel tampak terlalu gelap dan sebagian pewarna juga terdeposit pada area di sekitar inti maupun sitoplasma. Akibatnya, kontras antara inti sel, sitoplasma, dan jaringan di sekitarnya berkurang sehingga batas morfologi menjadi kurang tegas dan detail mikroskopis lebih sulit diamati. Intensitas warna yang terlalu pekat juga dapat menutupi struktur halus jaringan sehingga kualitas visual preparat menurun. Selain dipengaruhi oleh konsentrasi pewarna, fenomena tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor teknis lain, seperti ketebalan irisan jaringan, proses deparafinisasi, homogenitas larutan pewarna, lama pewarnaan, serta kemungkinan *human error* selama proses pembuatan preparat.

Analisis statistik menggunakan uji Kruskal–Wallis memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p<0,05$), yang mengindikasikan bahwa variasi konsentrasi *methylene blue* berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan histologi. Hasil uji lanjut Mann–Whitney menunjukkan bahwa hampir seluruh pasangan kelompok memiliki perbedaan yang signifikan, kecuali antara konsentrasi 11% dan 13% ($p>0,05$). Temuan ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi *methylene blue* di atas 10% tidak memberikan peningkatan kualitas pewarnaan, bahkan cenderung menurunkan kualitas preparat. Tidak adanya perbedaan bermakna antara konsentrasi 11% dan 13% menunjukkan bahwa kedua



konsentrasi tersebut telah menghasilkan tingkat intensitas pewarnaan yang relatif serupa sehingga peningkatan konsentrasi lebih lanjut tidak lagi memperbaiki kualitas preparat.

Temuan penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Atha et al. (2025) yang melaporkan bahwa *methylene blue* konsentrasi 10% menghasilkan gambaran sel yang lebih baik dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi. Hasil tersebut memperkuat bahwa efektivitas *methylene blue* tidak hanya ditentukan oleh kemampuan pewarna berikatan dengan inti sel, tetapi juga oleh keseimbangan antara intensitas pewarnaan dan kemampuan mempertahankan kontras morfologi jaringan. Dengan demikian, *methylene blue* memiliki potensi sebagai pewarna alternatif pengganti hematoksin, terutama pada konsentrasi 10%. Namun, kualitas pewarnaan yang dihasilkan masih belum dapat menyamai Hematoksin-Eosin sebagai *gold standard*. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan dengan variasi konsentrasi yang lebih sempit, optimasi lama pewarnaan, maupun modifikasi metode pewarnaan untuk memperoleh kualitas preparat yang lebih optimal.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penggunaan *methylene blue* sebagai pengganti hematoksin pada pewarnaan histologi menghasilkan kualitas preparat yang berbeda pada setiap variasi konsentrasi. Konsentrasi *methylene blue* 10% memberikan kualitas preparat terbaik di antara seluruh kelompok perlakuan, dengan 83,3% preparat berkategori cukup baik dan 16,7% berkategori baik. Sementara itu, konsentrasi 11% menghasilkan 83,3% preparat berkategori cukup baik dan 16,7% berkategori tidak baik, sedangkan konsentrasi 13% menghasilkan 66,6% preparat berkategori cukup baik dan 33,3% berkategori tidak baik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa *methylene blue* konsentrasi 10% memiliki potensi paling baik sebagai pewarna alternatif, meskipun kualitas pewarnaannya masih belum dapat menyamai Hematoksin-Eosin sebagai *gold standard* dalam pewarnaan sediaan histologi.

Hasil penelitian ini memberikan implikasi praktis bahwa *methylene blue*, khususnya pada konsentrasi 10%, berpotensi dimanfaatkan sebagai alternatif pewarna inti pada kegiatan praktikum di laboratorium pendidikan atau laboratorium yang memiliki keterbatasan biaya maupun ketersediaan hematoksin. Meskipun demikian, penggunaannya masih memerlukan pengembangan dan standarisasi lebih lanjut agar kualitas preparat yang dihasilkan dapat mendekati pewarnaan Hematoksin-Eosin sehingga dapat diterapkan secara lebih luas dalam pemeriksaan histologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiningsih, R., Rahmawati, Y., & Nailufar, Y. (2024). Potensi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai pengganti cat hematoksin dalam pewarnaan rutin jaringan. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(4). <https://doi.org/10.31004/jkt.v5i4.35535>
- Amelia, R., & Baiturrahmah, U. (2020). *Buku ajar histologi*. Universitas Baiturrahmah Padang.
- Annisa, A. S., Sofyanita, E. N., Kuncara, R. B., & Surati. (2023). Pengaruh penggunaan minyak zaitun dengan pemanasan sebagai larutan penjernih (*clearing*) terhadap kualitas sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Labora Medika*, 7(1), 6–12. <https://doi.org/10.26714/jlabmed.7.1.2023.6-12>
- Atha, A. N., Susanti, E. D., Nur Fitria, A. Z., Pasha, E. I., Sari, E. T., Fadilla, N. A. F., Iskandar, D. V., & Arini, L. D. D. (2025). Efektivitas penggunaan pewarna metilen blue dalam pengamatan bentuk sel pada kulit katak. *Nian Tana Sikka: Jurnal Ilmiah Mahasiswa*, 3(4), 60–65. <https://doi.org/10.59603/niantanasikka.v3i4.928>



