

PERBANDINGAN FIKSASI MENGGUNAKAN *NEUTRAL BUFFER FORMALIN 10% (NBF) 10% DAN JAGGERY 40% TERHADAP JARINGAN HATI TIKUS PUTIH DENGAN PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN*

Vira Septi Mulia, Dani Mahmud, Rani Handriani

Program Studi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

E-mail: bapakdanimahmud@gmail.com

ABSTRAK

Bahan yang dapat digunakan dalam proses fiksasi adalah Neutral Buffer Formalin 10 % karena dapat mempertahankan pH netral. Jaggery merupakan pemanis alami yang terbuat dari konsentasi jus tebu dan dipercaya substitusi gula yang ideal. Jaggery memiliki komposisi yang mirip dengan madu, maka keduanya juga dapat mengawetkan jaringan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin pada organ hati tikus yang di fiksasi menggunakan NBF 10% dan jaggery 40%. Metode yang digunakan ialah eksperimen static group yang bertujuan untuk mengetahui perubahan atau pengaruh yang timbul setelah dilakukan perlakuan tertentu. Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus wistar sebanyak 16 ekor hati tikus. Data diperoleh dari hasil pengamatan mikroskopis. Pengolahan data menggunakan Mann Whithney U. Setelah dilakukan uji statistik menggunakan uji Mann Whithney U, penelitian menunjukkan bahwa hasil yang signifikan dengan nilai sig. $0.001 < 0.005$ yang berarti H_1 diterima dan H_0 ditolak sehingga dapat disimpulkan bahwa kualitas fiksasi pada organ hati tikus yang difiksasi menggunakan larutan NBF 10% lebih baik dibandingkan hasil fiksasi menggunakan larutan jaggery 40% dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin.

Kata Kunci: Fiksasi, NBF 10%, Jaggery 40%, Hati Tikus

ABSTRACT

The material that can be used in the fixation process is Neutral Buffer Formalin 10% because it can maintain a neutral pH. Jaggery is a natural sweetener made from sugarcane juice concentrate and is believed to be an ideal sugar substitute. Jaggery has a similar composition to honey, so both can also preserve tissue. The aim of this study was to determine the quality of Hematoxylin Eosin staining on rat livers that were fixed using 10% NBF and 40% jaggery. The method used is a static group experiment which aims to determine the changes or effects that arise after certain treatments are carried out. This research used 16 Wistar rat test animals. Data obtained from microscopic observations. Data processing uses Mann Whithney U. After carrying out statistical tests using the Mann Whithney U test, the research results show that the results are significant, namely the sig value. $0.001 < 0.005$ which means H_1 is accepted and H_0 is rejected, so it can be concluded that the quality of fixation on rat livers fixed using 10% NBF solution is better than the results of fixation using 40% jaggery solution with Hematoxylin Eosin staining.

Keywords: Fixation, NBF 10%, Jaggery 40%, Rat Liver.

1. PENDAHULUAN

Prosesing jaringan histologi masih menjadi gold standard penentuan terapi dan prognosis pasien. Hasil yang baik dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan dalam kondisi pada waktu masih hidup. Hal ini juga dapat dipengaruhi oleh tahapan prosesing seperti suhu, reagen dan waktu alat poresing jaringan (Mescher, 2016).

Bahan fiksatif yang paling umum digunakan adalah formaldehida dengan konsentrasi 40%. terbuat dari formaldehida, atau 37% hingga 40% formalin. Efek keseluruhannya adalah memperkuat jaringan dan mengaktifkan enzim, yang mencegah degradasi jaringan. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan NBF 10% dengan jaggery pada jaringan hati tikus putih.

