

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

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 prosesing 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. Masing-masing tahap 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 cukup padat seperti parafin, namun bisa dipotong tipis (Miranti, 2010).

Secara umum, jaringan yang akan diolah menjadi preparat mikroskopis dipotong sebesar dadu dengan permukaan rata dan sisi berukuran maksimal 1,5 sampai dengan 2 cm. Setelah jaringan bentuk dadu tadi dibuat, lalu direndam lagi dengan cairan fiksatif yang sekaligus berperan sebagai media pembawa jaringan untuk diproses selanjutnya di laboratorium. Tempat merendam jaringan dapat berupa wadah dengan mulut lebar dari bahan kaca atau plastik (Rosaj, 2004).

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 NBF10% (*Neutral Buffer Formalin 10%*) dan Alkohol 70%. Kelebihan dalam menggunakan cairan Netral Buffer Formalin 10% adalah memiliki pH=7 (merupakan pH yang sangat baik) penggunaanya 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). Jaringan yang difiksasi dengan cara rendam memerlukan waktu sedikitnya 24 jam baru dapat diproses, terjadi pengerutan pada jaringan, formaline-saline menjadi asam saat disimpan lama karena formaldehida teroksidasi menjadi asam format, jaringan yang disimpan beberapa bulan sering gagal menghasilkan pewarnaan yang baik (Morgan dkk., 2010).

Alkohol merupakan suatu senyawa kimia yang mengandung gugus -OH yang terikat pada atom karbon dan atom hidrogen dan/atau atom karbon lain. Rumus kimia umum alkohol adalah $C_nH_{2n+1}OH$ (Dewi, 2008).

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).

Hematoxilin bekerja sebagai pewarna rutin, artinya zat ini mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoxilin memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel (seperti bagian sitoplasma yang kaya RNA dan matriks tulang rawan) menjadi biru. Eosin bersifat asam akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris dan kolagen. Tidak seperti hematoxilin, eosin mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah muda (Junquera, 2007).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka yang menjadi rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimanakah perbandingan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% pada pewarnaan HE.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk Mengetahui perbandingan fiksasi *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% pada pewarnaan HE.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mendiskripsikan gambaran mikroskopis jaringan yang difiksasi dengan *Neutral Buffer Formalin* 10% pada pewarnaan HE
- b. Mendiskripsikan gambaran mikroskopis jaringan yang difiksasi dengan Alkohol 70% pada pewarnaan HE.

1.4. Manfaat Penelitian

Di harapkan dapat memberikan dan meningkatkan pelayanan laboratorium yang lebih baik terkait dengan fiksasi pada pemeriksaan histologi.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

No	Nama/Tahun	Judul	Hasil
1	Prasetyani Titik, 2017	Gambaran mikroskopis histologi bloksel efusi pleura dengan menggunakan fiksasi alkohol 70% dan BNF 10% pada pewarnaan HE.	Kualitas sediaan bloksel cairan pleura dengan menggunakan fiksasi alkohol 70% menunjukkan hasil kurang yang baik (100%), kualitas sediaan bloksel cairan pleura dengan menggunakan fiksasi BNF 10% menunjukkan hasil yang lebih baik (93,33%).
2	Galang Praharendra, 2015	Gambaran histologi organ ginjal, hepar dan pankreas tikus <i>Sprague Dawley</i> dengan pewarnaan HE dengan fiksasi 3 minggu.	Fiksasi 3 minggu tidak memberikan gambaran yang baik pada organ ginjal, pankreas, dan hepar sehingga data dalam pembuatan SOP baku histoteknik di lab <i>Animal House</i> dan lab histologi.
3	Nuralim dkk, 2017	Analisi perbandingan fiksasi menggunakan larutan formalin dan larutan carnoy pada somit, neural tube, dan vaskular embrio ayam usia 48 jam dengan pewarnaan hematoxylin eosin.	Hasil penelitian di analisis menggunakan paired T test menunjukkan bahwa larutan carnoi memberikan hasil yang signifikan berbeda ($p < 0,05$) dengan larutan formalin pada evaluasi somit dan vaskular embrio ayam usia 48 jam, namun memberikan hasil yang signifikan tidak berbeda ($p > 0.05$) penggunaan larutan carnoi dengan larutan formalin pada evaluasi neural tube embrio ayam usia 48 jam.

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah penelitian ini untuk melihat perbandingan mikroskopis jaringan tonsil dan melakukan modifikasi pada cairan fiksasi yaitu *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Alkohol 70% pada pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*) sedangkan pada penelitian terdahulu untuk melihat gambaran mikroskopis bloksel efusi pleura menggunakan fiksasi Alkohol 70% dan BNF 10% pada pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*).