

Profil Mikroskopis Jaringan Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Difiksasi dengan *Neutral Buffered Formalin* (NBF 10%) dan Larutan Helly

*Microscopic Profile of Mice Liver Tissue (*Mus musculus*) Fixed with Neutral Buffered Formalin (NBF 10%) and Helly Solution*

MELLY AGUSTIN

Rumah Sakit Puri Indah

Jl. Puri Indah Raya S-2, RT.1/RW.2, Kembangan Sel., Kembangan, Jakarta

Email: mellyagustin11082000@gmail.com

Abstrak

Larutan fiksatif yang banyak digunakan di laboratorium patologi anatomi adalah NBF 10%, kelebihan NBF 10% yaitu pH mendekati netral, dapat disimpan dalam jumlah banyak untuk waktu yang lama. Larutan fiksatif Helly merupakan fiksatif sitoplasma yang baik dan waktu fiksasi hanya 2-3 jam. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan metode analisis deskriptif. Gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang di fiksasi dengan NBF 10% didapatkan sebanyak 100% sediaan baik. Sedangkan yang difiksasi dengan larutan Helly didapatkan sebanyak 66% sediaan baik. Kesimpulan: Hasil gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan NBF 10% lebih baik dari larutan Helly

Kata Kunci : Gambaran Mikroskopis ; Hepar Mencit ; Larutan NBF 10% ; Larutan Helly

Abstract

*The fixation solution that is widely used in anatomical pathology laboratories is NBF 10%, the excess of NBF 10% because the pH is close to neutral, can be stored in large quantities and a long time. Helly's fixation solution is a good fixation solution for the cytoplasm, and only requires 2-3 hours of fixation. Knowing the microscopic picture of the preparation of hepar mencit tissue (*Mus musculus*) fixated with NBF 10% and Helly solution. This research is an experimental study with a descriptive analysis approach. picture of hepar mencit tissue preparation (*Mus musculus*) fixation with NBF 10% obtained as much as 100% good preparation. While the fixated with Helly solution obtained as much as 66% good preparation. Conclusion: Microscopic picture of hepar mencit tissue preparation (*Mus musculus*) fixated with NBF is 10% better than Helly solution.*

Keywords: *Microscopic Picture ; Hepar Squeak ; NBF Fixation Solution 10% ; Helly Solution.*

1. Pendahuluan

Histoteknik merupakan serangkaian proses dalam pembuatan sajian histologi yang berasal dari spesimen melalui serangkaian proses sehingga preparat dapat diamati dan dianalisa (Jusuf, 2009). Menurut Fajrina et al (2018) histoteknik adalah metode untuk membuat sajian histologi dari jaringan tertentu melalui rangkaian proses hingga menjadi sediaan yang siap diamati secara mikroskopis. Sediaan yang berkualitas baik sangat dibutuhkan oleh patolog untuk menjawab permasalahan yang timbul. Dasar dari pembuatan sediaan histologi yang baik terletak pada tahap fiksasi (Suprianto, 2014).

Larutan fiksasi yang umum digunakan di laboratorium patologi anatomi adalah *Neutral Buffer Formalin 10%* (NBF 10%). Larutan ini merupakan larutan yang menjadi standar utama di laboratorium patologi anatomi karena luratnnya mudah didapat, sederhana, dan



tingkat derajat keasaman yang mendekati netral (pH) (Fajrina et al., 2018). Kelebihan larutan fiksasi ini adalah pH mendekati netral, dapat disimpan dalam jumlah besar dan waktu yang lama (Khristian & Inderiati, 2017). Kekurangan larutan fiksasi ini adalah memiliki daya fiksasi yang lama yaitu 12-24 jam (Miranti, 2010). Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa gambaran dari sediaan jaringan hepar mencit dengan fiksasi larutan NBF 10 % menghasilkan sediaan yang lebih baik dibandingkan larutan Carnoy (Afrida & Priyatno, 2021).