Tujuan metode elemen hingga dalam menyelesaikan permasalahan kimia adalah untuk memperkuat struktur atau komponen molekul efek utama, mencegah degradasi jaringan. Faktor-faktor tersebut mempengaruhi proses rangka sehingga dapat dihasilkan sedian histopatologi yang baik. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan NBF 10 % dengan jaggery pada jaringan hati tikus wistar. Tujuan metode elemen hingga dalam sintesis adalah untuk memperkuat struktur atau komponen molekul dengan cara menjatrynya dengan ikatan katalitik. Kelebihan fiksasi ini adalah pH mendekati netral, dapat disimpan jumlah besar dan waktu yang lama. Kekurangannya adalah memiliki waktu fiksasi yang lama (Musyarifah & Agus, 2018).

Jaggery merupakan pemanis alami yang terbuat dari konsentasi jus tebu dan dipercaya substitusi gula

yang ideal karena lebih menyehatkan. Warna Jaggery coklat kegelapan dan teksturnya kasar. Proses pembuatannya mirip dengan sirup maple dan tidak menggunakan zat kimia apapun.

Mekanisme pemanis alami dapat dijadikan sebagai zat fiksasi alternatif pengganti NBF 10% karena adanya kandungan sukrosa. Sukrosa pada pemanis alami pH rendah dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa dengan bantuan H₂O (air suling). Kemudian fruktosa dalam suasana asam membentuk gugus aldehyd. Gugus aldehyd akan berikatan silang dengan asam amino yang terdapat pada jaringan (Patil dkk, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Chittamsetti, dkk (2018) dengan judul Natural substitutes for formalin: A boon to histopathology. Tujuan penelitian ini Membandingkan larutan formalin, jaggery dan khandasari, menunjukkan hasil Jaggery konsentrasi 30% dan khandasari konsentrasi 30% dapat memberikan hasil yang baik.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, metode eksperimen static group adalah metode yang dilakukan dengan melakukan percobaan pada hewan yang bertujuan untuk mengetahui perubahan atau pengaruh yang timbul setelah dilakukan perlakuan tertentu. Serta untuk mengetahui pengaruh perbandingan fiksasi menggunakan NBF10% dan jaggery 40% dengan pewarnaan HE pada organ hati tikus putih.

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah 16 jenis tikus wistar. Dan lokasi penelitian dilakukan Laboratorium Biologi Sekolah Tinggi BaktiAsih Bandung dan Poltekes Analis Kesehatan Bandung. Penelitian dimulai dari perencanaan (Penyusunan Proposal) samapi akhir, dimulai dari bulan januari samapai Juni 2024.

Alat: Microtom, Objek glass, Open, Penggaris, Pensil, Pinset, Pisau, Scalpel, Talenan, Water bath.

Bahan: Alkohol bertingkat : 70%, 80, 95% dan 100%, Asam alkohol, Entellan, Eosin, Ethanol, Hematoxylin Alat : Based mould, Beker Glass, Cover Glass, Kaset Jaringan, Kertas Label,, Litium carbonat, NBF 10%, Parafin, Tikus wistar, Xylol, Jaggery 40%.

Prosedur Kerja

1. Persiapan Sampel
 1. Menyiapkan beker glass yang berisi formalin;
 2. Memotong organ ginjal dengan ukuran 1x1x0,5cm;
 3. Jaringan di masukan ke dalam kaset yang sudah diberi nomer pada bagian luar kaset dengan pensil dan di dalam kaset dengan kertas warna kuning.
2. Prosessing Jaringan
 - a. Fiksasi;
 - b. Dehidrasi;
 - c. Clearing;

- d. Embedding;
- e. Penanaman (Blocking);
- f. Pemotongan (Sectioning);
- g. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada pengamatan mikroskopis sediaan jaringan hati tikus wistar yang di fiksasi dengan larutan NBF 10 % dengan kriteria nilai meliputi warna pada inti sel, sitoplasma, artefak dan juga keseragaman warna pada preparat. Hasil yang di dapatkan hasil sangat baik, sedangkan pada pengamatan mikroskopis sediaan jaringan hati tikus wistar yang di fiksasi dengan larutan jaggery 40 % di dapatkan hasil kurang baik. Data tersebut diperoleh dari pengamatan langsung sediaan preparat hati yang telah diamati dibawah mikroskop data tersebut dapat dilihat dibagian lampiran.

