

**PERBANDINGAN FIKSASI NEUTRAL BUFFER FORMALIN
10% DAN ALKOHOL 70% PADA JARINGAN DENGAN
PEWARNAAN HE (*Hematoxilin Eosin*)**

MANUSCRIPT

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



Disusun oleh :
A.SRIWAHYUNIZAH
G1C217011

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

2018

PERNYATAAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

**PERBANDINGAN FIKSASI NEUTRAL BUFFER FORMALIN
10% DAN ALKOHOL 70% PADA JARINGAN DENGAN
PEWARNAAN HE (*Hematoxilin Eosin*)**

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, September 2018

Pembimbing I


Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si. Med

NIK. 28.6.1026.034

Pembimbing II.


Arva Iswara, M.Si. Med.

NIK. 28.6.1026.224

SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Yang bertandatangan di bawah ini, saya :

Nama : A. Sriwahyunizah

NIM : G1C217011

Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan dan Kesehatan / Analis Kesehatan

Jenis Penelitian : Skripsi

Judul : Perbandingan Fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% Pada Jaringan Dengan Pewarnaan He (*Hematoxilin Eosin*)

Email : andyuyunsriwahyunizah@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada perpustakaan Unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan.
2. Memberikan hak menyimpan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangakalan data (*database*), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk *softcopy* untuk kepentingan akademis kepada perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta.
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagai mana mestinya.

Semarang, ,Oktober, 2018

Yang Menyatakan

(A.SRIWAHYUNIZAH)

PERBANDINGAN FIKSASI NEUTRAL BUFFER FORMALIN 10% DAN ALKOHOL 70% PADA JARINGAN DENGAN PEWARNAAN HE (*Hematoxilin Eosin*)

A.Sriwahyunizah¹, Sri Sinto Dewi², Arya Iswara²

¹. Program Studi DIV 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

Fiksasi adalah proses kimia pengawetan jaringan biologis sehingga mencegah autolysis atau proses pembusukan. Cairan fiksasi yang rutin digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam pemeriksaan histopatologi adalah NBF10% (*Neutral Buffer Formalin 10%*). Selain Neutral Buffer Formalin 10% larutan fiksasi yang dapat digunakan adalah Alkohol 70%. Alkohol adalah sebagai cairan fiksasi sediaan sitologi namun dalam keadaan terpaksa dapat digunakan sebagai fiksasi sediaan histopatologi. Alkohol lebih mudah diperoleh dan lebih murah jika dibandingkan dengan Neutral Buffer Formalin 10%. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan fiksasi Neutral Buffer Formalin 10% dan Alkohol 70% pada jaringan dengan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*). penelitian ini yaitu bersifat deskriptif analitik. Sampel jaringan tonsil difiksasi dalam waktu 48 jam menggunakan Neutral Buffer Formalin 10% dan Alkohol 70% dan diolah menjadi preparat didapatkan 16 preparat jaringan yang menggunakan fiksasi Neutral Buffer Formalin 10% dan 16 preparat jaringan yang menggunakan alkohol 70%. Hasil pengolahan yang baik menunjukkan gambar mikroskopis berwarna biru terang pada inti sel dan warna merah (eosin) pada sitoplasma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas sediaan jaringan tonsil dengan menggunakan fiksasi Neutral Buffer Formalin 10% terdapat gambar mikroskopis warna biru terang pada inti sel dan warna merah (eosin) pada sitoplasma menunjukkan hasil yang baik (skor 3) (100%) dan kualitas sediaan jaringan tonsil dengan menggunakan fiksasi Alkohol 70% terdapat gambar mikroskopis warna biru pada inti sel kurang, warna merah (eosin) pada sitoplasma kurang tetapi masih bisa didiagnosis menunjukkan hasil yang kurang baik (skor 2) (100%).

Kata Kunci

Fiksasi, mikroskopis preparat, pewarnaan HE

*Corresponding Author

A. Sriwahyunizah

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

Email : andiyuyunsriwahyunizah@gmail.com

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 processing seperti suhu, reagen dan waktu alat prosesing jaringan (Mescher, 2016).

