

Pengaruh Waktu Dekalsifikasi Jaringan Tulang Menggunakan Larutan Asam Nitrat 5% terhadap Tingkat Kelunakan dan Kualitas Preparat

**Widi Widiawati¹, Adang Durachim², Wiwin Wiryanti³,
Mohamad Firman Solihat⁴**

^{1,2,3,4}Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia
Email Koresponden: widiwidiawati47@gmail.com

Abstrak

Dekalsifikasi merupakan proses penghilangan garam kalsium dan mineral dari jaringan keras seperti tulang agar menjadi lunak, sehingga dapat dipotong menggunakan mikrotom dan diproses lebih lanjut menjadi preparat histologi. Salah satu agen dekalsifikasi yang banyak digunakan adalah asam nitrat 5%, yang dikenal efektif dalam menjaga integritas jaringan serta meminimalkan kerusakan struktur seluler jika digunakan dengan kontrol waktu yang tepat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh waktu dekalsifikasi menggunakan asam nitrat 5% terhadap tingkat kelunakan dan kualitas preparat jaringan tulang. Sampel yang digunakan berupa tulang femur marmut yang didekalsifikasi dalam waktu 6, 12, 18, dan 24 jam. Parameter yang diukur mencakup tingkat kelunakan jaringan, keberadaan artefak, serta kejelasan struktur seluler. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa dekalsifikasi selama 24 jam menghasilkan tingkat kelunakan tertinggi (skor 3), lebih tinggi dibandingkan dengan waktu 6, 12, dan 18 jam (skor 2). Nilai Asymp.Sig sebesar 0,000 menunjukkan pengaruh signifikan waktu dekalsifikasi terhadap kelunakan tulang. Namun, analisis terhadap kualitas preparat tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai Asymp.Sig sebesar 0,773. Secara keseluruhan, kualitas preparat yang dihasilkan tergolong baik dengan skor rata-rata 3, menunjukkan bahwa asam nitrat 5% tetap mempertahankan struktur jaringan dengan baik dan dapat digunakan sebagai agen dekalsifikasi yang efektif.

Kata kunci: Dekalsifikasi, Tulang, Asam Nitrat 5%

Pendahuluan

Dekalsifikasi merupakan proses yang bertujuan untuk menghilangkan garam kalsium dan mineral lain yang terkandung dalam jaringan keras seperti tulang dan gigi. Proses ini dilakukan agar jaringan yang awalnya kaku dan keras dapat menjadi lebih lunak sehingga memungkinkan untuk dipotong dengan alat khusus, yaitu mikrotom. Mikrotom adalah perangkat laboratorium yang digunakan untuk membuat irisan jaringan dengan ketebalan tertentu agar dapat diamati di bawah mikroskop. Proses ini sangat penting dalam bidang histologi dan patologi karena tanpa dekalsifikasi, jaringan tulang yang keras akan sulit diproses



dan dianalisis lebih lanjut. Oleh karena itu, dekalsifikasi merupakan tahap awal yang krusial dalam pembuatan preparat histologis untuk penelitian maupun diagnostik medis (Prasad & Donoghue, 2013).

Menurut (Pitol et al., 2007) waktu yang dibutuhkan dalam proses dekalsifikasi sangat bergantung pada beberapa faktor utama, yaitu ukuran spesimen dan jenis spesies yang digunakan dalam pemeriksaan histopatologi. Semakin besar ukuran jaringan tulang yang akan didekalsifikasi, semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk memastikan bahwa seluruh kalsium telah terlarut dengan sempurna. Selain itu, spesies hewan atau manusia yang digunakan juga mempengaruhi durasi dekalsifikasi karena setiap spesies memiliki struktur tulang yang unik, termasuk perbedaan dalam kepadatan mineral dan komposisi jaringan tulangnya. Misalnya, tulang dari spesies yang memiliki kandungan kalsium lebih tinggi akan membutuhkan waktu dekalsifikasi yang lebih lama dibandingkan spesies dengan struktur tulang yang lebih ringan. Oleh karena itu, dalam penelitian atau analisis jaringan, perbedaan spesies dan ukuran sampel perlu diperhitungkan dengan cermat untuk menentukan metode dekalsifikasi yang paling efektif dan efisien. Bahan kimia yang digunakan dalam dekalsifikasi harus memiliki beberapa karakteristik penting agar hasil yang diperoleh optimal.