Larutan Helly merupakan salah satu larutan fiksasi yang baik untuk sitoplasma. Larutan ini hanya memerlukan waktu 12 jam untuk memperbaiki jaringan dengan ketebalan 3 mm (Histochem J, 1969 dalam Musyarifah & Agus, 2018). Durasi waktu fiksasi menggunakan formalin buffer netral 10% lebih lama dibandingkan dengan durasi waktu larutan Helly yang hanya membutuhkan waktu 4 sampai 24 jam (Musyarifah & Agus, 2018). Menurut Musyarifah & Agus (2018), Kekurangan yang dimiliki larutan Helly antara lain: perendaman dalam waktu lama (2-3 hari) dapat menyebabkan jaringan menjadi keras dan rapuh; jaringan yang akan difiksasi harus mempunyai ketebalan < 5mm, harga *mercuri chloride* dan *formaldehyde* yang cukup mahal dan bersifat toksik.

Larutan fiksasi yang digunakan untuk proses fiksasi sangat beragam. Larutan- larutan tersebut tentu saja memiliki kelebihan dan kekurangan masing- masing sehingga menjadi dasar bagi peneliti untuk memilih dan menggunakan larutan fiksasi tertentu. Dikarenakan fiksasi menggunakan larutan Helly belum banyak diketahui dan digunakan, Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan NBF 10% dan larutan Helly.

2. Metode

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan pendekatan analisis deskriptif. Penelitian deskriptif bertujuan untuk menggambarkan hasil pengamatan mikroskopis terhadap hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan larutan Helly. Desain penelitian yang digunakan dalam eksperimen ini yaitu dengan pendekatan studi *purposive sampling* yaitu metode pengambilan sampel dengan cara menetapkan kriteria penilaian yang sesuai dengan tujuan penelitian sehingga diharapkan dapat menjawab permasalahan. Penelitian ini dilaksanakan bulan November 2020 sampai dengan bulan Maret 2021. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Analis Kesehatan.

Pada penelitian ini sampel yang digunakan dibagi menjadi 6 blok dimana setiap blok dibuat 5 preparat untuk masing-masing pembuatan preparat, sehingga total preparat berjumlah 60 preparat dengan pembagian 30 preparat dengan fiksasi larutan NBF 10% dan 30 preparat dengan fiksasi larutan Helly. Untuk kriteria penilaian yaitu melihat gambaran inti sel, sitoplasma, sel endotel dan keseragaman warna untuk tiap preparat.

3. Hasil dan Pembahasan

Adapun hasil dan pembahasan pada penelitian ini pada kriteria penilaian adapat dilihat pada table 1-2 di bawah ini :

Tabel 1 kriteria penilaian gambaran mikroskopis

No	Struktur	Deskripsi	Skala nominal
1	Inti sel	Bentuk inti sel tidak teridentifikasi	0
		bentuk inti sel tidak jelas	1
		bentuk inti sel kurang jelas	2
		bentuk inti sel jelas	3
2	Sitoplasma	Sitoplasma tidak teridentifikasi	0
		sitoplasma tidak jelas	1
		Sitoplasma kurang jelas	2
		sitoplasma jelas	3
3	Keseragaman Warna	Warna tidak teridentifikasi	0
		Warna tidak seragam	1
		Warna kurang seragam	2
		Warna seragam	3
4	Sel Endotel	Sel endotel tidak teridentifikasi	0
		Sel endotel tidak jelas	1
		Sel endotel kurang jelas	2
		Sel endotel jelas	3

Sumber : Kriteria ini diambil dari penelitian (Elen,2019) yang dikembangkan dari (Ariyadi & Suryono, 2017)

Tabel 2 Skoring Kualitas Mikroskopis Sediaan

No	Deskripsi	Nilai
1.	Tidak baik	0-4
2.	Kurang baik	5-8
3.	Baik	9-12

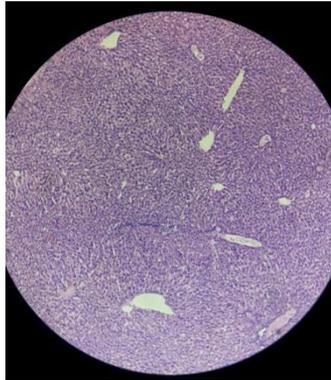
Sumber : Kriteria ini diambil dari penelitian (Elen, 2019) yang dikembangkan dari (Prasetiawan E., Sabri E., dan Ilyas S.,2012)

