

## Histologi Jaringan Hepar Mencit (*Mus Musculus*) yang Difiksasi dengan Larutan Carnoy dengan Variasi Waktu 4 Jam, 8 Jam dan 12 Jam

### *Histology of Mice (*Mus Musculus*) Liver Tissue Fixed with Carnoy's Solution With Variation of 4 Hours, 8 Hours and 12 Hours*

ARIN DWI AFRIDA  
DJOKO PRIYATNO

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Semarang  
Jl. Wolter Monginsidi Pedurungan Tengah Semarang  
Email: [arindwiafrida@gmail.com](mailto:arindwiafrida@gmail.com)

#### Abstrak

Pemeriksaan histopatologi adalah pemeriksaan rutin yang dilakukan untuk setiap jaringan dalam laboratorium patologi anatomik. Tahapan dalam pembuatan sediaan histologi adalah tahapan fiksasi. Jenis larutan yang dapat digunakan sebagai larutan fiksatif selain NBF 10% yaitu larutan Carnoy. Larutan Carnoy merupakan larutan fiksatif dengan proses fiksasi yang relatif cepat sekitar 1-4 jam. Kelebihan dari larutan Carnoy dapat melisis eritrosit serta melarutkan lipid, mempunyai kemampuan mempertahankan inti sel dan menahan glikogen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui gambaran histologi sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang difiksasi menggunakan larutan Carnoy dengan waktu 4 jam, 8 jam, dan 12 jam. Merupakan penelitian observasional dengan rancangan kriteria penelitian deskriptif. Hasil gambaran histologi sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang difiksasi menggunakan larutan NBF 10% didapatkan 100% sediaan yang baik. Pada sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang difiksasi menggunakan larutan Carnoy dengan waktu 4 jam didapatkan sebanyak 2.2% sediaan yang kurang baik dan 97.78% sediaan yang baik. Pada sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang difiksasi menggunakan larutan Carnoy dengan waktu 8 jam didapatkan sebanyak 11.11% sediaan yang kurang baik dan 88.89% sediaan yang baik. Pada sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang difiksasi dengan menggunakan Carnoy dengan waktu 12 jam didapatkan sebanyak 44.44% sediaan yang kurang baik dan 55.56% sediaan yang baik.

**Kata Kunci :** Gambaran Histologi ; Hepar Mencit ; Fiksasi ; NBF 10% ; Larutan Carnoy

#### Abstract

*Histopathological examination is a routine examination process for each tissue in the anatomic pathology laboratory. The stages in making histology preparations are fixation stages. The type of solution that can be used as a fixative solution other than 10% NBF is Carnoy's solution. Carnoy's solution is a fixative solution with a relatively fast fixation process of about 1-4 hours. The advantages of Carnoy's solution can lyse erythrocytes and dissolve lipids, have the ability to maintain cell nuclei, and retain glycogen. The purpose of this study was to determine the histology of the liver tissue preparations of mice (*Mus Musculus*) which were fixed using Carnoy's solution with time variations of 4 hours, 8 hours, and 12 hours. This is an observational research with descriptive research design criteria. The results of the histology of the liver tissue preparations of mice (*Mus Musculus*) which were fixed using the 10% NBF solution group obtained 100% good preparations. In the Carnoy solution group with a time of 4 hours, it gave 2.2% results of poor preparations and 97.78% of good preparations. While the treatment group with Carnoy's solution with a time of 8 hours obtained as many as 11.11% of preparations that were not good and 88.89% of*



good preparations. and in the Carnoy solution group with a time of 12 hours, there were 44.44% of the poor preparations and 55.56% of the good preparations.

**Keywords:** Microscopic Overview ; Mice Liver ; Fixation ; 10% NBF ; Carnoy's Solution

## 1. Pendahuluan

Fiksasi merupakan langkah dasar pada studi patologi dan sangat berguna dalam mencegah autolysis, degradasi jaringan maupun komponen jaringan sehingga dapat diamati secara anatomis maupun histologi (Musyarifah & Agus, 2018). Fiksasi yang baik ialah yang mampu mempertahankan sel serta komponen jaringan pada kondisi "life-like state" yang berarti kondisi sediaan yang diperiksa akan memberikan hasil yang sama seperti kondisi pada saat jaringan masih hidup (Musyarifah & Agus, 2018).

