

**BAB I
SKRIPSI**

**PERBEDAAN KUALITAS PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN (HE)
MENGUNAKAN NBF 10% DAN ASAM KANDIS (*Garcinia xanthocymus*)
SEBAGAI AGEN FIKSATIF**



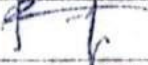
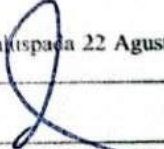


**Oleh : RUMMAISA KHOTIMAH
NIM : 1913353041**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG**

2023

BAB I

	a) Tempat/Tgl: Padang/28 Mei 1999; b) Nama Orang Tua: (Ayah) Riswan (Ibu) Kasniyenti; c) Program Studi: DIV Teknologi Laboratorium Medis/TLM; d) Fakultas: Ilmu Kesehatan; e) No NIM: 1913353041; f) Tgl Lulus:; g) Prediksi Lulus:; h) IPK: 3,66; i) Lama Studi:; j) Alamat: Jl. Apel 2, Perumnas Belimbing, Kecamatan Kuranji, Kota Padang;		
PERBEDAAN KUALITAS PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN (HE) MENGGUNAKAN NBF 10% DAN ASAM KANDIS (<i>Garcinia xanthocymus</i>) SEBAGAI AGEN FIKSATIF			
SKRIPSI			
Oleh: Rummaisa Khotimah			
Pembimbing: 1. Def Primal, M. Biomed; 2. Rita Permatasari, M. Biotek			
Abstrak			
<p>Fiksasi adalah perlakuan yang dapat melindungi struktur sel dan komposisi biokimianya. Bahan yang sering digunakan dalam proses fiksasi histopatologik adalah Neutral Buffered Formalin 10%. Buah asam kandis (<i>Garcinia xanthocymus</i>) bisa dimanfaatkan sebagai bahan pengawet alami karena mengandung flavonoid dan asam askorbat yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui gambaran jaringan hepar tikus pada proses fiksasi menggunakan ekstrak asam kandis pada prosesing jaringan menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Penelitian secara eksperimental menggunakan sampel organ hepar tikus sebanyak 25 preparat kemudian difiksasi dengan NBF 10% selama 24 jam (kontrol) dan ekstrak asam kandis 15% dan 20% selama 24 jam dan 48 jam. Hasil Uji Kruskal-Wallis untuk sampel yang difiksasi menggunakan NBF 10% dan ekstrak asam kandis 15% dan 20% diperoleh nilai $0,317 > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan fiksasi menggunakan NBF 10% dan ekstrak asam kandis 15% dan 20% terhadap kualitas tekstur dan kemudahan potongan jaringan. Hasil kualitas sediaan pewarnaan HE preparat organ hepar tikus yang difiksasi mendapatkan hasil yang terbaik yaitu preparat ekstrak asam kandis 20% selama 48 jam mendapat skor 1,8 (kurang baik) dengan (mean rank = 15,00). Sedangkan hasil yang didapatkan terburuk yaitu preparat ekstrak asam kandis 15% selama 24 jam dengan (mean rank = 7,00). Analisis data menggunakan Uji Kurskal Wallis didapatkan signifikan p sebesar 0,001 ($<0,05$). Kesimpulan adalah hasil pewarnaan yang mendekati kualitas sediaan kontrol yaitu sediaan yang difiksasi ekstrak asam kandis 20% selama 48 jam. Saran untuk penelitian lanjutan yaitu fiksasi dengan ekstrak asam kandis dengan konsentrasi lebih tinggi dan diencerkan dengan larutan yang lebih stabil daripada aquadest seperti asam asetat.</p>			
Kata Kunci: Asam Kandis, Fiksasi, NBF 10%, Pewarnaan HE			
Skripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan lulus pada 22 Agustus 2023. Abstrak telah disetujui oleh penguji.			
Tanda Tangan	1. 	2. 	3. 
Nama Terang	Def Primal, M. Biomed	Rita Permatasari, M. Biotek	dr. Tofrizal, SpA. M. Biomed, P.hD
Mengetahui Ketua Program Studi : Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si ()			

BAB I

1.1 Latar Belakang

Histoteknik adalah rangkaian proses yang dimulai dari pemotongan jaringan pada organ tertentu hingga diubah menjadi bentuk preparat yang siap dilihat di bawah mikroskop (Prahanarendra, 2015). Preparat histologi yang baik dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan kondisi yang sebenarnya pada waktu hidup. Proses dalam pembuatan preparat histologi adalah fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembersihan (*clearing*), pembedaan (*embedding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*), dan pelabelan (*labeling*). (Arapahni et al., 2019)