Menurut (Khangura et al., 2022) bahan dekalsifikasi yang baik harus mampu menghilangkan kalsium dari jaringan secara menyeluruh tanpa menyebabkan kerusakan struktural yang signifikan pada sel atau jaringan lunak di sekitarnya. Jika bahan yang digunakan terlalu kuat, jaringan bisa mengalami degradasi atau perubahan struktur yang mengakibatkan kesulitan dalam analisis lebih lanjut. Selain itu, bahan dekalsifikasi juga harus memastikan bahwa jaringan tetap dapat menjalani proses pewarnaan setelah dekalsifikasi selesai. Pewarnaan jaringan adalah langkah penting dalam pemeriksaan histologi karena membantu mengidentifikasi berbagai komponen seluler di bawah mikroskop. Oleh karena itu, pemilihan bahan dekalsifikasi harus mempertimbangkan keseimbangan antara kecepatan proses dekalsifikasi dan kualitas hasil akhir. Proses ini juga harus

berlangsung dalam waktu yang wajar agar tidak terlalu lama, karena durasi yang terlalu panjang dapat menyebabkan jaringan menjadi rapuh dan sulit untuk diproses lebih lanjut.

Dekalsifikasi dapat dilakukan dengan berbagai metode yang disesuaikan dengan kebutuhan penelitian atau analisis histopatologi. Beberapa metode utama yang digunakan meliputi pemanasan, vakum, arus listrik, dan penggunaan bahan kimia. Pemanasan dapat mempercepat reaksi penghilangan kalsium, tetapi jika tidak dikontrol dengan baik, dapat menyebabkan denaturasi protein dalam jaringan, sehingga mengganggu struktur seluler yang akan diamati. Metode vakum bekerja dengan cara mengurangi tekanan udara di sekitar spesimen, yang dapat mempercepat penetrasi bahan dekalsifikasi ke dalam jaringan tulang. Sementara itu, penggunaan arus listrik dalam dekalsifikasi dikenal sebagai metode elektrolitik, di mana arus listrik dialirkan melalui larutan dekalsifikasi untuk mempercepat pelepasan ion kalsium dari jaringan. Meskipun berbagai metode ini tersedia, metode yang paling umum digunakan dalam laboratorium histopatologi adalah dekalsifikasi menggunakan bahan kimia, karena lebih mudah dikontrol dan memberikan hasil yang lebih konsisten dibandingkan metode lain.

Dekalsifikasi dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti penggunaan panas, vakum, arus listrik, serta bahan kimia. Bahan kimia adalah yang paling umum digunakan untuk analisis histopatologi rutin. Ada tiga jenis bahan kimia yang dapat digunakan, yaitu asam anorganik kuat, misalnya asam nitrat dan asam klorida, asam organik lemah, misalnya asam format, asam asetat, dan asam pikrat, serta zat pengkelat, misalnya EDTA (Khangura et al., 2022).

Bahan kimia yang digunakan dalam dekalsifikasi umumnya dikategorikan menjadi tiga jenis utama berdasarkan sifat kimianya, yaitu asam anorganik kuat, asam organik lemah, dan zat pengkelat (chelating agents). Asam anorganik kuat, seperti asam nitrat dan asam klorida, bekerja dengan cara melarutkan kalsium dengan cepat, sehingga proses dekalsifikasi dapat berlangsung dalam waktu yang relatif singkat. Namun,