Pada jaringan yang difiksasi menggunakan NBF 10 % selama 24 jam menunjukkan hasil yang sangat baik. Warna biru pada inti sel terlihat jelas , warna merah pada sitoplasma terlihat jelas, tidak terdapat artepak serta warna pada preparate jaringan seragam. Hal ini bisa terjadi karena waktu fiksasi dengan larutan NBF 10% yaitu 24 jam yang menjadi acuan untuk fiksasi dan sama dengan yang terdapat dalam buku bahan ajaran Teknologi Laboratorium Medis (2017) yaitu ketika menggunakan larutan fiksasi NBF 10 % selama 24 jam yang umumnya akan menunjukkan kondisi sitoplasma dan inti yang baik dan jelas, penggunaan NBF 10 % Sebagian besar akan sempurna dan terfiksasi dalam waktu 24 jam. Larutan fiksasi NBF 10 % yang digunakan untuk fiksasi yaitu dalam pH netral 7.

Mekanisme pemanis alami dapat dijadikan sebagai zat fiksasi alternatif pengganti NBF 10% karena adanya kandungan sukrosa. Sukrosa pada pemanis alami pH rendah dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa dengan bantuan H₂O (air suling). Kemudian fruktosa dalam suasana asam membentuk gugus aldehyd. Gugus aldehyd akan berikatan silang dengan asam amino yang terdapat pada jaringan (Patil dkk, 2013).

Pada pH asam, gula dalam fiksatif ini diubah menjadi aldehida yang diduga melakukan tindakan serupa sebagai formaldehida. Pada penelitian ini digunakan jaggery 40% dimana untuk membuat larutan tersebut harus di encerkan terlebih dahulu dan ketika diencerkan perlahan, menghasilkan hidrogen peroksida karena aktivasi enzim, oksidase glukosa, yang mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida memiliki antibakteri properti yang dapat mencegah bakteri dan mikroba lainnya memakan jaringan.

Pada jaringan yang di fiksasi menggunakan jaggery 40% yang di fiksasi selama 24 jam menunjukkan warna biru pada inti sel kurang terlihat, piknotik , warna merah pada sitoplasma terlihat jelas tetapi sitoplasma Sebagian jadi jernih (degenerasi lemak) , terdapat sedikit artepak serta warna pada preparate kurang seragam. Piknosis adalah proses kerusakan pada inti sel

yang ditandai dengan larutnya kromosom dan proses kondensasi pada inti sel. Piknotik diawali dengan kerusakan pada organ-organ sel dan penggumpalan kromatin. Dalam kasus kerusakan sel yang lebih akut, mula-mula inti sel mengalami piknosis. Setelah piknosis, kromatin di dalam inti sel akan larut (kariolisis) yang diikuti dengan pecahnya inti sel (karioreksis). Sedangkan degenerasi lemak merupakan kerusakan hepatosit yang ditandai dengan perubahan morfologi dan penurunan fungsi organ hati karena terjadinya akumulasi lemak yang terdapat di dalam sitoplasma sel hati. Jika dilihat secara mikroskopis sel terlihat bercak-bercak lemak kecil berwarna jernih.

Menurut Abang (2014), pewarnaan inti yang tidak jelas penyebab lainnya adalah fiksasi yang kurang merata karena kemampuan penetrasi yang rendah sehingga banyak bagian sel yang mengalami autolisis, defarfinasi yang tidak sempurna, waktu pewarnaan yang tidak tepat, proses penghilangan warna terlalu kuat dan pH inti meningkat sehingga inti tidak jelas dan inti tidak bisa mengikat kuat pewarnaan Hematoxylin. Sediaan jaringan hati tikus wistar yang di fiksasi dengan larutan jaggery 40% terdapat beberapa jaringan yang merenggang dan tidak merata hal ini disebabkan oleh proses fiksasi.