Fiksasi adalah berbagai perlakuan yang dapat melindungi struktur sel dan komposisi biokimianya. Kualitas fiksasi adalah kunci untuk semua tahap selanjutnya dalam pembuatan sediaan histopatologik, oleh karena itu pengawetan sel dengan perubahan morfologi yang minimal dan secara kasat mata tanpa adanya kerusakan molekul sangat penting dalam pengolahan jaringan. Fiksasi diharapkan mampu

BAB I

melindungi spesimen biologi dari efek denaturasi dehidrasi dan semua proses pengolahan jaringan (Musyarifah & Agus, 2018)

Bahan yang sering digunakan dalam proses fiksasi histopatologik adalah *Neutral Buffered Formalin* 10%. NBF 10% yang digunakan untuk fiksasi mengandung sekitar 4% dari volume formaldehida. Namun NBF 10% memiliki kekurangan yaitu formaldehida diklasifikasikan sebagai bahan karsinogen kelas 1 yang berpotensi menghasilkan neoplasma yang berbeda termasuk karsinoma nasofaring (Arapahni et al., 2019). Oleh karena itu perlu alternatif lain dari bahan alami yang dapat digunakan sebagai pengganti NBF 10% pada proses fiksasi.

Buah asam kandis bisa dimanfaatkan sebagai bahan pengawet alami ikan segar, karena pada buah asam kandis mengandung metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Teknik pengawetan secara kimiawi memanfaatkan kemampuan antimikroba, inhibitor enzim, serta aktivitas antioksidan pada ekstraknya (Gortzi et al., 2007)

Beberapa hasil riset dunia tentang alternatif bahan fiksasi menunjukkan bahwa zat antioksidan dan antimikroba dapat digunakan sebagai zat fiksasi alternatif pengganti formalin seperti madu. (Al-Maaini & Bryant, 2006) Kemudian riset dikembangkan di Indonesia dengan menggunakan buah yang kaya akan zat antioksidan dan antimikroba yang ada di Indonesia yaitu asam kandis. (Fitriana., 2014)

Berdasarkan hal tersebut diatas, peneliti belum mendapatkan penjelasan yang terperinci tentang gambaran mikroskopis jaringan yang difiksasi dengan NBF 10%

dan ekstrak asam kandis pada pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin). Sehingga penulis tertarik untuk meneliti kualitas pewarnaan HE menggunakan ekstrak asam kandis sebagai zat fiksatif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut bagaimanakah gambaran jaringan hepar pada proses fiksasi menggunakan ekstrak asam kandis pada pewarnaan HE?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui gambaran jaringan hepar pada proses fiksasi menggunakan ekstrak asam kandis pada prosesing jaringan pada pewarnaan HE.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menilai kualitas jaringan hepar secara makroskopis pada proses fiksasi menggunakan asam kandis.
2. Menilai kualitas preparat jaringan hepar secara mikroskopis pada pewarnaan HE.

1.4 Manfaat Peneliatan

1.4.1 Manfaat bagi Peneliti

Sebagai upaya meningkatkan pengetahuan dan wawasan peneliti mengenai larutan alternatif pengganti NBF 10% pada proses fiksasi menggunakan ekstrak asam kandis, serta dapat melihat gambaran hasil yang didapat dari proses tersebut.

1.4.2 Manfaat bagi Institusi Pendidikan

Sebagai sumbangsih kepastakaan dan bahan bacaan bagi peneliti selanjutnya, dan bahan pembanding dalam melakukan penelitian pengerjaan skripsi yang terkait dengan larutan alternatif pengganti NBF 10% pada proses fiksasi menggunakan ekstrak asam kandis.

1.4.3 Manfaat Bagi Tenaga Teknis Laboratorium

Sebagai bahan informasi dan masukan untuk teknisi laboratorium patologi anatomi mengenai larutan alternatif pengganti NBF 10% pada proses fiksasi menggunakan ekstrak asam kandis, serta dapat melihat gambaran hasil yang didapat dari proses tersebut.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Kualitas Tekstur Jaringan Hepar

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, kualitas tekstur jaringan terbaik terdapat pada jaringan yang difiksasi dengan ekstrak asam kandis 20% selama 48 jam. Jaringan bertekstur kenyal setelah dilakukan *clearing*. Saat diraba, jaringan masih mempertahankan bentuk aslinya dan tidak terasa terlalu lembek. Sementara pada preparat yang difiksasi dengan ekstrak asam kandis 15% dan 20% selama 24 jam memiliki tekstur yang lunak setelah dilakukan *clearing*. Saat diraba jaringan terasa lembek dan tidak terlalu mempertahankan bentuk aslinya.

Hal ini sesuai dengan penelitian Cahyani, 2018. Tekstur jaringan yang difiksasi dengan asam kandis 20% dapat tetap kenyal karena buah asam kandis mengandung asam askorbat. Penambahan zat asam pada jaringan menyebabkan denaturasi protein sehingga memecah ikatan polipeptida dan mengubah susunan protein sehingga tekstur jaringan menjadi lebih kenyal.