Dalam proses pengolahan jaringan terdiri dari beberapa tahap yang saling menentukan satu sama lain, dengan urutan yaitu fiksasi, dehidrasi, penjernihan, parafinisasi, perendaman dalam parafin, pemotongan, deparafinisasi, dan pewarnaan (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, jadi hasil akhir sediaan histologi yang baik sangat tergantung pada cara melakukan fiksasi dengan baik (Nuralim,dkk., 2017).

Fiksasi adalah proses kimia pengawetan jaringan biologis sehingga mencegah autolisis atau proses pembusukan (Ganjali, 2009). Tujuan dari fiksasi adalah mencegah perubahan otolisis, mempertahankan morfologi sel dan jaringan agar dapat sama dengan saat terakhir jaringan tersebut dari tubuh hewan atau manusia selama hidup, dan mengeraskan jaringan agar dapat diproses lanjut dengan mengubah proses lanjut konsistensi sel dari semi cair menjadi semi padat (Miranti, 2010).

Cairan fiksasi yang rutin digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam pemeriksaan histopatologi adalah NBF 10% (*Neutral Buffer Formalin* 10%) dan Alkohol 70%. Kelebihan dalam

menggunakan cairan *Neutral Buffer Formalin* 10% adalah memiliki pH=7 (merupakan pH yang sangat baik) penggunaannya lebih mudah dan dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam kurun waktu yang cukup lama. Namun kekurangannya adalah daya fiksasinya lebih lambat yakni 12 sampai 24 jam (Miranti, 2010).

Alkohol yang utama adalah sebagai cairan fiksasi sediaan sitologi namun dalam keadaan terpaksa dapat digunakan sebagai fiksasi sediaan histopatologi. Kekurangan dari alkohol yaitu daya tembus alkohol yang kurang baik karena jaringan cepat menjadi keras dan mengkerut sehingga sediaan sukar dipulas (Nassar, 2008). Sedangkan kelebihan dari Alkohol yaitu alkohol harganya murah dan mudah mendapatkannya dipasaran serta memiliki kemampuan penetrasi yang cepat, dapat mengkoagulasi protein dan presipitasi glukogen serta melarutkan lemak (Luna,2000).

Hematoxilin dan Eosin adalah metode pewarnaan yang banyak digunakan dalam pewarnaan jaringan sehingga diperlukan dalam diagnosa medis dan penelitian. Hematoxilin adalah bahan pewarna yang sering digunakan pada pewarnaan histoteknik (Junquera & Carneiro, 2007).

Tujuan penelitian untuk mengetahui perbandingan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% pada pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*)

Bahan dan Metode

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian perbandingan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% pada jaringan dengan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) yaitu bersifat deskriptif analitik. Desain penelitian dengan *Cross Sectional*. Objek penelitian ini adalah *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70%.

Analisis data dilakukan dengan cara menentukan skor terhadap hasil pengamatan tiap preparat yang difiksasi

menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% dengan kategori “Baik” diberi skor 3, ”Kurang Baik” diberi skor 2 dan “Tidak Baik” diberi skor 1 (Aryadi,2017). Untuk mengetahui perbedaannya, data hasil penelitian diolah dengan menggunakan uji *mann whitney*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang dan Klinik Sentral Patologi Akurat Semarang, Jawa Tengah.

Objek penelitian yang digunakan adalah jaringan tonsil yang di fiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70%, hasil dari fiksasi ini dibuat dalam 16 preparat yang difiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* dan 16 preparat yang difiksasi menggunakan Alkohol 70%. Data yang diperoleh kemudian dianalisa deskriptif. Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik hasil dari pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) yang diperoleh seperti tertera dalam tabel dibawah ini.

Hasil

Pembacaan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) menggunakan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70%

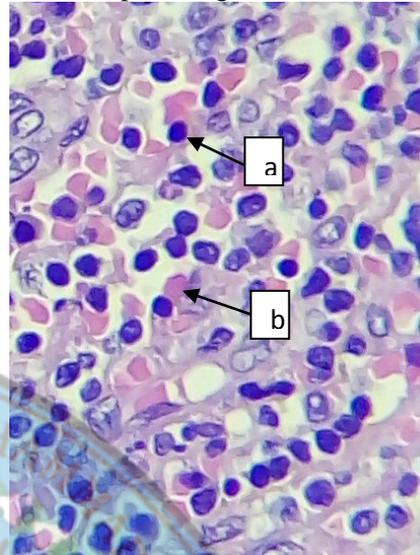
Tabel 1. Hasil pembacaan pewarnaan HE (*HematoxilinEosin*) menggunakan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10 % dan Alkohol 70%

