

## PENGARUH PERBANDINGAN LARUTAN FIKSASI TERHADAP ORGAN HATI

Siti Mariyam, Erick Khristian, Diki Hilmi, Siti Romlah  
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Jenderal Achmad Yani Cimahi

### ABSTRAK

Fiksasi adalah proses kimia untuk pengawetan jaringan biologis sehingga mencegah autolisis seperti sel yang mengalami nekrosis dengan ciri piknotik, karioreksis atau kariolisis, juga mencegah proses pembusukan dengan adanya mikroorganisme yang tumbuh pada jaringan. Formaldehida merupakan senyawa karsinogenik yang paling banyak digunakan pada proses fiksasi untuk pembuatan sediaan histologi. Penggunaan larutan fiksasi pada jaringan adalah untuk mempertahankan morfologi jaringan seperti pada saat kondisi jaringan hidup tanpa adanya perubahan bentuk maupun ukuran. Banyak faktor yang mempengaruhi proses fiksasi antara lain konsentrasi ion hidrogen, temperatur fiksasi, waktu penetrasi, konsentrasi larutan, rasio volume terhadap spesimen, durasi fiksasi.

Tujuan penelitian: mengetahui perbandingan terbaik dari larutan fiksasi dalam pembuatan sediaan jaringan.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang terdiri dari 3 kelompok yaitu kelompok perbandingan 1:1, 1:2, dan 1:5. Masing-masing kelompok menggunakan sampel hati sapi yang berjumlah 9 sediaan. Sediaan diamati secara mikroskopis dengan perbesaran total 1000x sebanyak 5 lapang pandang. Hasil yang berupa gambar dikonversi menjadi angka menggunakan aplikasi imageJ untuk mengukur intensitas warna inti dan intensitas warna sitoplasma. Hasil uji ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna dari pengukuran intensitas warna inti dan intensitas warna sitoplasma dan tidak ada ditemukan artefak sediaan.

Disarankan hendaknya dibutuhkan korelasi antara perbandingan waktu dan fiksasi tersebut untuk melihat apakah terdapat artefak polarisasi glikogen pada sitoplasma dan dibutuhkan jaringan lain sehingga didapatkan informasi perbandingan minimal untuk jaringan yang lainnya juga.

**Kata kunci :** Formaldehida, intensitas warna inti dan intensitas warna sitoplasma

### PENDAHULUAN

Fiksasi adalah proses kimia untuk pengawetan jaringan biologis sehingga mencegah autolisis seperti sel yang mengalami nekrosis dengan ciri piknotik, karioreksis atau kariolisis, juga mencegah proses pembusukan dengan adanya mikroorganisme yang tumbuh pada jaringan. Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan jaringan seperti pada saat kondisi jaringan masih hidup tanpa adanya perubahan bentuk serta untuk mengeraskan sehingga

memudahkan pembuatan jaringan dengan irisan yang tipis (Fajrina et al. 2018).

Fiksasi konvensional yang umum digunakan adalah metode konvensional/imersi yaitu dengan merendam potongan-potongan kecil dalam cairan fiksasi. Pada metode ini, lapisan luarnya cepat terfiksasi namun bagian dalamnya terlambat dan mungkin mengalami perubahan postmortem (perbedaan karakteristik fisikokimia setelah proses pembedahan). Salah satu yang mempengaruhi fiksasi adalah waktu (Suprianto. A, 2014). Selain waktu ada juga

faktor-faktor yang mempengaruhi fiksasi yaitu penetrasi, temperatur, keseimbangan ion hidrogen, konsentrasi, dan volume (Musyarifah, Z and Agus, S 2018).

Faktor-faktor yang mempengaruhi efektifitas larutan fiksasi antara lain adalah perbandingan antara jaringan dengan larutan fiksasi itu sendiri. Penelitian Buesa and Peshkov (2012), Araphani, Jumatin, S and Dani, M., 2010), Ali Jamal et al (2014) menyebutkan bahwa larutan fiksasi dengan perbandingan 1:10 menunjukkan hasil yang baik.

Semakin lama jaringan menunggu untuk diawetkan, semakin banyak kehilangan organel sel dan pengerutan nukleus sehingga banyak artefak terbentuk. Salah satu organ yang harus diperhatikan dalam proses fiksasi adalah hati. Hati merupakan jaringan yang mudah rusak ketika tahap fiksasi karena banyak mempunyai pembuluh darah yang memungkinkan mikroorganisme untuk tumbuh disana dan membuat sel autolisis, mempunyai enzim yang mudah mengalami autolisis dibanding dengan organ lainnya. (Hacinamiento et al. 2014).