5.2 Kualitas Kemudahan Potongan Jaringan Hepar

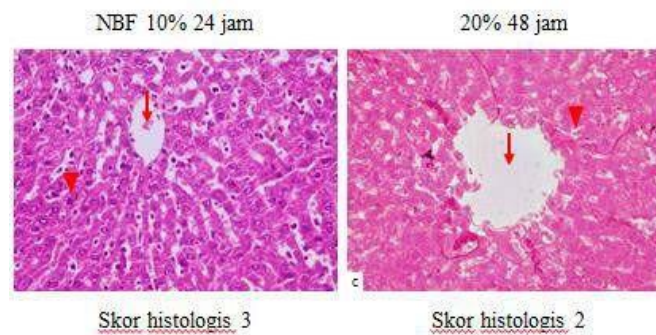
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kualitas kemudahan potongan jaringan terbaik terdapat pada preparat yang difiksasi dengan ekstrak asam kandis 20% selama 24 jam. Saat proses *sectioning* jaringan dapat dipotong dengan utuh dan tidak rapuh. Sementara pada preparat yang difiksasi dengan ekstrak asam kandis 15%

selama 24 jam, ekstrak 15% dan 20% selama 48 jam memiliki kualitas potongan jaringan baik. Saat proses *sectioning* jaringan rapuh, namun masih dapat dipotong.

Hal ini sesuai dengan penelitian Cahyani, 2018. Jaringan dapat dipotong dengan baik karena tekstur jaringan yang kenyal setelah difiksasi dengan asam kandis 20%. Jaringan yang kenyal dapat mempertahankan bentuknya dan tidak rapuh karena asam kandis mengandung asam askorbat. Penambahan asam askorbat pada jaringan menyebabkan denaturasi protein sehingga memecah ikatan polipeptida dan mengubah susunan protein sehingga tekstur jaringan menjadi lebih kenyal sehingga jaringan dapat dipotong dengan baik.

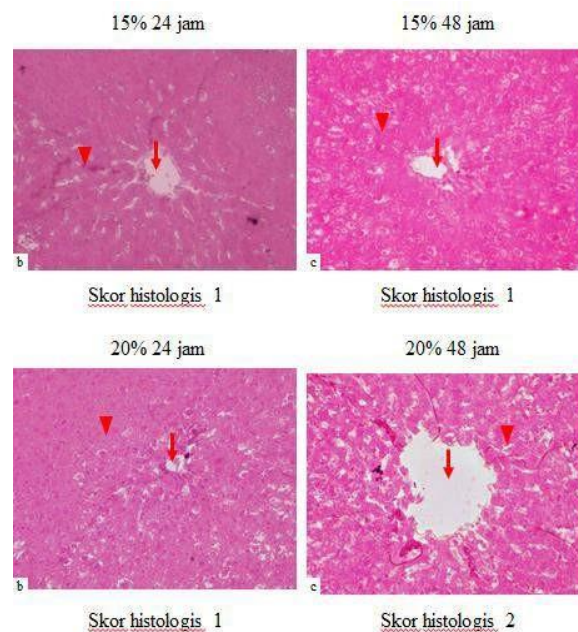
5.3 Kualitas Pewarnaan HE Jaringan Hepar

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kualitas pewarnaan HE terbaik terdapat pada preparat yang difiksasi dengan ekstrak asam kandis 20% selama 48 jam namun masih tidak bisa didiagnosis karena morfologi sel tidak memiliki batas yang jelas. Hal ini terjadi karena ekstrak asam kandis 15% dan 20% tidak dapat memfiksasi membrane sel hati dengan baik.



Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan HE Ekstrak Asam Kandis 20% 48 jam

Ekstrak asam kandis belum dapat memfiksasi membrane sel yang berstruktur fosfolipid bilayer. Fungsi dari fosfolipid antara lain sebagai bahan penyusun membran sel. Molekul fosfolipid terdiri dari dua bagian, yaitu kepala (fosfat) dan ekor (lipid). Bagian kepala fosfat bersifat hidrofilik atau larut dalam air, sedangkan bagian ekor lipid bersifat hidrofobik atau tidak larut dalam air. (Estiasih et al., 2012)



Gambar 5.2 Hasil Pewarnaan HE dengan Ekstrak Asam Kandis

Membran sel hepatosit larut oleh ekstrak asam kandis 15% dan 20% sehingga sel tidak dapat mempertahankan bentuk dan strukturnya dengan baik. Hal ini dapat terlihat pada hasil pewarnaan HE, morfologis sel hepar tidak jelas batasnya karena bagian kepala membrane sel larut oleh ekstrak asam kandis 15% dan 20%.