Kriteria	Bnf 10%	Alkohol 70%	%
Baik	16	0	100
Kurang baik	0	16	100
Tidak baik	0	0	0
Total	16	16	0

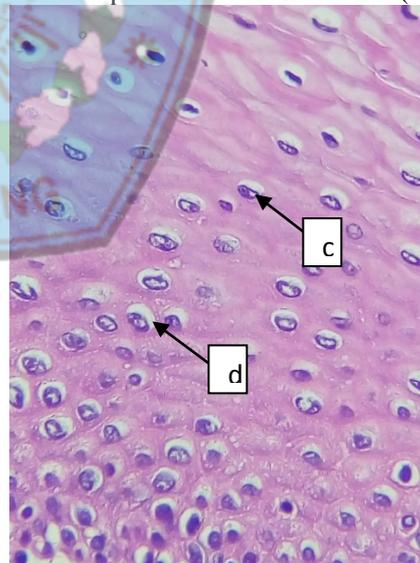
Sumber: Data Primer (2018)

Rekapitulasi tabel diatas menunjukkan bahwa dari 16 preparat jaringan tonsil yang difiksasi menggunakan larutan *Neutral Buffer Formalin* 10% didapatkan hasil semuanya rata-rata dalam kategori baik dan 16 preparat jaringan tonsil yang difiksasi menggunakan larutan Alkohol 70% didapatkan hasil semuanya rata-rata dalam kategori kurang baik.

Pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) menggunakan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% pada jaringan tonsil didapatkan hasil mikroskopis sebagai berikut :



Gambar 1. NBF 10% pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) (400x), (a) inti sel berwarna biru terang, (b) sitoplasma berwarna merah (eosin)



Gambar 2. Alkhol 70% pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) (400x), (c) berwarna biru pada inti sel kurang, (d) warna merah (eosin) pada sitoplasma kurang.

Uji Analisis

Perbedaan hasil pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) pada jaringan tonsil

yang difiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70%.

Tabel 2. Uji Mann-Whitney

	Hasil
Mann-Whitney U	
Wilcoxon W	136.000
Z	-5.568
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	000

Berdasarkan hasil uji statistik diperoleh nilai signifikansi sebesar $0,000 < \alpha (0,05)$ maka h_0 ditolak. Artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara fiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan alkohol 70 % pada jaringan tonsil dengan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*).

Pembahasan

Fiksasi jaringan adalah proses mengawetkan jaringan agar jaringan tetap utuh. Tujuan dari fiksasi sendiri adalah untuk mempertahankan struktur dan komponen sel, mempertahankan sel dari larutan hipertonis, menambah afinitas protoplasma terhadap pewarnaan, menghambat proses pembusukan pengawetan jaringan dan pengerasan jaringan sehingga dapat dilakukan proses berikutnya. Dalam penelitian ini peneliti menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan alkohol 70% sebagai larutan untuk fiksasi.

Neutral Buffer Formalin 10% digunakan dalam proses fiksasi pada pemeriksaan histopatologi, karena lebih sederhana dari segi ekonomis lebih murah dan senyawa tersebut memiliki pH netral sehingga dapat menghambat pembusukan dari jaringan tersebut. Dalam penelitian ini sampel yang di fiksasi menggunakan larutan *Neutral Buffer Formalin* 10% dengan waktu 48 jam.

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis pada 16 preparat jaringan tonsil yang difiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin*

10% ditemukan pada bagian inti berwarna biru terang dan pada bagian sitoplasma berwarna merah. Hal ini berdasarkan teori yang ada pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) dikatakan baik apabila dari hasil pengamatan ditemukan inti berwarna biru dan warna merah eosin pada sitoplasma. Maka dapat diambil kesimpulan bahwa dari 16 preparat jaringan tonsil yang fiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% berada dalam kategori baik (Skor 3). *Neutral buffer formalin* 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. daya fiksasi formalin cenderung lambat yakni 12-24 jam, meskipun daya penetrasinya lambat namun formalin memberi rincian sitoplasma dan inti dengan baik. Pengerutan dan kerapuhan terjadi bukan disebabkan oleh formalin melainkan pengaruh alkohol pada proses pengolahan (*dehidrasi*) (Prasetyani, 2017).

