

**PERBANDINGAN FIKSASI BNF 10% DAN ASETON PADA  
JARINGAN DENGAN PEWARNAAN HE  
(*Hematoxilin Eosin*)**

**MANUSCRIPT**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan  
Pendidikan Diploma IV Kesehatan  
Bidang Analis Kesehatan



Disusun oleh :

**RISANTO M. FAUZI**

**G1C217007**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

**2018**

## HALAMAN PERSETUJUAN

*Manuscript* dengan judul

PERBANDINGAN FIKSASI BNF 10% DAN ASETON PADA JARINGAN  
DENGAN PEWARNAAN HE (*Hematoxilin Eosin*)

Telah diperiksa dan disetujui untuk mempublikasikan

Semarang, 05, Oktober 2018

Pembimbing I

  
Dra Sri Sinto Dewi, M.Si, Med  
NIK : 28.6.1026.034

Pembimbing II

  
Arya Iswara, M.Si, Med  
NIK : 28.6.1026.224

## PERBANDINGAN FIKSASI BNF 10% DAN ASETON PADA JARINGAN DENGAN PEWARNAAN HE (*Hematoxilin Eosin*)

Risanto M. Fauzi<sup>1</sup>, Sri Sinto Dewi<sup>2</sup>, Arya Iswara<sup>3</sup>

1. Program studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
2. Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

---

### *Info Artikel*

### *Abstrak*

---

#### **Kata Kunci**

Fiksatif,  
Mikroskopis  
preparat

Fiksasi jaringan adalah suatu usaha untuk mempertahankan komponen-komponen sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan dan tidak mudah rusak. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan fiksasi BNF 10% dan Aseton pada jaringan dengan pewarnaan HE. Penelitian ini secara analitik, menggunakan sampel organ hati, jantung dan ginjal kelinci kemudian difiksasi menggunakan BNF 10% dan Aseton, dari 6 perlakuan setiap perlakuan dipotong 9 preparat sehingga berjumlah 54 preparat.

Hasil pewarnaan *Hematoxilin Eosin* (HE) pada organ hati, jantung dan ginjal kelinci yang difiksasi menggunakan BNF 10% menunjukkan hasil 100% baik yaitu warna biru terang pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam. Sedangkan hasil pewarnaan *Hematoxilin Eosin* (HE) pada organ hati, jantung dan ginjal yang difiksasi menggunakan Aseton menunjukkan hasil yang 100% kurang baik yaitu warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna pada preparat kurang tetapi masih bisa didiagnosis.

---

#### **Pendahuluan**

Prosesing jaringan histologi masih menjadi *gold strandard* 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).

Pengolahan jaringan terdiri dari beberapa tindakan yang saling menentukan satu sama lain, dengan urutan yaitu fiksasi, dehidrasi, penjernihan, parafinisasi, perendaman dalam parafin, pemotongan, deparafinisasi, dan pewarnaan. Masing-masing tindakan tersebut mempunyai tujuan untuk menghasilkan jaringan yang dapat dipotong setebal 2-7 mikrom dan dapat diwarnai dengan pewarnaan tertentu. Jaringan tipis tersebut bisa didapat bila jaringan ditempatkan pada suatu media yang

#### **\*Corresponding Author**

**Risanto M. Fauzi**

**Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273**

**Email : [Risanto24.nani@gmail.com](mailto:Risanto24.nani@gmail.com)**

cukup padat seperti parafin, namun bisa dipotong tipis (Miranti, 2010).

Tahapan fiksasi merupakan tahapan yang paling penting dalam membuat sediaan histologi, karena jika terjadi kesalahan pada tahap ini akan memberikan gambaran yang buruk pada sediaan histologi (Nuralim *et al*, 2017)

Pengawetan (fiksasi) adalah stabilisasi unsur penting pada jaringan sehingga unsur tersebut tidak terlarut, berpindah atau terdistorsi selama prosedur selanjutnya. Fiksasi yang benar merupakan dasar dari semua pembuatan preparat yang baik, fungsi fiksasi adalah menghambat proses pembusukan dan autolysis, pengawetan, pengerasan jaringan, pemadatan koloid, diferensiasi optik, dan berpengaruh terhadap pewarnaan (Bancroft, 2008).