penggunaan asam anorganik yang kuat harus dilakukan dengan hati-hati karena dapat menyebabkan degradasi jaringan atau distorsi struktur seluler jika durasinya tidak dikontrol dengan baik. Asam organik lemah, seperti asam format, asam asetat, dan asam pikrat, memiliki efek yang lebih lembut dibandingkan asam anorganik dan lebih sedikit menyebabkan kerusakan jaringan, tetapi waktu yang dibutuhkan untuk dekalsifikasi cenderung lebih lama. Sementara itu, zat pengkelat seperti EDTA bekerja dengan cara mengikat ion kalsium secara selektif tanpa merusak jaringan, sehingga metode ini sering digunakan dalam penelitian yang membutuhkan hasil dengan integritas struktur jaringan yang tinggi. Bahan kimia yang paling banyak digunakan untuk dekalsifikasi adalah larutan asam, yang bereaksi dengan kalsium pada tulang untuk membentuk garam kalsium yang larut (Gupta, 2014).

Dalam praktik histopatologi, bahan kimia yang paling sering digunakan untuk dekalsifikasi adalah larutan asam karena efektif dalam melarutkan kalsium dari jaringan tulang. Proses ini bekerja melalui reaksi antara larutan asam dengan mineral kalsium dalam tulang, menghasilkan garam kalsium yang larut dalam larutan dekalsifikasi. Menurut Gupta (2014), penggunaan larutan asam memungkinkan proses dekalsifikasi berlangsung dengan lebih efisien dibandingkan metode lainnya. Asam anorganik kuat, seperti asam nitrat, sering kali digunakan untuk mempercepat dekalsifikasi, terutama dalam kasus di mana pemeriksaan histopatologi perlu dilakukan dalam waktu singkat (Khangura et al., 2022). Namun, meskipun metode ini cepat, penggunaannya harus dilakukan dengan cermat untuk menghindari kerusakan struktur jaringan yang dapat menghambat analisis mikroskopis lebih lanjut. Oleh karena itu, pemilihan bahan dekalsifikasi harus mempertimbangkan keseimbangan antara kecepatan proses dan kualitas jaringan yang dihasilkan. Proses dekalsifikasi dapat dengan cepat dicapai dengan menggunakan asam anorganik yang kuat seperti asam nitrat (Khangura et al., 2022).

Asam nitrat merupakan pilihan terbaik karena menghasilkan integritas yang baik serta memiliki kemampuan dekalsifikasi lebih cepat

(Salih, 2020). Asam Nitrat direkomendasikan oleh Clayden untuk digunakan sebagai bahan dekalsifikasi rutin karena menyebabkan sedikit kerusakan pada jaringan jika waktu dekalsifikasi dikontrol dengan baik. Asam nitrat dengan konsentrasi 5% direkomendasikan karena tidak menyebabkan pembengkakan (Hegde et al., 2016). Dekalsifikasi tulang *femur* tikus dengan menggunakan larutan asam nitrat 5% dan larutan asam klorida 8% dihasilkan kualitas preparat yang baik dari tulang yang didekalsifikasi dengan larutan asam nitrat 5% sedangkan yang didekalsifikasi dengan larutan asam klorida 8% kurang baik karena menunjukkan pewarnaan yang tidak merata (Liu et al., 2017). Asam nitrat menunjukkan hasil yang paling efisien karena menyeimbangkan integritas jaringan dan faktor waktu yang menunjukkan bahwa HNO_3 dapat digunakan sebagai agen dekalsifikasi yang stabil untuk diagnosis histopatologi rutin (Gupta, 2014).

Efektivitas dekalsifikasi sangat bergantung pada durasi waktu perendaman spesimen dalam larutan dekalsifikasi. Semakin lama suatu jaringan tulang direndam dalam larutan tersebut, semakin banyak ion kalsium yang dilepaskan, sehingga tulang menjadi lebih lunak dan siap untuk proses pemotongan dengan mikrotom. Namun, waktu dekalsifikasi harus disesuaikan dengan ukuran dan jenis jaringan yang digunakan, karena setiap spesimen memiliki ketebalan dan kepadatan mineral yang berbeda-beda. Tulang yang lebih tebal atau lebih padat membutuhkan waktu lebih lama untuk mengalami dekalsifikasi sempurna dibandingkan dengan tulang yang lebih tipis atau kurang padat. Oleh karena itu, pemantauan berkala diperlukan untuk memastikan bahwa dekalsifikasi berlangsung dengan optimal tanpa menyebabkan kerusakan jaringan.