Dari latar belakang di atas baik tentang efek bahaya yang ditimbulkan oleh larutan fiksasi itu sendiri yang bersifat karsinogenik, maka peneliti bermaksud untuk melakukan penelitian tentang perbandingan yang lebih rendah antara larutan fiksasi terhadap jaringan yang direndam

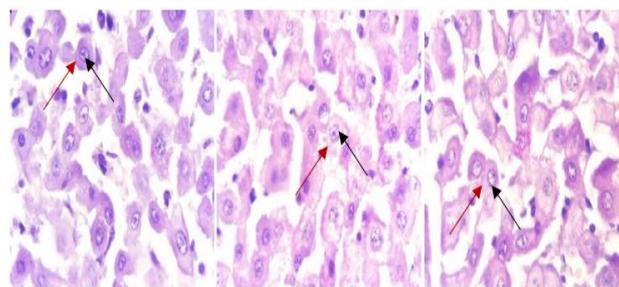
## **METODE**

Penelitian yang akan dilakukan menggunakan metode eksperimental pada sediaan hati yang diproses menggunakan larutan fiksasi NBF 10% dengan beberapa

perbandingan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ hati sebanyak 9 potongan untuk masing-masing kelompok. Kelompok pertama diproses dengan fiksasi menggunakan perbandingan 1:1, kelompok kedua diproses dengan fiksasi menggunakan perbandingan 1:2, dan kelompok ketiga diproses dengan fiksasi menggunakan perbandingan 1:5.

## **HASIL**

Berdasarkan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui perbandingan optimum larutan fiksasi terhadap jaringan telah dilaksanakan di STIKES Jenderal Achmad Yani Cimahi selama 7 hari. Penelitian ini terdiri dari 3 kelompok yaitu kelompok pertama dilakukan fiksasi menggunakan perbandingan 1:1, kelompok kedua dilakukan fiksasi menggunakan perbandingan 1:2 dan kelompok ketiga dilakukan fiksasi menggunakan perbandingan 1:5. Adapun hasil penelitian adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Jaringan hati yang di fiksasi dengan perbandingan 1:1 (A), 1:2 (B) dan 1:5 (C) yang diwarnai dengan pewarna Periodic Acid Schiff (PAS) pada perbesaran 1000x. Inti (panah hitam) dan sitoplasma (panah merah) terlihat baik dalam pewarnaan dan butiran merah pada sitoplasma yang menunjukkan keberadaan karbohidrat

Hasil dari gambar digitalisasi kemudian dilakukan analisa kuantitatif berupa pengukuran intensitas inti dan sitoplasma. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan perangkat

lunak image-J. Hasil pengukuran sitoplasma berserta uji statistik intensitas warna inti dan terlihat pada tabel 1 berikut:

Table 1. Hasil Analisa Deskriptif dan Statistik Parameter Intensitas Warna Inti dan Sitoplasma

Kelompok	Parameter Uji	N	Mean $\pm$ SD	Sig (ANOVA)
1:1	intensitas Warna Sitoplasma	9	222,30 $\pm$ 5,03	0,622
1:2		9	224,31 $\pm$ 5,69	
1:5		9	220,76 $\pm$ 10,91	
1:1	intensitas Warna Inti	9	230,83 $\pm$ 8,82	0,413
1:2		9	226,49 $\pm$ 9,67	
1:5		9	231,99 $\pm$ 8,72	

Tabel 1 di atas menunjukkan nilai terendah hingga tertinggi dari intensitas warna sitoplasma dimulai dari perbandingan 1:5, 1:1 dan terbesar adalah 1:2. Nilai terendah hingga tertinggi untuk parameter intensitas warna inti yaitu 1:2, 1:1 dan terbesar adalah 1:5. Data rata-rata dan standar deviasi kemudian dilakukan Analisa Anova yang menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna baik untuk parameter intensitas warna sitoplasma dan inti. Ketidakbedaan kelompok tersebut ditunjukkan dengan nilai sig pada Anova yang lebih dari 0,05 (0,622 untuk parameter intensitas sitoplasma dan 0,413 untuk parameter intensitas warna inti).

## PEMBAHASAN

Berdasarkan analisa data menggunakan uji Anova dapat diketahui nilai signifikan intensitas warna sitoplasma sebesar 0,622 dan nilai signifikan intensitas warna inti sebesar 0,413. Hasil dari uji Anova menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa perbandingan 1:1, 1:2 dan 1:5 tidak berpengaruh terhadap hasil pewarnaan Periodic Acid Schiff yang dilakukan pada organ hati. Hasil dari penelitian ini sejalan

dengan penelitian Buesa & Peshkov (2012) yang menunjukkan tidak ada perbedaan dalam berbagai jaringan yang difiksasi dengan perbandingan yang berbeda mulai dari 1:1 hingga 10:1 meskipun pada perbandingan 1:1 terjadi kesulitan dalam tahap pemotongan.