Berdasarkan uji yang telah dilakukan diperoleh nilai berdasarkan hasil uji statistic uji Mann Whitney U pada Tabel menunjukkan Sig 0.001 < 0.005 sehingga H₀ ditolak dan H₁ diterima yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada penggunaan larutan fiksatif NBF 10% dan jaggery 40% terhadap kualitas pewarnaan jaringan. Maka dapat disimpulkan larutan fiksasi yang menggunakan larutan jaggery 40% belum bisa menggantikan larutan NBF 10% terhadap kualitas fiksasi jaringan hati tikus wistar dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin. Hal ini seperti yang dikatakan oleh (Jusuf, 2009) bahwa teknik fiksasi dan waktu fiksasi merupakan tahapan awal pada proses histoteknik kesalahan yang dilakukan pada tahap fiksasi tidak akan perah diperbaiki kembali.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin pada organ hati tikus yang di fiksasi menggunakan NBF 10% dan jaggery 40%. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, kualitas fiksasi jaringan dikelompokkan dengan skala ordinal dan skor yang ditunjukkan pada tabel berikut:

1. Penilaian Preparat Jaringan Hati

- a. Warna biru pada inti sel terlihat jelas , warna merah pada sitoplasma terlihat jelas,tidak terdapat artepak serta warna pada preparate jaringan seragam. Kualitas adalah Ordinal Sangat Baik ,dengan Skor 3.
- b. Warna biru pada inti sel kurang terlihat jelas,warna merah pada sitoplasma terlihat jelas tetapi sitoplasma Sebagian jadi jernih (degenerasi lemak), terdapat sedikit artepak serta warna pada preparate kurang seragam.

- c. Kualitas adalah Ordinal Baik, dengan skor 2. Tidak terdapat warna biru pada inti sel dan inti tidak ada kromatin sehingga terjadi piknotik, tidak terdapat warna merah pada sitoplasma,terdapat banyak artepak serta warna preparate tidak seragam.
4. Kualitas adalah Ordinal Kurang Baik. Perhitungan ini menggunakan acua dari (Ariyadi, 2022).

Berdasarkan kriteria penilaian kualitas fiksasi jaringan pada tabel di peroleh data hasil penelitian sebagai berikut:

2. Hasil Penelitian

Data Hasil Penelitian

No Sampel	Validator 1	Validator 2	Validator 3
NBF 10%			
1.	3	3	3
2.	2	2	2
3.	3	3	3
4.	3	3	3
5.	3	3	3
6.	2	2	2
7.	3	3	3
8.	3	3	3
9.	2	2	2
10.	2	2	2
11.	3	3	3
12.	3	3	3
13.	2	2	2
14.	2	2	2
15.	3	3	3
16.	3	3	3
Jaggery 40%			
1.	2	2	2
2.	2	2	2
3.	1	1	1
4.	3	3	3
5.	2	2	2
6.	2	2	2
7.	2	2	2
8.	2	2	2
9.	2	2	2
10.	2	2	2
11.	2	2	2
12.	2	2	2
13.	1	1	1
14.	1	1	1
15.	2	2	2
16.	1	1	1
	dr. Komala, Sp.PA	Dani Mahmud	Vira Septi Mulia

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Jenis Pewarnaan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Kualitas	NBF 10%	.398	16	.0001	.621	16	.0001
	Pewarnaan Jagger y 40%	.385	16	.0001	.719	16	.0001

Lilliefors Significance Correction

Uji Mann Whitney U

Test Statistics^a

	Kualitas Pewarnaan
Mann-Whitney U	44.000
Wilcoxon W	180.000
Z	-3.521
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001 ^b

Uji Mann Whithney U

a. Grouping Variable: Jenis Pewarnaan

b. Not corrected for ties.