Di dalam proses fiksasi ini, banyak sekali cairan yang dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan, baik yang terdiri dari satu macam cairan kimia ataupun campuran dari beberapa macam bahan kimia. Adapun contoh cairan fiksasi yang terdiri atas satu macam bahan kimia yaitu formaldehid, etil alkohol, asam asetat, asam kromat, asam pikrat, potassium dikromat, potassium tetraklorida, acetone, dan merkuri klorida. Sedangkan cairan fiksasi yang terdiri dari campuran dari beberapa macam bahan kimia adalah larutan zenker, larutan bouin, dan larutan karnoy. Dalam pemilihan cairan fiksasi hal utama yang perlu diingat adalah kegunaan atau tujuan pemeriksaan dari jaringan itu sendiri. Dan cairan fiksasi yang dipilih untuk pemeriksaan histopatologi yang umumnya dipakai adalah buffer netral formalin (BNF) 10% (Yunalda, 2016).

Buffered Neutral Formalin (BNF) 10% merupakan cairan fiksatif untuk mengawetkan jaringan pada pemeriksaan histopatologi rutin. Alasan pemilihan cairan ini karena penggunaannya lebih muda dan dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam kurun

waktu yang cukup lama. Namun, daya fiksasinya lebih lambat yakni 12 sampai 24 jam (Miranti, 2010).

Aseton dikenal juga dengan dimetil keton atau 2 propanon merupakan senyawa senyawa penting dari alipatic keton. Aseton pertama kali dihasilkan dengan cara destilasi kering dari kalsium asetat (Intani, 2009). Aseton absolut dapat digunakan untuk mempertahankan enzim-enzim tertentu seperti *Acid phosphatase*. Seperti yang diketahui bahwa tujuan dari fiksasi adalah mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi sewaktu masih hidup (Meyer & Hornickel, 2010).

Hematoksilin dan Eosin adalah metode pewarnaan yang banyak digunakan dalam pewarnaan jaringan sehingga ia diperlukan dalam diagnosa medis dan penelitian. Hematoksilin adalah bahan pewarna yang sering digunakan pada pewarnaan histoteknik, ia merupakan ekstrak dari pohon yang diberi nama *logwood tree*. Hematoksilin bekerja sebagai pewarna biasa, artinya zat ini mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoksilin memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel (seperti bagian sitoplasma yang kaya RNA dan matriks tulang rawan) menjadi biru. Eosin bersifat asam ia akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris dan kolagen. Tidak seperti hematoksilin, eosin mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah muda (Junquera, 2007)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran mikroskopis pada jaringan dengan menggunakan cairan fiksasi BNF 10% dan Aseton.

### **Bahan dan Metode**

Jenis penelitian yang digunakan yaitu bersifat analitik menggunakan rancangan *cross sectional*. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Asri Medical Center Yogyakarta pada tanggal 23 juli 2018 menggunakan organ hewan uji coba kelinci yaitu organ hati, jantung dan

ginjal kemudian di fiksasi menggunakan dua cairan fiksatif yang berbeda yaitu BNF 10% dan Aseton setelah itu dilakukan prosesing jaringan.

Bahan (*reagen*) yang digunakan pada proses pengolahan dan pengecatan adalah jaringan, Alkohol 70%, aseton, alkohol (70%, 80%, 96%, 100%), xylol, parafin, hematoksilin, eosin, aquades, dan etanol.

Alat yang digunakan adalah wadah tertutup, tissue processor, pinset, kaset pengolahan jaringan, cetakan (*base mould*) mesin pewarnaan, (*tissue staining mechine*), mikroskop, mikrotom, pisau mikrotom, waterbath, kaki tiga, lampu spiritus, kaca obyek, dan kaca penutup.

### Kriteria hasil pewarnaan HE

Tabel 1. Kriteria hasil pewarnaan *Hematoxilin Eosin* (HE)

No	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Score
1	Warna biru tua pada inti sel tidak jelas, warna merah ( <i>eosin</i> ) pada sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas serta warna pada preparat tidak seragam. Sediaan tidak bisa didiagnosis.	Tidak baik	1
2	Warna biru pada inti sel kurang, warna merah ( <i>eosin</i> ) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang, serta keseragaman warna pada preparat kurang. Tetapi masih bisa didiagnosis.	Kurang baik	2
3	Warna biru terang pada inti sel, warna merah ( <i>eosin</i> ) pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam.	Baik	3