Peningkatan ataupun pengurangan dari intensitas inti maupun sitoplasma pada dasarnya dipengaruhi oleh komponen dalam inti maupun dalam sitoplasma. Intensitas inti dapat dipengaruhi apakah komponen DNA/RNA atau yang menyerupainya bertambah atau berkurang. Sesuai dengan penelitian Taqi (2018) dimana Idealnya, jaringan harus segera difiksasi untuk mencegah hilangnya enzim, kerusakan mitokondria, degradasi RNA dan protein dan penurunan mitosis karena anoksia yang terjadi. Jaringan autolyzed menunjukkan peningkatan eosinofilia akibat hilangnya basofilia normal yang diberikan oleh RNA dalam sitoplasma dan peningkatan pengikatan eosin pada protein intracytoplasmic terdenaturasi dan vakuolisasi sitoplasma hal inilah yang memungkinkan jika kegagalan terjadi pada fiksasi maka kemungkinan intensitas sitoplasma akan berkurang. Hal ini juga dapat terjadi pada inti dimana perubahan inti antara lain adalah piknotik yang memungkinkan terjadinya peningkatan intensitas warna inti atau kariolisis dan karioreksis yang memungkinkan terjadinya penurunan intensitas warna inti.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Larutan fiksasi NBF 10% dengan perbandingan 1:1, 1:2, 1:5 baik digunakan

dalam pembuatan sediaan jaringan organ hati.

2. Tidak terdapat perbedaan bermakna pada Intensitas warna inti dan sitoplasma yang difiksasi larutan NBF 10% dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 1:5 dalam pembuatan sediaan jaringan organ hati.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Abang Suprianto. 2014. "Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital Dengan Metode Konvensional Pada Kualitas Gambaran Histologi Hepar Tikus." *Implementation Science* 39 (1): 1–15.
- Al-azhar, Fakultas Kedokteran universitas Islam. 2011. "Perbandingan Fiksasi Larutan Bouin Dan Formalin Pada Sediaan Preparat Histologi Testis Marmut Rusmiatik," no. 20: 5–9.
- Ali Jamal, Awatif, Gamal Said Abd El-Aziz, Raid Mahmoud Hamdy, Abdulmonem Al-Hayani, and Jaudah Al-Maghrabi. 2014. "The Innovative Safe Fixative for Histology, Histopathology, and Immunohistochemistry Techniques: 'Pilot Study Using Shellac Alcoholic Solution Fixative.'" *Microscopy Research and Technique* 77 (5): 385–93.
- Araphani, Jumatin, S and Dani, M. 2010. "Perbandingan Fiksasi Menggunakan Nbf 10% Dan Madu Terhadap Keutuhan Komponen Jaringan Hati Dengan Pewarnaan He" 11 (2): 224–31.
- Buesa, René J., and Maxim V. Peshkov. 2012. "How Much Formalin Is Enough to Fix Tissues?" *Annals of Diagnostic Pathology* 16 (3): 202–9.
- Fajrina, Syarifah Nur, Tulus Ariyadi, Fitri Nuroini, and Universitas Muhammadiyah Semarang. 2018. "Gambaran Kualitas Sediaan Jaringan Hati Menggunakan Larutan Fiksatif NBF 10 % Dan Alkohol 70 % Pada Pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin )" 1: 60–65.
- Groelz, Daniel, Leslie Sobin, Philip Branton, Carolyn Compton, Ralf Wyrich, and Lynne Rainen. 2013. "Non-Formalin Fixative versus Formalin-Fixed Tissue: A. *Comparison of Histology and RNA Quality." Experimental and Molecular Pathology* 94 (1): 188–94.
- Hacinamiento, E L, and E N El. 2014. "Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital Dengan Metode Konvensional Pada Kualitas Gambaran Histologi Hepar Tikus."
- Khristian, Erick, and Dewi Inderiati. 2017. *Sitohistoteknologi. PPSDM Kemenkes RI.*
- Musyarifah, Z and Agus, S. 2018. "Proses Fiksasi Pada Pemeriksaan Histopatologik." *Jurnal Kesehatan Andalas* 7 (3): 443–53.
- Safrida. 2012. "Deteksi Senyawa Mukopolisarida Dengan Pewarnaan Alcian Blue Pada Ovarium Dan Uterus Tikus Putih *Rattus Norvegicus.*" *Jesbio* 1 (1): 2302–1705.
- Bindhu, PR, Khrishnapillia, R, Thomas, P and Jayanthi, P. 2013. "Fact in artifacts." *Departement of Oral Pathoogy and Microbiology, Annoor Dental College, Muvattupuzha, Emakulam, Kerela, India* 17 (10): 114-122
- Taqi, AS, Sami, SA and Zaki, SA. 2018. "A Review of Artifacts in Histopathology." *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology : JOMFP.*(2)22: 279