Berdasarkan output hasil uji Mann Whitney U diperoleh nilai Asymp. Sig (2 tailed) yaitu $0.001 < 0.05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hasil pewarnaan jaringan dengan menggunakan larutan fiksatif NBF 10% dan Jaggery 40%.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil dari pengamatan mikroskopis sediaan jaringan hati tikus wistar yang di fiksasi dengan larutan NBF 10% dan larutan jaggery 40% dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin dapat disimpulkan, bahwa kualitas fiksasi dengan NBF 10% menunjukan hasil yang sangat baik. Warna biru pada inti sel terlihat jelas, warna merah pada sitoplasma terlihat jelas, dan tidak terdapat artepak serta warna pada prepare jaringan seragam. Hasil lain yang didapatkan, menyatakan bahwa kualitas fiksasi dengan larutan jaggery 40% menunjukan hasil yang kurang baik, warna biru pada inti sel kurang terlihat, piknotik, warna merah pada sitoplasma terlihat jelas tetapi sitoplasma Sebagian jadi jernih (degenerasi lemak), terdapat sedikit artepak serta warna pada preparat kurang seragam.

5. DAFTAR PUSTAKA

BAB I. 1–6. (Mescher, 2016).

- Sriwahyunizah. (2018). Jurnal Perbedaan Fiksasi Bnf Dan Alkohol. Perbandingan Fiksasi Neutral Buffer Formalin 10% Dan Alkohol 70% Pada Jaringan Dengan Pewarnaan He (Hematoxylin Eosin), 1–8.
- Ariyadi, T. (2022). Proses Deparafinasi Sediaan Jaringan Ginjal Dengan Dan Tanpa Pemanasan Menggunakan Mineral Oil Pada Pewarnaan Hematoksilin-Eosin. *Jurnal Kesehatan Rajawali*, 11(2), 1–6. <https://doi.org/10.54350/jkr.v11i2.104>
- James W, Elston D, T. J. et al. (20 C.E.) Andrew's Disease of the Skin Clinical Dermatology.
- Jusuf, A . A. (2009). Histoteknik Dasar. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1–33.
- Karsyani, N. D. (2020). Studi Literatur Perbandingan Penggunaan Madu dan Neutral Buffered Formalin 10% dalam Fiksasi Jaringan.
- Khristian, Erick; Inderiati, D. (2017). Sitohistoteknologi (Jakarta). Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 443. <https://doi.org/10.25077/jka.v7.i3.p443-453.2018>
- Oktaviando, A. Y. (2022). Studi Pengaruh Lama Waktu Fiksasi terhadap Gambaran Mikroskop Jaringan dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. 25.
- Pustaka, B. A. B. T. (2013). Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). 19. [http://repository.ub.ac.id/id/eprint/5571/5/135130101111029_BAB 2.pdf](http://repository.ub.ac.id/id/eprint/5571/5/135130101111029_BAB%202.pdf)
- Swari, M. O. (2017). Pengaruh Pemberian Gel Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva. 7–24. [http://repository.umy.ac.id/bitstream/handle/123456789/13052/BAB II FIX.pdf?sequence=6&isAllowed=y](http://repository.umy.ac.id/bitstream/handle/123456789/13052/BAB%20II%20FIX.pdf?sequence=6&isAllowed=y)
- Unila. (2014). Histologi Hati (Issue September, pp. 226–235). [http://digilib.unila.ac.id/2365/8/BAB II.pdf](http://digilib.unila.ac.id/2365/8/BAB%20II.pdf)
- Wahidmurni. (2017). 濟無No Title No Title No Title. 2588–2593.
- Wahyu Baskoro. (2018). BAB II Tinjauan Pustaka BAB II TINJAUAN PUSTAKA 2.1. 1–64. *Gastronomía Ecuatoriana y Turismo Local*, 1(69), 5–24.
- Wardani, Y., & Rahmawati, Y. (2020). Systemayc Review: Pengkajian Zat Fiksasi Alternatif Pengganti NBF. (Neutral Buffer Formaline) 10 %, 4–13