Hasil pengamatan sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang di fiksasi dengan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% selama 24 jam dan larutan Helly selama 4 jam dilakukan perhitungan menggunakan tabel kriteria penilaian kemudian dikategorikan sesuai total skoring kualitas mikroskopis sediaan didapatkan hasil yang disajikan dalam bentuk grafik sebagai berikut.

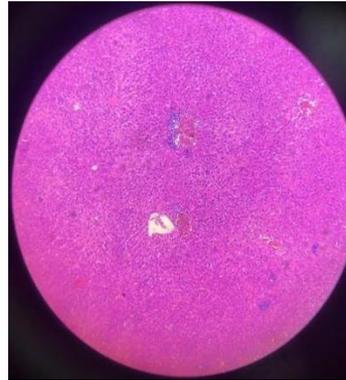
Grafik 1 presentase gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang di fiksasi dengan NBF 10% dan larutan Helly.



Gambar 1 Keseragaman warna sediaan hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan NBF 10%

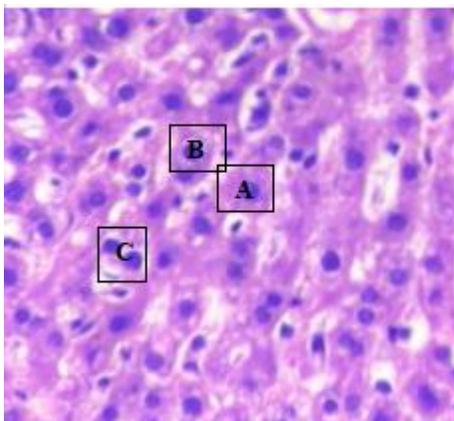


Gambar 2 Keseragaman warna sediaan hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan larutan Helly



Berdasarkan gambar 1 dan gambar 2 dapat dilihat bahwa keseragaman warna untuk sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan *neutral buffered formalin* 10% dan larutan Helly memiliki keseragaman warna yang baik.

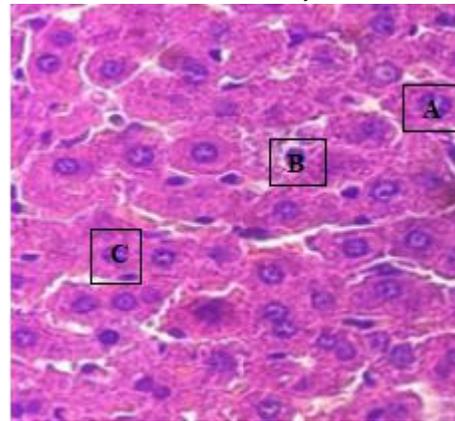
Gambar 3 Mikroskopis hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan NBF 10%



Keterangan :

- A: tampak sitoplasma berwarna merah muda terang
- B: tampak inti sel ungu kebiruan terang
- C: tampak sel endotel ungu kebiruan terang

Gambar 4 mikroskopis hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan larutan Helly



Keterangan :

- A: tampak sitoplasma berwarna merah muda gelap
- B: tampak inti sel ungu kebiruan gelap
- C: tampak sel endotel ungu kebiruan gelap