Jika spesimen terlalu lama direndam dalam larutan dekalsifikasi, dapat terjadi perubahan struktural yang tidak diinginkan, terutama pada matriks tulang. Paparan larutan asam atau zat pengkelat dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan degradasi matriks kolagen dalam jaringan, yang berfungsi sebagai kerangka dasar tulang. Menurut (Pitol et al., 2007) paparan larutan dekalsifikasi yang berlebihan dapat

menyebabkan pembengkakan matriks tulang akibat proses hidrolisis. Hidrolisis ini terjadi karena reaksi kimia antara larutan dekalsifikasi dengan komponen protein dan mineral tulang, yang pada akhirnya dapat melemahkan struktur jaringan. Jika proses ini tidak dikendalikan dengan baik, hasil akhir preparat jaringan mungkin akan mengalami distorsi atau kehilangan detail histologis yang penting untuk analisis lebih lanjut.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Thirumal Raj *et al.*, 2016) tulang mandibula dengan ukuran 0,5 cm didekalsifikasi menggunakan larutan asam nitrat 5% secara konvensional dengan pemrosesan dan pewarnaan konvensional didapatkan hasil waktu dekalsifikasi selama 27 jam dan hasil kualitas preparat yang sangat baik. Kemudian berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Salih, (2020) tulang dengan ukuran 0,5 cm didekalsifikasi dengan larutan asam nitrat 5% membutuhkan waktu 7 jam hingga jaringan menjadi lunak.

Tulang merupakan penyanggah dan pelindung organ-organ penting yang ada di dalam tubuh. Tulang merupakan organ terkeras nomor dua setelah email gigi karena di dalam tulang terdapat adanya garam-garam kalsium yang terkandung dalam tulang tersebut. Struktur tulang bukan seperti beton yang padat melainkan mirip seperti sarang madu yang berongga-rongga, dan dipengaruhi oleh masa padat dari lubang-lubang kecil (Downey & Siegel, 2006).

Tulang merupakan jaringan penyusun rangka tubuh manusia yang strukturnya keras dengan jumlah 206 tulang. Struktur keras pada tulang ini disebabkan karena adanya matriks ekstraseluler yang mengalami kalsifikasi. Tulang berdasarkan bentuknya dibedakan menjadi 5 yaitu, tulang panjang (contohnya, tulang *femur*), tulang pendek, tulang pipih, tulang ireguler, dan tulang sesamoid (Snell *et al.*, 2012).

Dekalsifikasi adalah suatu proses untuk melunakkan tulang dengan cara mengeluarkan kalsium anorganik dari matriks kolagen organik, tulang rawan yang terkalsifikasi di sekitar jaringan. Tujuan dari dekalsifikasi adalah untuk menghilangkan garam kalsium dari jaringan yang termineralisasi dan mempersiapkannya untuk pemotongan jaringan dari

spesimen histologi. Dekalsifikasi dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya yaitu perendaman dengan larutan asam, dekalsifikasi dengan *mecrowave*, penukaran ion resin, dekalsifikasi dengan elektrolit, dan dekalsifikasi dengan ultrasonic. Namun metode yang sering digunakan yaitu metode perendaman dengan larutan asam. (Hegde et al., 2016).