Larutan fiksasi yang sering digunakan dan menjadi standar utama dalam laboratorium PA yaitu NBF (Neutral Buffered Formalin) 10% sebab larutan ini mudah didapat, sederhana, tingkat keasaman yang mendekati netral, serta bias disimpan dalam jumlah besar dalam waktu yang lama (Fajrina et al., 2018). Kelemahan NBF 10% salah satunya mempunyai daya penetrasi yang lama berkisar 12-24 jam sehingga membuat hasil yang dikeluarkan dokter PA akan jauh lebih lama.

Larutan Carnoy merupakan salah satu larutan fiksatif dengan komposisi 60 ml etanol, 30 ml kloroform, dan 10 ml asam asetat glasial. Kelebihan larutan Carnoy adalah memiliki daya penetrasi yang cepat membuat proses fiksasi lebih cepat selesai, menurut Musyarifah dan Agus (2018) larutan Carnoy memiliki waktu fiksasi sekitar 1-4 jam. Kelebihan yang lain dapat melisis eritrosit serta melarutkan lipid, mempunyai kemampuan mempertahankan inti sel dan menahan glikogen (Musyarifah & Agus, 2018). Fiksatif Carnoy cepat beraksi dan dapat digunakan untuk spesimen mendesak untuk pemrosesan parafin dalam lima jam (Ahmed & Mohammed, 2011).

Pada penelitian kali ini mengambil jaringan hepar pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) karena menurut Fajrina, Ariyadi, & Nuroini (2018) hepar mempunyai struktur yang lunak, serta menurut Jusuf (2009) terdapat komponen yang dapat mengganggu proses fiksasi antara lain darah, lemak, serta kandungan air yang tinggi. Tidak hanya itu, banyak faktor yang mempengaruhi proses fiksasi seperti konsentrasi ion hidrogen atau pH netral, suhu penetrasi fiksasi, *penetration rate* dan ketebalan pemotongan sekitar 3-4 mm, konsentrasi larutan, volume fiksasi dengan perbandingan 20:1, dan waktu fiksasi (Musyarifah & Agus, 2018).

## 2. Metode

Penelitian ini termasuk penelitian observasional menggunakan kriteria penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif bertujuan untuk mendeskripsikan hasil pengamatan histologi sediaan jaringan hepar pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy pada variasi waktu 4 jam, 8 jam, dan 12 jam. Desain penelitian yang dipakai yaitu pendekatan studi purposive sampling menggunakan cara penetapan kriteria penilaian yang sama dengan tujuan penelitian ini sehingga akibatnya dapat memberikan jawaban permasalahan pada penelitian ini. Kriteria penelitian tersebut berisikan gambaran kualitas preparat jaringan hepar dilihat dari inti sel, sitoplasma, batas antar sel dan keseragaman warna preparat jaringan hepar. Hasil tersebut didapatkan berdasarkan Pengamatan menggunakan alat mikroskop dengan perbesaran 10x40.

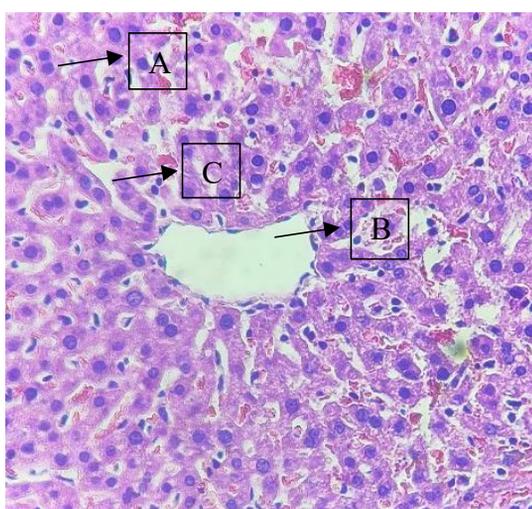
### 3. Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan perhitungan menggunakan tabel kriteria penilaian yang kemudian dikategorikan sesuai total skoring kualitas histologi sediaan didapatkan hasil pengamatan sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan NBF 10% dan larutan Carnoy pada variasi waktu 4 jam, 8 jam dan 12 jam sebagai berikut :

**Tabel 1** Hasil pengamatan gambaran histologi sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan NBF 10% dan larutan Carnoy dalam 36 preparat dengan 180 lapang pandang.