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil pengamatan gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang difiksasi dengan *neutral buffered formalin*, 100% sediaan baik, presentase nilai didapatkan berdasarkan kriteria penilaian mikroskopis jaringan pada tabel 1 kemudian diambil nilai rata-rata keseluruhan total preparat dari hasil gambaran mikroskopis tersebut yang dibaca dalam 30 lapang pandang dengan 6 sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*). Jaringan yang difiksasi dengan NBF 10% selama 24 jam menunjukkan hasil yang paling baik, hal tersebut sama dengan yang terdapat dalam buku bahan ajar teknologi laboratorium medis (2017) yaitu ketika menggunakan larutan fiksasi *Neutral Buffered Formalin* (NBF 10%) selama 24 jam umumnya akan menunjukkan kondisi sitoplasma, inti, dan sel endotel yang baik dan rinci, penggunaan NBF 10% sebagian besar akan sempurna terfiksasi dalam waktu 24 jam (Khristian & Inderiati, 2017). Larutan fiksasi NBF 10% yang digunakan yaitu dalam pH netral 7, menurut Alwi (2016) jika pH buffer formalin diluar rentang nilai 6-8 secara garis

besar akan menyebabkan perubahan pada struktur jaringan menjadi rusak akibat jumlah ion dalam jaringan yang dapat terpengaruhi. Sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang di fiksasi dengan NBF 10% terdapat beberapa jaringan yang merenggang dan robek hal itu disebabkan oleh proses fiksasi yang tidak sempurna. Menurut Suprianto (2014) kerusakan yang terjadi dapat dipengaruhi oleh fiksasi, hal ini seperti yang dikatakan oleh Fajrina et al (2018) bahwa teknik fiksasi merupakan tahap awal pada proses histoteknik. Kesalahan yang dilakukan pada tahap fiksasi tidak akan pernah dapat diperbaiki kembali, walaupun proses selanjutnya telah dilakukan dengan benar. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa gambaran dari sediaan jaringan hepar mencit dengan fiksasi larutan NBF 10 % menghasilkan sediaan yang baik 100% dibandingkan larutan Carnoy yang hanya menghasilkan sediaan yang baik sebanyak 55,56% (Afrida & Priyatno, 2021). Penelitian lain tentang gambaran mikroskopis preparat ginjal mencit (*Mus musculus*) yang dideparafinisasi dengan *xylol* dan minyak zaitun menghasilkan preparat yang dideparafinisasi dengan *xylol* dalam 80 lapang pandang didapatkan 100% preparat yang baik, sehingga *xylol* sebagai larutan gold standar masih tetap sebagai larutan yang terbaik pada proses deparafinisasi (Pratiwi & Armalina, 2021).

Hasil pengamatan gambaran mikroskopis preparat jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan larutan Helly menunjukkan sebanyak 7% sediaan yang tidak baik, 27% sediaan yang kurang baik, dan 66% sediaan yang baik. Sediaan yang tidak baik merupakan sediaan yang inti sel, sitoplasma, sel endotel dan keseragaman warnanya terlihat tidak jelas. Keseragaman warna terlihat tidak begitu baik karena warna yang di hasilkan terlalu ringan dan warna ungu dari hematoksilin terlihat berlebihan. Hal ini disebabkan waktu saat melakukan pengecatan terlalu lama didiamkan dan masih ada endapan endapan dari reagen yang digunakan ataupun alat yang kurang bersih sehingga keseragaman warna kurang baik. Menurut Sultana (2011) dengan menggunakan prosedur penggunaan waktu yang standar, tidak menjamin akan mendapatkan hasil yang baik. Pengaturan waktu dalam proses pewarnaan sangat penting karena ketepatan waktu akan dipengaruhi oleh tipe dari tiap jaringan yang diproses, sehingga penggunaan waktu bisa berubah sesuai dengan kebutuhan. Dalam proses fiksasi juga ada beberapa faktor yang bisa mempengaruhi diantaranya adanya komponen yang bisa mengganggu proses saat fiksasi yaitu lemak, darah, dan kandungan air yang tinggi (Jusuf, 2009).