Asam etilendiamintetraasetat (EDTA) adalah asam aminopolikarboksilat. EDTA banyak digunakan untuk menyerap ion logam, seperti Ca^2 dan Fe^3 , sebagai ligan heksadentat dan zat pengkhelat. Dalam histopatologi, umumnya digunakan sebagai agen dekalsifikasi yang memungkinkan pemotongan bagian menggunakan mikrotom ketika sampel jaringan mengalami demineralisasi (Lee et al., 2016).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini dirumuskan untuk menjawab dua pertanyaan utama. Pertama, apakah waktu dekalsifikasi menggunakan larutan asam nitrat 5% berpengaruh terhadap tingkat kelunakan jaringan tulang? Kedua, apakah waktu dekalsifikasi menggunakan larutan asam nitrat 5% berpengaruh terhadap kualitas preparat jaringan tulang? Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh waktu dekalsifikasi menggunakan larutan asam nitrat 5% terhadap tingkat kelunakan jaringan tulang dan kualitas preparat jaringan tulang.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimen semu yaitu penelitian eksperimen yang dilaksanakan pada satu kelompok yaitu kelompok eksperimen yang diberikan perlakuan tanpa ada kelompok pembanding atau kelompok kontrol (Arikunto, 2006). Pada penelitian ini akan dilihat pengaruh lama waktu perendaman yang diberikan pada jaringan dengan larutan asam nitrat 5% terhadap tingkat kelunakan dan kualitas preparat. Dalam penelitian ini perlakuan lama waktu perendaman yang diberikan yaitu 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam. Hasil dapat diamati dari kelunakan jaringan tulang setelah dekalsifikasi dan

kualitas preparat dapat dilihat setelah dilakukan pewarnaan dengan Hematoxylin Eosin.

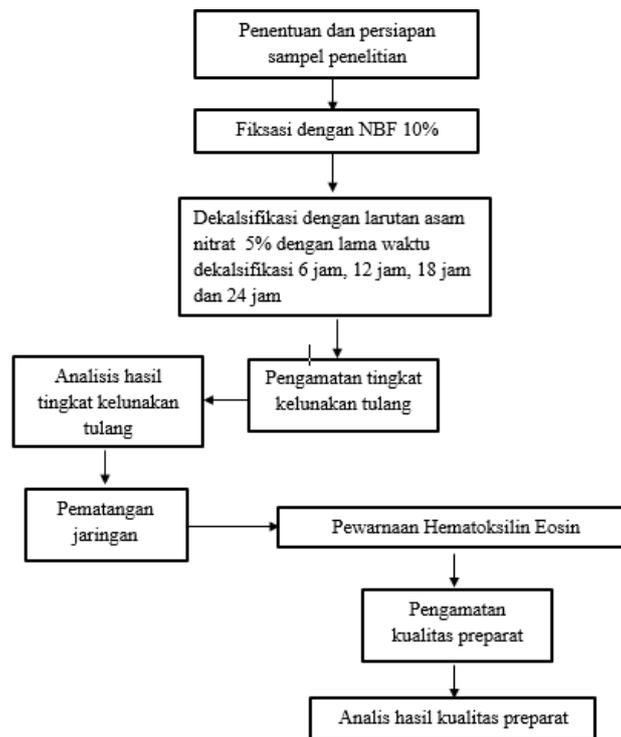
Menurut (Sugiyono, 2019) adalah data yang diperoleh langsung dari sumber pertama melalui metode seperti wawancara, observasi, atau kuesioner yang dikumpulkan oleh peneliti untuk menjawab permasalahan penelitian. Data ini bersifat orisinil karena diperoleh langsung dari subjek atau objek penelitian tanpa perantara. Data primer dalam penelitian ini diperoleh melalui percobaan pada tulang femur marmut yang didekalsifikasi dengan larutan asam nitrat 5% selama 6, 12, 18, dan 24 jam. Sebelum dekalsifikasi, tulang femur marmut difiksasi menggunakan larutan NBF 10%, dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa larutan fiksasi, dan kemudian diproses dengan larutan asam nitrat. Setelah dekalsifikasi, jaringan diproses melalui tahap dehidrasi, clearing, infiltrasi parafin, embedding, pemotongan dengan mikrotom, deparafinisasi, dan pewarnaan.

Penelitian ini mengamati tingkat kelunakan dan kualitas preparat jaringan tulang. Tingkat kelunakan dinilai secara makroskopis dengan menusuk tulang menggunakan benda tajam; semakin mudah tertusuk, semakin lunak jaringannya. Kualitas preparat ditentukan berdasarkan ada tidaknya artefak akibat proses dekalsifikasi yang tidak sempurna dan kejelasan sel-sel jaringan tulang.