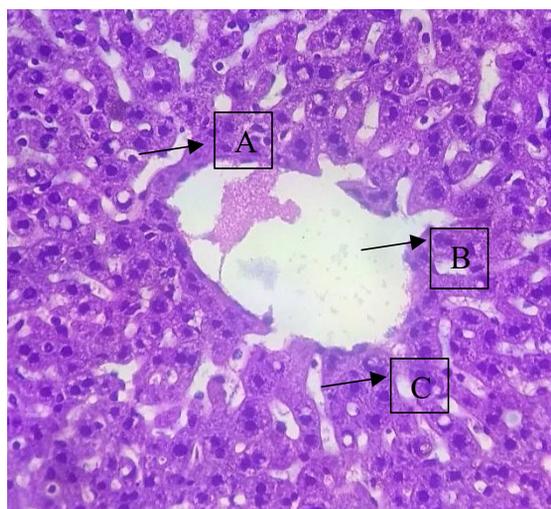
Gambaran histologi	Larutan fiksasi			
	NBF	4 jam	8 jam	12 jam
Tidak Baik	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Kurang Baik	0 (0%)	1 (2,2%)	5 (11,11%)	20 (44,44%)
Baik	45 (100%)	44 (97,78%)	40 (88,89%)	25 (55,56%)
Total lapang pandang	45	45	45	45

Hasil penelitian berdasarkan gambaran histologi sediaan jaringan hepar pada hewan coba mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy pada variasi waktu 4 jam secara deskriptif hampir sama dan menghasilkan kualitas sediaan yang sebanding dengan menggunakan NBF 10% hanya selisih 2.22% dari presentase kualitas preparat yang baik. Sedangkan hasil penelitian dari gambaran histologi sediaan jaringan hepar pada hewan coba mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy dengan variasi waktu 8 jam secara deskriptif memiliki selisih 11,11% dari presentasi kualitas yang baik dengan gambaran histologi sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan NBF 10%. Sebaliknya hasil hasil penelitian dari gambaran histologi sediaan jaringan hepar pada hewan coba mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy dengan variasi waktu 12 jam secara deskriptif memiliki selisih yang sangat signifikan yaitu 44,44% dari presentasi kualitas yang baik dengan gambaran histologi sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan NBF 10%.



**Gambar 1** gambaran histologi jaringan hepar mencit yang difiksasi dengan larutan NBF 10% (400x)

(A) Inti sel tampak berwarna biru

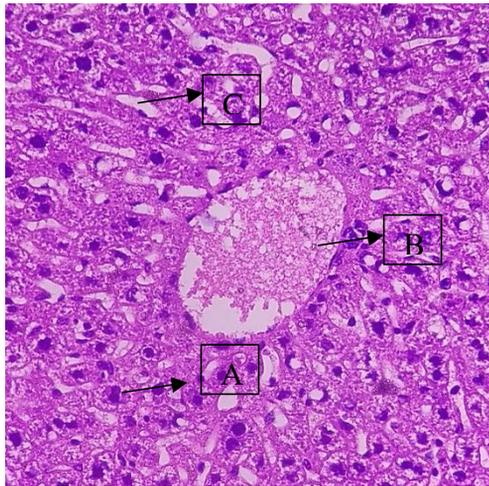


**Gambar 2** gambaran histologi jaringan hepar mencit yang difiksasi menggunakan larutan Carnoy dengan waktu 4 jam (400x)

(D) Inti sel tampak berwarna biru keunguan

keunguan gelap dengan sitoplasma dan batas sel terlihat jelas

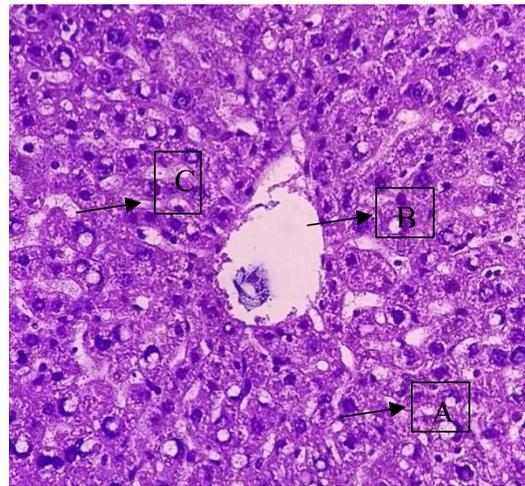
- (B) Vena sentral, terdapat eritrosit
- (C) sinusoid