- Badjuri, F. Z., Durachim, A., Wiryanti, W., Riyani, A., & Dani, M. (2023). Pengaruh variasi suhu dan waktu *virgin coconut oil* pada proses deparafinisasi pewarnaan hematoksilin eosin terhadap kualitas preparat. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1), 172–181. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1473>
- Charisma, A. M., Permatasari, M. I., & Negara, Y. A. K. (2025). Effectiveness of using methylene blue dyes in Papanicolaou staining in cytology of ascites fluid. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 175–181. <https://doi.org/10.32668/jitek.v12i2.1803>
- Duda, A. P. A., Rahmawati, Y., & Nailufar, Y. (2025). Perbandingan kualitas blok parafin jaringan apendiks pada pewarnaan hematoksilin eosin berdasarkan lama penyimpanan. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 8(1), 888–895. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v8i1.10412>
- Elen, M. R. (2022). Microscopic quality profile of mice liver (*Mus musculus*) with 2 μ m, 5 μ m and 8 μ m thickness sections. *Jaringan Laboratorium Medis*, 4(2), 71–78. <https://doi.org/10.31983/jlm.v4i2.8483>
- Hidayat, M. S., & Dewi, Y. R. (2024). Perbedaan hasil pewarnaan hematoxylin-eosin preparat limfonodi pada proses *clearing* menggunakan xylol dan minyak zaitun. *Plenary Health: Jurnal Kesehatan Paripurna*, 297–301. <https://publikasi.abidan.org/index.php/plenary-health/article/view/562>
- Khan, I., Saeed, K., Zekker, I., Zhang, B., Hendi, A. H., Ahmad, A., Ahmad, S., Zada, N., Ahmad, H., Shah, L. A., Shah, T., & Khan, I. (2022). Review on methylene blue: Its properties, uses, toxicity and photodegradation. *Water*, 14(2), 242. <https://doi.org/10.3390/w14020242>
- Lorsuwannarat, N., Kaewsanit, A., Charoenpitakchai, M., Ruangpratheep, C., Arnutti, P., & Nimmanon, T. (2024). Optimizing re-staining techniques for the restoration of faded hematoxylin and eosin-stained histopathology slides: A comparative study. <https://doi.org/10.1369/00221554241299861>
- Muthiawati, S., Wiryanti, W., Durachim, A., & Sundara, Y. (2023). Optimasi waktu dan suhu fiksasi spesimen terhadap kualitas preparat jaringan. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1), 479–484. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1508>
- Nazhiifah, T. S., & Sofyanita, E. N. (2023). Perbedaan hasil pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) pada histologi kulit mencit (*Mus musculus*) berdasarkan ketebalan pemotongan 3 μ m, 6 μ m dan 9 μ m. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 6(1), 474–480. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v6i1.6090>
- Putri, G. S. A., Diyanah, D., & Iswara, A. (2024). The effectiveness of ylang ylang oil (*Cananga odorata*) as a deparaffinizing agent in hematoxylin-eosin staining. *Jaringan Laboratorium Medis*, 6(1), 1–8. <https://doi.org/10.31983/jlm.v6i1.10824>
- Putri, N. A., Khristian, E., & Durachim, A. (2023). Tinjauan pewarnaan hemaktosilin-eosin dan periodic acid-schiff terhadap kerusakan hati mencit yang diinduksi aloksan. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 5(2), 296–302. <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v5i2.5101>
- Rahmawati, F., Purwaning Sari, K., Huda, N., & Rousdy, D. W. (2023). Ekstrak biji kesumba keling (*Bixa orellana* L.) sebagai pewarna alami sediaan jaringan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Bios Logos*, 13(3), 233–242. <https://doi.org/10.35799/jbl.v13i3.51905>
- Rihanesa Diana Putri, & Eko Naning Sofyanita. (2023). Perbedaan hasil pewarnaan hematoxylin eosin (HE) pada histologi kolon mencit berdasarkan ketebalan pemotongan



- mikrotom 3, 6, 9. *Jurnal Labora Medika*, 7, 31–38.
<http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>
- Salsabila, Q., Durachim, A., Wiryanti, W., & Rahmat, M. (2023). Perbandingan kualitas hasil preparat histologi jaringan ginjal dengan fiksasi menggunakan *neutral buffer formalin* 10% dan etanol 50%. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1), 327–333.
<https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1489>
- Sofyanita, E. N., Iswara, A., & Priyatno, D. (2022). Minyak zaitun sebagai pengganti xylene pada prosesing jaringan histologis untuk pewarnaan kulit dan hepar mencit dengan Hematoxylin Eosin: Sebuah studi perbandingan. *Jaringan Laboratorium Medis*, 4(2), 117–124. <https://doi.org/10.31983/jlm.v4i2.8688>
- Wibowo, T., & Maulani, Y. (2024). Perbedaan hasil pewarnaan Hematoxylin-Eosin preparat limfonodi pada proses *clearing* menggunakan xylol dan minyak zaitun. *Plenary Health: Jurnal Kesehatan Paripurna*, 1(3), 197–201.
<https://publikasi.abidan.org/index.php/plenary-health/article/view/562>