Menurut (Sugiyono, 2019) populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas objek atau subjek yang memiliki karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Populasi tidak hanya terbatas pada orang, tetapi juga bisa berupa objek, peristiwa, atau dokumen yang sesuai dengan tujuan penelitian.

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang *femur* marmut. Sedangkan sampel yang digunakan adalah tulang *femur* marmut yang dipotong masing-masing 1 cm. Pada penelitian ini, sampel penelitian dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok dengan lama waktu dekalsifikasi 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam.

Skema kerja penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 1 Skema Kerja

Pada penelitian ini data primer diperoleh dari hasil pengamatan mengenai tingkat kelunakan tulang yang diukur secara ordinal dan kualitas preparat yang dilihat dari ada tidaknya artefak yang disebabkan oleh proses dekalsifikasi serta kejelasan sel. Data yang diperoleh ini kemudian diolah untuk selanjutnya dianalisis untuk menentukan uji statistik yang sesuai. Pada penelitian ini, uji statistik yang digunakan yaitu non-parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis. Apabila nilai Asymp sig < 0,05 terdapat pengaruh antar kelompok data. Apabila nilai Asymp sig > 0,05 tidak terdapat pengaruh antar kelompok data.

Pembahasan/hasil

Penelitian dengan judul pengaruh waktu dekalsifikasi jaringan tulang menggunakan larutan asam nitrat 5% terhadap tingkat kelunakan dan kualitas preparat telah dilakukan pada bulan Mei sampai dengan bulan Juni 2024 di Laboratorium Sitohistoteknologi Jurusan Teknologi Laboratorium medis Poltekkes Kemenkes Bandung. Jaringan yang digunakan pada penelitian ini yaitu jaringan *femur* marmut.

Tingkat kelunakan jaringan tulang dapat diukur dari seberapa lunak jaringan tulang setelah waktu dekalsifikasi selesai sesuai dengan lama waktu perlakuan yaitu 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam. Jaringan tulang yang sudah selesai waktu dekalsifikasinya segera ditusuk dengan menggunakan jarum untuk dinilai seberapa lunak jaringan tulang tersebut. Setelah dilakukan penilaian tingkat kelunakan sampel langsung dilakukan proses pematangan jaringan.

Berdasarkan parameter tingkat kelunakan tulang didapatkan data nilai dari tingkat kelunakan jaringan tulang *femur* marmut sebagai berikut.

Tabel 1. Data Nilai Tingkat Kelunakan Jaringan Tulang

No. Sampel	Tingkat kelunakan			
	Asam Nitrat 5%			
	6 jam	12 jam	18 jam	24 jam
1	2	2	2	3
2	2	2	2	3
3	2	2	2	3
4	2	2	2	3
5	2	2	2	3

Sumber: Data Primer

Setelah diperoleh data penilaian dari tingkat kelunakan selanjutnya dilakukan uji statistika untuk melihat ada tidaknya pengaruh waktu terhadap tingkat kelunakan jaringan tulang dengan menggunakan non-parametrik yaitu uji Kruskal-Walis.

Tabel 2 Uji Kruskal-Wallis Tingkat Kelunakan

Test Statistics ^{a,b}	
	Kelunakan
Chi-Square	19,000
df	3
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Larutan_Dekalsifikasi

Sumber: Data Primer

Berdasarkan tabel Uji Kruskal-Wallis, didapatkan hasil Asymp Sig 0,000 dari data nilai tingkat kelunakan jaringan tulang. Berdasarkan

keputusan uji Kruskal-Wallis apabila nilai signifikansi < 0,05 maka terdapat pengaruh antara waktu dekalsifikasi dengan tingkat kelunakan tulang. Karena terdapat pengaruh maka dilakukan uji lanjutan yaitu uji post-hoc Kruskal-Wallis.

Tabel 3. Uji Post-hoc Kruskal-Wallis

Each node shows the sample average rank of Larutan_Dekalsifikasi.