Sumber : Ariyadi & Suryono 2017

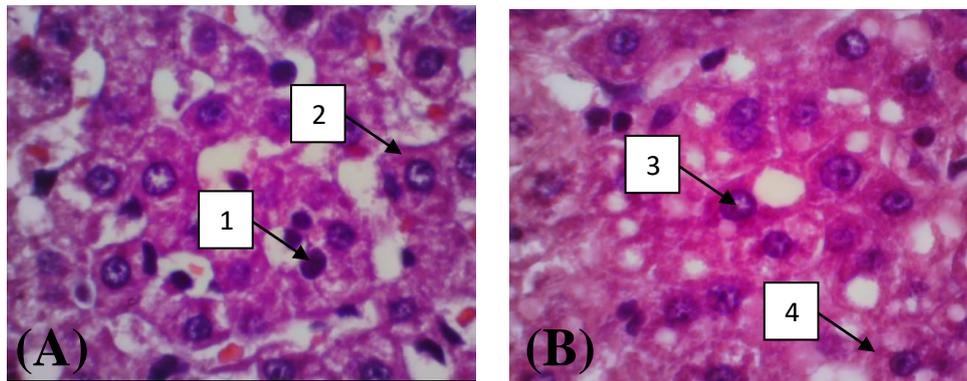
### Hasil

Tabel 2. Presentase hasil pengamatan organ hati yang difiksasi dengan BNF 10% dan Aseton dengan pewarnaan *Hematoxilin Eosin* (HE)

Organ	Kualitas	
	BNF 10%	Aseton
Hati	Baik	9
	Kurang Baik	0
	Tidak Baik	0

Sumber : data primer (2018)

Berdasarkan rekapitulasi tabel diatas menunjukkan bahwa dari 9 preparat organ hati yang difikasi menggunakan cairan fiksatif BNF 10% didapatkan hasil 100% dalam kategori baik dan 9 preparat organ hati yang difiksasi dengan Aseton didapatkan hasil 100% dalam kategori kurang baik.



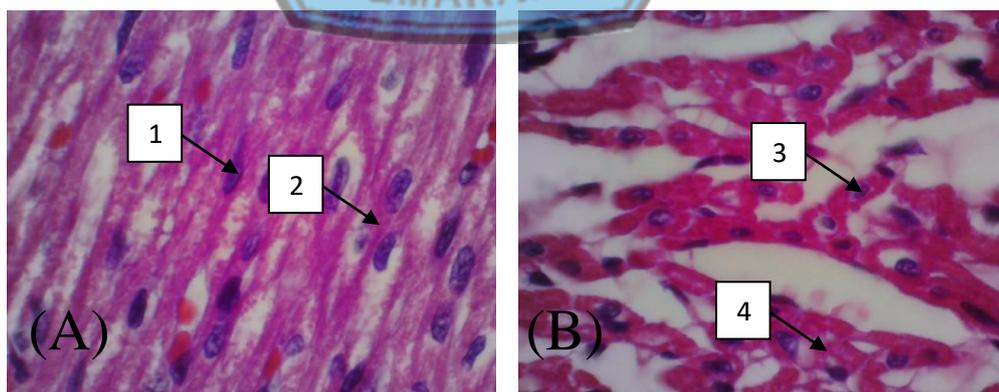
Gambar 1. (A) Hasil mikroskopis organ hati yang difiksasi dengan BNF 10% dengan pewarnaan HE pembesaran 1000x, (B) hasil mikroskopis organ hati yang difiksasi dengan Aseton dengan pewarnaan HE pembesaran 1000x, (1) warna biru terang pada inti sel, (2) warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat, (3) warna biru pada pada inti sel kurang, (4) warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang

Tabel 3. Presentase hasil pengamatan organ jantung yang difiksasi dengan BNF 10% dan Aseton dengan pewarnaan *Hematoxilin Eosin* (HE)

Organ	Kualitas	BNF 10%	Aseton
Jantung	Baik	9	0
	Kurang Baik	0	9
	Tidak Baik	0	0

Sumber : data primer (2018)

Berdasarkan rekapitulasi tabel diatas menunjukkan bahwa dari 9 preparat organ jantung yang difiksasi menggunakan cairan fiksatif BNF 10% didapatkan hasil 100% dalam kategori baik dan 9 preparat organ jantung yang difiksasi menggunakan Aseton didapatkan hasil 100% dalam kategori kurang baik.