Alkohol merupakan larutan dengan daya dehidrasi yang kuat dan menyebabkan pengerasan dan pegerutan jaringan. Fungsi alkohol yang utama adalah sebagai bahan fiksasi sediaan sitologi namun dalam keadaan terpaksa dapat digunakan sebagai fiksasi sediaan histopatologi. Dari hasil pengamatan secara mikroskopis dari 16 preparat jaringan tonsil yang difiksasi menggunakan alkohol 70% ditemukan warna biru pada inti sel kurang (luntur) dan warna merah pada bagian sitoplasma kurang (buram), hal ini disebabkan karena daya tembus alkohol yang kurang baik sehingga menyebabkan jaringan cepat mengkeras dan mengkerut sehingga sediaan sukar dipulas (Nassar, 2008). Pengamatan ini dapat disimpulkan bahwa dari 16 preparat yang diamati semuanya

berada pada kategori kurang baik (Skor 2).

Berdasarkan hasil uji statistik menggunakan uji *Man-Whitney* diperoleh nilai dengan taraf signifikansi untuk hipotesis sebesar 0,000 pada tingkat taraf kepercayaan 0,05 atau 95%. Hasil perhitungan diperoleh nilai signifikansi sebesar $0,000 < \alpha$ (0,05) maka H_0 ditolak. Artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara fiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan alkohol 70 % pada jaringan tonsil dengan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*).

Dari hasil uji statistik diperoleh ada perbedaan yang signifikan antara jaringan yang difiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10 % dan Alkohol 70% yang ditunjukkan pada warna biru pada inti sel kurang (luntur) dan warna merah (*Eosin*) pada sitoplasma kurang (buram) pada fiksasi menggunakan alkohol 70 % sedangkan yang difiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% pada umumnya terlihat normal.

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan didapatkan hasil tidak ada pengaruh fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan terdapat pengaruh pada fiksasi Alkohol 70% terhadap sampel tonsil menggunakan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*), karena alkohol bersifat asam dan daya tembus alkohol yang kurang baik sehingga menyebabkan jaringan cepat menjadi keras.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji statistik dengan analisis perbedaan menggunakan uji mann-whitney bahwa ada perbedaan yang signifikan antara fiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% pada jaringan dengan pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*).

Saran

Perlu dilakukan penelitian perbandingan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10 % dan Alkohol 70% dengan variasi waktu 12 jam, 24 jam dan 48 jam pada jaringan yang berbeda-beda.

Referensi

- Aryadi, T., & Suryono, H. 2017. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit metode *Microwave* dan *Conventional Histoprocessing* Pewarnaan Hematoxilin Eosin . *Jurnal Labora Medika*.1.1.7-11.
- Ganjali H, Ganjali M: Fixation in tissue processing. *International Journal of Farming and Allied Sciences* Vol., 2 (18): 2013: 686-9.
- Junqueira, L,C. & Carneiro, J., 2007. *Histologi dasar*. Edisi 10. EGC. Jakarta.
- Luna,H,T., 2000. *Manual of histology staining methods of the armed forces institue of pathology*.
- Mescher, A, L., 2016, *Basic Histology* Indiana University Bloomington. Indiana.
- Miranti., 2010. Pengolahan jaringan untuk penelitian hewan coba [http : // eprints.undip.ac.id. / 22187 / 1 / 01](http://eprints.undip.ac.id/) terkini – dr ika – 01 – 04. Pdf. Diakses pada tanggal 10 maret 2018.
- Nassar,I,M., 2008. *Prinsip dasar pengolahan jaringan untuk histologi dan sitopatologi*, kursus imunohistokimia di jakarta 2012
- Nuralim,E,R., Rahayu,I,D., & Becti,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 hematoxyilin eosin. *Majalah Kesehatan FKUB*. Vol 4. No 1.
- Presetyani, T., 2017. *Gambaran Mikroskopis Histologi Blosel Efusi Pleura Dengan Menggunakan Fiksasi Alkohol 70% Dan Bnf 10% Pada Pewarnaan HE*. Program Studi DIII Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.