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
HN03_6JAM-HN03_12JAM	,000	2,810	,000	1,000	1,000
HN03_6JAM-HN03_18JAM	,000	2,810	,000	1,000	1,000
HN03_6JAM-HN03_24JAM	-10,000	2,810	-3,559	,000	,002
HN03_12JAM-HN03_18JAM	,000	2,810	,000	1,000	1,000
HN03_12JAM-HN03_24JAM	-10,000	2,810	-3,559	,000	,002
HN03_18JAM-HN03_24JAM	-10,000	2,810	-3,559	,000	,002

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same. Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05/5

Sumber: Data Primer

Berdasarkan hasil uji lanjutan yaitu uji post-hoc didapatkan hasil nilai Adj.Sig untuk pasangan 6 jam – 24 jam, 12 jam – 24 jam, dan 18 jam - 24 jam kurang dari 0,05 maka terdapat perbedaan tingkat kelunakan antara waktu dekalsifikasi 6 jam dengan 24 jam, 12 jam dengan 24 jam, dan 18 jam dengan 24 jam.

Pada pengamatan kualitas preparat jaringan tulang yang dilihat dari ada tidaknya artefak yang disebabkan oleh proses dekalsifikasi serta kejelasan sel-selnya. Berdasarkan parameter penilaian kualitas preparat tersebut didapatkan data nilai kualitas preparat jaringan tulang pada tabel berikut:

Tabel 4. Data Nilai Kualitas Preparat

No. Sampel	Kualitas Preparat			
	Asam Nitrat 5%			
	6 jam	12 jam	18 jam	24 jam
1	3	3	3	3
2	3	2	3	3
3	3	3	3	3
4	3	3	3	2

5	3	3	2	3
---	---	---	---	---

Sumber: Data Primer

Pada penelitian ini kualitas preparat jaringan tulang yang didekalsifikasi menggunakan larutan asam nitrat 5% dalam waktu 6 jam menunjukkan hasil semua preparat berkualitas baik, sedangkan dalam waktu 12 jam, 18 jam dan 24 jam menunjukkan hasil 4 preparat berkualitas baik dan 1 preparat kurang baik.

Data dari hasil penilaian kualitas preparat jaringan tulang ini kemudian diolah menggunakan SPSS untuk melihat ada tidaknya pengaruh waktu dekalsifikasi terhadap kualitas preparat dengan melakukan uji Kruskal-Wallis.

Tabel 5. Uji Kruskal-Wallis Kualitas Preparat

Test Statistics ^{a,b}	
	Kualitas
Chi-Square	1,118
df	3
Asymp. Sig.	,773

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: HNO3

Sumber: Data Primer

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis pada tabel di atas diperoleh nilai Asymp.Sig dari data nilai kualitas preparat jaringan tulang yaitu 0,773 menunjukkan bahwa nilai Sig-nya >0,05 maka tidak terdapat pengaruh antara waktu dekalsifikasi dengan kualitas preparat jaringan tulang.

Jaringan tulang, yang keras dan membutuhkan dekalsifikasi sebelum diproses menjadi preparat, memerlukan perhatian khusus dalam penanganannya. Proses dekalsifikasi bertujuan untuk menghilangkan kalsium, sehingga tulang menjadi lunak dan mudah dipotong. Dekalsifikasi dengan larutan asam nitrat 5% menjadi pilihan umum di laboratorium karena kemampuannya untuk mempercepat proses tanpa banyak merusak jaringan. Namun, lamanya waktu dekalsifikasi menjadi penting karena asam nitrat dapat menyebabkan perubahan morfologi dan pewarnaan jaringan.

Dalam penelitian ini, tulang femur marmut didekalsifikasi menggunakan asam nitrat 5% selama 6, 12, 18, dan 24 jam untuk mengevaluasi pengaruh waktu terhadap kelunakan dan kualitas preparat. Hasilnya menunjukkan bahwa semakin lama waktu dekalsifikasi, semakin lunak jaringan tulang yang dihasilkan, karena lebih banyak kalsium yang dihilangkan. Dekalsifikasi selama 24 jam menghasilkan tulang yang lebih lunak dibandingkan dengan dekalsifikasi selama waktu yang lebih singkat.