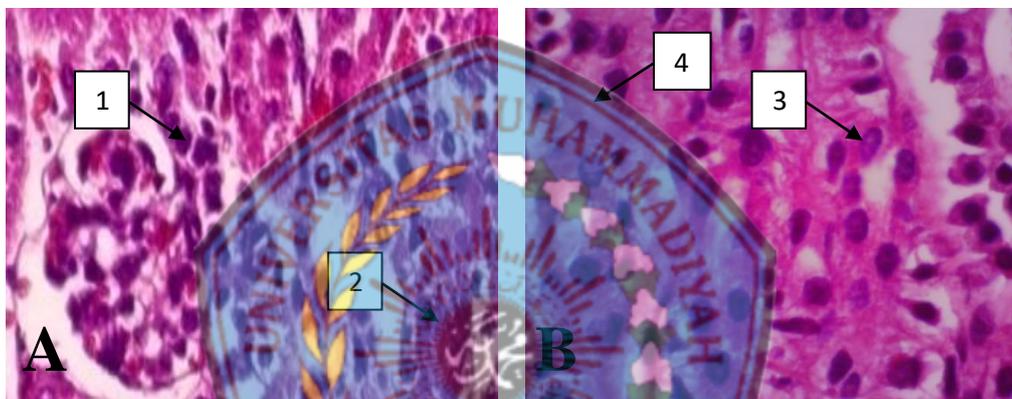
Gambar 2. (A) Hasil mikroskopis organ jantung yang difiksasi dengan BNF 10% dengan pewarnaan HE pembesaran 1000x, (B) Hasil mikroskopis organ jantung yang difiksasi dengan Aseton dengan pewarnaan HE pembesaran 1000x, (1) warna biru terang pada inti sel, (2) warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat, (3) warna biru pada inti sel kurang, (4) warna merah (esoin) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang.

Tabel 4. Presentase hasil pengamatan organ ginjal yang difiksasi dengan BNF 10% dan Aseton dengan pewarnaan *Hematoxilin Eosin* (HE)

Organ	Kualitas	BNF 10%	Aseton
Ginjal	Baik	9	0
	Kurang Baik	0	9
	Tidak Baik	0	0

Sumber : data primer (2018)

Berdasarkan rekapitulasi tabel diatas menunjukkan bahwa dari 9 preparat organ ginjal yang difiksasi menggunakan cairan fiksatif BNF 10% didapatkan hasil 100% dalam kategori baik sedangkan 9 preparat jaringan ginjal yang difiksasi dengan Aseton didapatkan hasil 100% dalam kategori kurang baik.



Gambar 3. (A) Hasil mikroskopis organ ginjal yang difiksasi dengan BNF 10% dengan pewarnaan HE pembesaran 1000x, (B) Hasil mikroskopis organ ginjal yang difiksasi dengan Aseton dengan pewarnaan HE pembesaran 1000x, (1) warna biru terang pada inti sel, (2) warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat, (3) warna biru pada inti sel kurang, (4) warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang.

### Diskusi

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis, dari 9 preparat organ hati, 9 preparat organ jantung dan 9 preparat organ ginjal yang difiksasi dengan BNF 10% ditemukan warna biru terang pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam selain itu ditemukan terjadi perubahan <20% jumlah sel. Berdasarkan kriteria penilaian pewarnaan HE ditemukan warna biru terang pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam sehingga diambil kesimpulan dari 9 preparat organ hati, 9

preparat organ jantung dan 9 preparat organ ginjal yang difiksasi dengan BNF 10% berada dalam kategori baik.

*Netral Buffer Formalin* 10% (NBF 10%) merupakan campuran antara sodium hidrogen fosfat dan disodium hidrogen fosfat. Buffer sendiri merupakan larutan penyangga dengan adanya larutan tersebut dalam suatu larutan maka derajat keasaman pH jaringan tetap konsisten dengan pH yang netral maka sifat maupun struktur jaringan tidak akan berubah (Khristian & Inderiati, 2017).

Sedangkan pada pengamatan mikroskopis, dari 9 preparat organ hati, 9

preparat jantung dan 9 preparat organ ginjal yang difiksasi dengan Aseton nampak inti sel telah mengkerut, terjadi perubahan 20-50% jumlah sel, ditemukan warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang tetapi masih bisa didiagnosis. Berdasarkan kriteria penilaian pewarnaan HE ditemukan warna biru terang pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna pada preparat kurang tetapi masih bisa didiagnosis sehingga diambil kesimpulan bahwa 9 preparat organ hati, 9 preparat organ jantung dan 9 preparat organ ginjal yang difiksasi menggunakan Aseton berada dalam kategori kurang baik.