**Gambar 3** gambaran histologi jaringan hepar mencit yang difiksasi menggunakan larutan Carnoy dengan waktu 8 jam (400x)  
(A) Inti sel tampak berwarna biru keunguan gelap dengan sitoplasma yang terlihat berwarna merah pucat dan kurang jelas, namun batas sel terlihat jelas  
(B) Vena sentral, terdapat eritrosit  
(C) Sinusoid

gelap dengan sitoplasma dan batas sel terlihat jelas

- (E) Vena sentral, terdapat eritrosit
- (F) Sinusoid



**Gambar 4** gambaran histologi jaringan hepar mencit yang difiksasi menggunakan larutan Carnoy dengan waktu 12 jam (400x)  
(A) Inti sel warna biru dan bentuknya tidak jelas dengan sitoplasma yang terlihat berwarna merah pucat dan kurang jelas, serta batas sel tidak jelas  
(B) Vena sentral  
(C) Sinusoid

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, pengamatan histologi sediaan jaringan hepar hewan mencit (*Mus musculus*) dengan kriteria penilaian keseragaman warna, warna inti, warna sitoplasma dan batas sel didapatkan hasil dimana gambaran histologi sediaan jaringan hepar pada hewan coba mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy dengan variasi waktu 4 jam lebih bagus daripada gambaran histologi sediaan jaringan hepar hewan mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy dengan variasi waktu 8 jam dan 12 jam.

Pada pengamatan sediaan jaringan yaitu penilaian keseragaman warna yang dilihat pada perbesaran 100x. Pada gambaran histologi sediaan jaringan hepar hewan mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan NBF 10% menunjukkan keseragaman warna yang sangat baik. Sedangkan gambaran histologi sediaan jaringan hepar hewan mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy pada variasi waktu 4 jam, 8 jam dan 12 jam beberapa sediaan jaringan menunjukkan intensitas keseragaman warna kurang, dimana warna yang ditimbulkan tidak rata. Hal ini bisa disebabkan karena adanya jaringan yang melipat karena pemotongan jaringan yang kurang stabil atau kurang baik, pemotongan jaringan yang tidak rata terdapat penitipas dan penebalan jaringan.

Berdasarkan hasil penilaian dengan kriteria warna sitoplasma yang diperoleh bahwa pada larutan Carnoy dengan waktu 4 jam memberikan hasil yang lebih baik dari pada larutan Carnoy dengan waktu 8 jam dan 12 jam. Kelompok larutan Carnoy dengan waktu 4 jam memberikan hasil yang tidak jauh berbeda dengan kontrol NBF 10%. Pada kelompok larutan Carnoy dengan waktu 8 jam dan 12 jam memberikan efek buruk pada sitoplasma, dimana sitoplasma tampak pudar bahkan sulit diidentifikasi. Hal ini disebabkan terlalu lama proses fiksasi yang mengakibatkan efek denaturasi alkohol pada kandungan larutan Carnoy yaitu

etanol yang memberikan pengerutan pada jaringan sehingga membuat jaringan rusak. Kerusakan jaringan tersebut akan memberikan warna pucat atau pudar pada sitoplasma. Hal ini juga didukung oleh penelitian Nuralim et al pada tahun 2017 bahwa sifat denaturasi alkohol dalam preservasi jaringan dapat menyebabkan efek shrinking yang menyebabkan kerusakan jaringan akibat bentuk yang mengkerut. Kerusakan jaringan yang didasari oleh efek denaturasi juga diikuti oleh kerusakan sitoplasma yang menyebabkan tampak sediaan menjadi buram. Selain itu, bahan fiksatif yang mengandung alkohol seperti larutan Carnoy yang memiliki kemampuan instant coagulant, terkadang dapat menyebabkan kerusakan pada mikro anatomi hewan seperti embrio.

Pada kriteria penilaian inti sel, kelompok larutan Carnoy dengan waktu 4 jam juga memberikan hasil yang lebih baik dari pada kelompok larutan Carnoy dengan waktu 8 jam dan 12 jam. Bahkan gambaran histologi jaringan hepar yang difiksasi oleh larutan Carnoy dengan waktu 4 jam lebih bagus dari pada kelompok kontrol NBF 10%. Hal ini dibuktikan dengan hasil penilaian bahwa seluruh lapang pandang pada gambaran histologi jaringan hepar yang difiksasi larutan Carnoy dengan waktu 4 jam memberikan hasil inti sel yang baik dimana berwarna biru keunguan. Dengan kata lain larutan Carnoy dapat mempertahankan inti sel lebih baik dari pada larutan NBF 10%. Hal ini juga didukung oleh penelitian Musyarifah dan Agus tahun 2014 dimana proses fiksasi dengan Carnoy yang adekuat karena adanya kandungan asam asetat glasial yang dapat menarik zat warna bersifat basa karena itu dapat membuktikan bahwa kelebihan fiksasi menggunakan larutan Carnoy dapat mempertahankan inti sel sehingga memberikan gambaran yang baik dan jelas. Namun kelebihan waktu dalam fiksasi menggunakan larutan Carnoy akan menyebabkan kerusakan pada materi kromatin. Sehingga warna pada inti menjadi pucat akibat kerusakan kromatin yang tidak dapat menyerap warna.