4. Simpulan dan Saran

Simpulan

Hasil pengamatan gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit (*Mus Musculus*) yang difiksasi dengan *neutral buffered formalin* 10% dalam 30 lapang pandang didapatkan sebanyak 100% sediaan yang baik. Pada hasil pengamatan gambaran mikroskopis sediaan jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi dengan larutan Helly didapatkan sebanyak 7% sediaan yang tidak baik, 27% sediaan kurang baik, dan 66% sediaan yang baik. Fiksasi menggunakan larutan *neutral buffered formalin* 10% lebih baik dibandingkan difiksasi dengan larutan Helly.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan untuk membuat preparat sediaan jaringan dengan menggunakan larutan *neutral buffered formalin* 10% pada proses fiksasi karena memberikan hasil terbaik. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya tentang gambaran mikroskopis jaringan dengan menggunakan variasi waktu saat fiksasi dengan lama waktu 2-24 jam, dan dilakukan penelitian serupa dengan menambahkan kriteria penilaian sediaan seperti batas antar sel.

5. Daftar Pustaka

Afrianti, R., Ramadhani, P., Irsanti, P,N. (2017). Uji Efektivitas Ekstrogenik Ekstrak Etanol

- Jintan Hitam (*Nigel Sativa L.*) Terhadap Perkebangan Uterus Tikus Putih Betine. *Jurnal Scientia*, 7(8)
- Afrida, A. D., & Priyatno, D. (2021). Gambaran Histologi Jaringan Hepar Mencit (Mus Musculus) yang Difiksasi dengan Larutan Carnoy dengan Variasi Waktu 4 Jam , 8 Jam dan 12 Jam. *Jaringan Laboratorium Medis*, 03(01), 37–42.
- Alwi, M. A. (2016). Studi Awal Histoteknik: Fiksasi Dua Minggu Pada Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, Dan Pankreas Tikus Sprague Dawley Dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. *Naskah Publikasi UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta*.
- Ariyadi, T., Suryono, H. (2017). Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *Jurnal Labora Medika*, 1(1) 7-11.
- Elen, R. M. (2019). *Gambaran Kualitas Mikroskopis Sediaan Hepar Mencit (Mus musculus) Dengan Pemoangan Ketebalan 2mm, 5mm, dan 8mm*. KTI Poltekkes Kemenkes Semarang Jurusan Analis Kesehatan Diakses tanggal 28 November 2020, website: http://repository.poltekkes-smg.ac.id/index.php?show_detail&id=20300&keywords=.
- Fajrina, N. S., Ariyadi, T & Nuroini, F. (2018). *Gambaran Sediaan Jaringan Hati menggunakan Larutan Fiksatif NBF 10% dan Alkohol 70% pada Pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin)*. Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Universitas Muhammadiyah, Vol (1).
- Jusuf, A. A. (2009). *Histoteknik Dasar*. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Retrieved September 11 , 2020 from <https://staff.ui.ac.id/>
- Khristian, E., & Inderiati, D. (2017). *Bahan Ajar Sitohistoteknologi Teknologi Laboratorium Medis (TLM)* (1st ed.). Jakarta: BPPSDMK Kementerian Kesehatan.
- Miranti, Ika Pawitra. (2010). *Pengolahan Jaringan Untuk Penelitian Hewan Coba*. Skripsi Universitas Diponegoro, Semarang. Retrieved October 19, 2020 from <http://www.m3undip.org>.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 443–453.
- Prasetiawan., et al (2016). Optimalisasi *Automatic Slide Stainer* Untuk Pewarnaan *Jaringan Menggunakan Hematoxylin-Eosin*. Universitas Negeri Jember . Diakses tanggal 11 Desember 2020.
- Pratiwi, E. N., & Armalina, D. (2021). Mikroskopis Preparat Mus Musculus Ginjal Dideparafinisasi dengan Minyak Zaitun pada Pewarnaan Eosin (HE) Hematoxylin (HE). *Jaringan Laboratorium Medis*, 03(01), 61–66.
- Sultana, F. (2011). *Buku Ajar Histologi II*. Semarang: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Suprianto, A. (2014). Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital Dengan Metode Konvensional Pada Kualitas Gambaran Histologis Hepar Tikus. *Naskah Publikasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjung Pura, Pontianak*. Diakses tanggal 12 Desember 2020. [Website: http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/viewFile/9042/8984](http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/viewFile/9042/8984)