Aseton juga dikenal sebagai propanon, dimetil keton, 2-propanon, propan-2-on, adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar. Aseton merupakan keton yang paling sederhana. Aseton larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dan dietil eter. Aseton sendiri juga merupakan pelarut yang penting. Aseton cepat bereaksi namun memiliki penetrasi yang buruk dan menyebabkan kerapuhan dalam jaringan jika penggunaannya terlalu lama. Aseton juga menghilangkan lipid dari jaringan (Khristian & Inderiati, 2017).

Aseton sendiri menyebabkan jaringan cepat mengeras dan mengkerut sehingga sediaan sukar dipulas. Kemungkinan yang lain adalah lamanya fiksasi yang kurang tepat sehingga mengakibatkan cairan fiksatif tidak mencapai titik pusat terdalam sebelum proses autolysis berjalan. Ketika bagian dalam jaringan tidak sempat terfiksasi maka akan ada kemungkinan gambaran sediaan mikroskopis yang terdistorsi sebagian (Meyer & Hornickel, 2010).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ariyadi dan Suryono, 2017 hasil kurang baik atau tidak baik pada pewarnaan *Hematoxylin Eosin* bisa disebabkan karena *Hematoxylin*

berperan sebagai pewarna dasar. Setiap komponen yang terwarnai oleh zat ini mengandung asam nukleat, seperti inti sel yang kaya kromatin, dan daerah sitoplasma yang kaya RNA. Kurang adekuatnya hematoxylin yang mewarnai bagian inti sel, hal ini disebabkan oleh fiksasi yang tidak adekuat. Penyebab lainnya adalah proses proses penghilangan parafin yang tidak sempurna, waktu pewarnaan tidak adekuat, proses penghilangan warna terlalu kuat atau berlebihan dan pemotongan yang tipis (Ariyadi & Suryono 2017)

### Kesimpulan

a. Kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada jaringan yang difiksasi dengan NBF 10% sebanyak 27 preparat menunjukkan hasil yang baik (100%) warna biru terang pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam. Sedangkan Kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* pada jaringan yang difiksasi dengan Aseton sebanyak 27 preparat menunjukkan hasil yang kurang baik (100%) warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang sertakeseragaman warna pada preparat kurang. warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna pada preparat kurang.

b. Pada uji *mann whitney* Terdapat perbedaan yang signifikan  $<0,05$  antara jaringan yang difiksasi menggunakan NBF 10% dan aseton pada jaringan dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*

### Saran

- Perlu dilakukan penelitian serupa dengan mengendalikan variabel pengganggu seperti lama waktu fiksasi
- Perlu dilakukan penelitian serupa menggunakan sampel dengan ukuran yang berbeda beda.

### Referensi

- Ariyadi, T & Suryono, H., 2017. Kualitas sediaan jaringan kulit metode *microwave* dan *conventional histoprocessing* pewarnaan *hematoxylin eosin*. *Jurnal labora medika*. Vol . No 1. Pp 7-11.
- Bancroft, J, D., 2008. Theory and practice of histological techniques. 1th edition., *elsevier health sciences*. New york.
- Intani, A,S., 2009. *Prarancangan pabrik aseton proses Dehidrogenasi isopropil alkohol Kapasitas 19.500 ton/tahun*. Skripsi. Universitas muhammadiyah surakarta
- Junqueira, L,C. Carneiro, J., 2007. *Histologi dasar*. Edisi 10. EGC. Jakarta.
- Khristian E & Inderiati D., 2017. *Sitohistoteknologi*. Pusat pendidikan sumber daya manusia kesehatan. Jakarta
- Mescher, Anthony, L., 2016, *Basic Histology* Indiana University Bloomington. Indiana.
- Meyer,W& Hornickel,I,N., 2010. Tissue Fixation-the most underestimated methodical feature of immunohistochemistry., *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*. New York
- Miranti., 2010. Pengolahan jaringan untuk penelitian hewan coba [http :// eprints.undip.ac.id. / 22187 / 1 / 01](http://eprints.undip.ac.id/22187/1/01) terkini – dr ika – 01 – 04. Pdf. Diakses pada tanggal 10 maret 2018.
- Nuralim,E,R., Rahayu,I,D., & Bekti,R.S. 2017. Analisis perbandingan fiksasi menggunakan larutan formalin dan larutan carnoy pada somit, *Neural Tube*, dan vaskular embrio ayam usia 48 jam dengan pewarnaan hematoxylin eosin. *Majalah Kesehatan FKUB*. Vol 4. No 1.
- Yunalda.I., 2016., Kerusakan jaringan histopatologi akibat fiksasi formalin 10%. Tesis. Universitas Sriwijaya Palembang.