Berdasarkan hasil penilaian dengan kriteria batas antar sel yang diperoleh bahwa pada larutan Carnoy dengan waktu 4 jam memberikan hasil yang baik tetapi tidak lebih baik dari kelompok larutan Carnoy dengan waktu 8 jam karena hasil batas antar sel jelas. Bahkan pada kontrol NBF memberikan hasil yang lebih baik dari pada kelompok larutan Carnoy.

#### 4. Simpulan dan Saran

##### Simpulan

Histologi sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) dengan kriteria penilaian keseragaman warna, warna inti, warna sitoplasma dan batas sel didapatkan hasil dimana gambaran histologi sediaan jaringan hepar hewan mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy dengan variasi waktu 4 jam lebih bagus daripada gambaran histologi sediaan jaringan hepar hewan mencit (*Mus Musculus*) yang dilakukan fiksasi menggunakan larutan fiksasi Carnoy dengan variasi waktu 8 jam dan 12 jam. Kelompok larutan Carnoy dengan waktu 4 jam memberikan hasil yang tidak jauh berbeda dengan kontrol NBF 10%.

##### Saran

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya tentang gambaran histologi jaringan yang dilakukan fiksasi dengan menggunakan larutan Carnoy dengan sampel organ yang berbeda. Serta penelitian untuk membandingkan larutan fiksasi lain seperti Methacam, Bouin, Zenker dan larutan fiksasi lainnya selain dengan NBF 10%, pada organ yang sama dengan penelitian ini.

#### 5. Daftar Pustaka

Ahmed, H. G., and Mohammed, A. I. I. (2011). A comparison study of histochemical staining of various tissues after Carnoy's versus after formalin fixation. *Journal of Cancer Science and Therapy*, 3(4), 84–87.

<https://doi.org/10.4172/1948-5956.1000065>

- Ariyadi, T. (2017). Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode *Microwave* Dan *Conventional Histoprocessing* Pewarnaan Hematoksilin Eosin. *Jurnal Labora Medika*. 1 (1) : 7-11.
- Dias, A.R., Pereira, M.A., Mello, E.S., Zilberstein, B., Ceconello, I., Junior, U.R. (2014). *Carnoy's solution increases the number of examined lymph nodes following gastrectomy for adenocarcinoma: a randomized trial*. Brazil : The International Gastric Cancer Association and The Japanese Gastric Cancer Association.
- Fajrina, S. N., Ariyadi, T., Nuroini, F., dan Semarang, U. M. (2018). *Gambaran Kualitas Sediaan Jaringan Hati Menggunakan Larutan Fiksatif NBF 10 % dan Alkohol 70 % pada Pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin) dapat menyebabkan larutan fiksatif tidak menyerap dengan baik . Potongan jaringan yang diketahui bahwa metode fiksasi i. 1, 60–65.*
- Jusuf, Ahmad A. (2009). Histoteknik Dasar. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Khristian, E., dan Inderiati, D. (2017). *Sitohistoteknologi* (N. Fitriana & H. Junianto (eds.); 2017th ed.). Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Lael, B. F., Sntosa, B., dan Aryadi, T. (2018). Perbedaan Penggunaan Xylol (Xylene) dan Toluol (Toluene) pada Proses Clearing terhadap Kualitas Preparat Awetan Permanen *Cimex lectularius*. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus, 1*, 232–237.
- Miranti, I.P. (2010). Pengolahan Jaringan Untuk Penelitian Hewan Coba. *Skripsi*. Universitas Diponegoro.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 443. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i3.900>
- Nuralim, E. R., Rahayu, I. D., & Bekti, R. S. (2017). *Comparative Analysis Of Fixation Using Carnoy Solution and Formalin Solution in Chicken Embryo ' S Somites , Neural Tube , and Vascular Age Of 48 Hours With Hematoxylin-Eosin Staining Abstract Pendahuluan Embriologi merupakan ilmu yang sejak dari masa pem. 4.*