Kualitas preparat tidak dipengaruhi oleh waktu dekalsifikasi karena semua preparat menunjukkan hasil yang baik tanpa artefak yang signifikan. Namun, dekalsifikasi yang terlalu lama dapat menyebabkan perubahan warna kuning pada jaringan yang tidak memengaruhi pemeriksaan histologi setelah proses preparasi. Faktor lain seperti ukuran sampel yang seragam dalam penelitian ini juga mempengaruhi hasil, memastikan bahwa waktu dekalsifikasi tidak terpengaruh oleh variabilitas ukuran.

Kesimpulannya, asam nitrat 5% efektif untuk dekalsifikasi tulang dengan waktu yang lebih singkat, namun kontrol waktu sangat penting untuk menjaga kualitas preparat dan menghindari kerusakan jaringan. Penelitian ini sejalan dengan temuan sebelumnya bahwa asam nitrat memberikan integritas kualitas preparat yang baik meskipun waktu dekalsifikasi berbeda.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pengolahan data, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh waktu dekalsifikasi terhadap tingkat kelunakan jaringan tulang dengan ukuran 1 cm menggunakan larutan asam nitrat 5% hal ini terbukti semakin lama waktu dekalsifikasi jaringan tulang semakin lunak. Jaringan tulang yang didekalsifikasi dalam waktu 24 jam lebih lunak dibanding dengan yang 6 jam, 12 jam. 2. Tidak terdapat pengaruh waktu dekalsifikasi terhadap kualitas preparat jaringan tulang menggunakan larutan asam nitrat 5% pada waktu dekalsifikasi selama 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam.

Daftar Pustaka

- Arikunto. (2006). *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*. PT. Rineka Cipta.
- Downey, P. A., & Siegel, M. I. (2006). Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Physical Therapy*, 86(1), 77–91. <https://doi.org/10.1093/ptj/86.1.77>
- Gupta, S. (2014). Qualitative Histological Evaluation of Hard and Soft Tissue Components of Human Permanent Teeth Using Various Decalcifying Agents - A Comparative Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 1–4. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2014/10195.4874>
- Hegde, U., Archana, S., & Nagpal, B. (2016). *Decalcification of Biopsy Tissue*. July, 1–64.
- Khangura, A., Gupta, S., Gulati, A., & Singh, S. (2022). Tooth decalcification using different decalcifying agents – A comparative study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 25(3), 463–469. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_203_21
- Lee, J., Kim, K., Wijesinghe, R. E., Jeon, D., Lee, S. H., Jeon, M., & Jang, J. H. (2016). Decalcification using ethylenediaminetetraacetic acid for clear microstructure imaging of cochlea through optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 21(8), 081204. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.21.8.081204>
- Liu, H., Zhu, R., Liu, C., Ma, R., Wang, L., Chen, B., Li, L., Niu, J., Zhao, D., Mo, F., Fu, M., Brömme, D., Zhang, D., & Gao, S. (2017). Evaluation of Decalcification Techniques for Rat Femurs Using HE and Immunohistochemical Staining. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/9050754>
- Pitol, D. L., Caetano, F. H., & Lunardi, L. O. (2007). Microwave-induced fast decalcification of rat bone for electron microscopic analysis: An ultrastructural and cytochemical study. *Brazilian Dental Journal*, 18(2), 153–157. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402007000200013>
- Prasad, P., & Donoghue, M. (2013). A comparative study of various decalcification techniques. *Indian Journal of Dental Research*, 24(3), 302–308. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.117991>
- Salih, M. M. (2020). Comparison between Conventional Decalcification and a Microwave-Assisted Method in Bone Tissue Affected with Mycetoma.

Biochemistry Research International, 2020.
<https://doi.org/10.1155/2020/6561980>

Snell, R. S., Sugiharto, L., Suwahjo, A., & Liestyawann, Y. A. (2012). *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem* (Cetakan 20). Jakarta :ECG, 2012.

Sugiyono. (2019). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&D*. Alfabeta.

Thirumal Raj, A., Patil, S., & Rao, R. S. (2016). A comparison of conventional and microwave decalcification and processing of tooth and mandibular bone specimens. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(10), ZC121–ZC126.
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21015.8694>