

SKRIPSI

**PENGARUH VARIASI WAKTU FIKSASI TERHADAP KUALITAS SEDIAAN
JARINGAN HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN PEWARNAAN
HEMATOXYLIN EOSIN**



Oleh :

MUZILATUL ISMA

NIM: 2310263538

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**

SKRIPSI

**PENGARUH VARIASI WAKTU FIKSASI TERHADAP KUALITAS SEDIAAN
JARINGAN HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN PEWARNAAN
HEMATOXYLIN EOSIN**



Oleh :

MUZILATUL ISMA

NIM: 2310263538

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**

SKRIPSI

PENGARUH VARIASI WAKTU FIKSASI TERHADAP KUALITAS SEDIAAN JARINGAN HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan
Untuk memperoleh gelar Sarjana Terapan Kesehatan

Oleh :

MUZILATUL ISMA

NIM: 2310263538

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**



a). Tempat/tgl: Kota Garo/ 27 Agustus 2002, Muzilatul Isma b). Nama Orang
Tua: (Ayah) Siarudin (Ibu) Sarma Warni c). Program Studi: Sarjana Terapan
Teknologi Laboratorium Medis, d). Fakultas: Ilmu Kesehatan, e). No NIM:
2310263538 f). Tgl Lulus: 22 April 2025 g). Predikat Lulus: Pujian/Cumlaude
h). IPK 3,79 i) Lama Studi: 1 Tahun j). Alamat: Desa Kota Garo, Kecamatan
Tapung Hilir, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau.

**PENGARUH VARIASI WAKTU FIKSASI TERHADAP KUALITAS SEDIAAN
JARINGAN HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN PEWARNAAN
HEMATOXYLIN EOSIN**
SKRIPSI

Oleh : Muzilatul Isma

Rita Permatasari, M. Biotek ⁽¹⁾, Marisa, M. Pd⁽²⁾

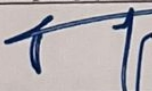
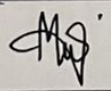
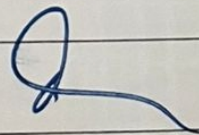
Abstrak

Fiksasi adalah metode penting dalam mempertahankan komponen sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan dan tidak mudah rusak. Bahan pengawet yang digunakan yaitu larutan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%. Secara umum fiksasi dilakukan selama 12-24jam. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh lama fiksasi BNF 10% terhadap gambaran mikroskopis jaringan dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Jenis penelitian observasional deskriptif. Sampel penelitian ini adalah organ hati dari hewan coba tikus kemudian difiksasi dengan BNF 10% selama 6, 24 jam dan 72 jam, sampel dibuat preparat histology dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin kemudian dinilai gambaran sediaan. Hasil penelitian fiksasi BNF 10% dengan menggunakan variasi waktu 24 jam diperoleh hasil gambaran mikroskopis baik. Sedangkan, pada fiksasi 6 jam dan 72 jam diperoleh hasil kurang baik. dianalisis menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas varians Levene, serta analisis statistik One-Way ANOVA. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan nilai signifikansi 0,006, yang mengindikasikan data berdistribusi normal. Selain itu, uji sapiro wilk menghasilkan nilai signifikansi 0,000, yang berarti varians antar kelompok tidak homogen. Asumsi ini menyebabkan hasil uji One-Way ANOVA yang menunjukkan signifikansi 0,047 terdapat perbedaan nyata antara kelompok perlakuan waktu fiksasi yang diuji.

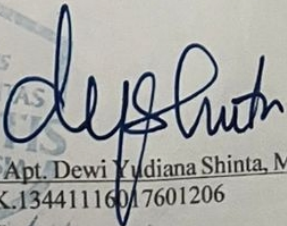
Kata kunci: BNF10%, fiksasi, Hematoxylin -Eosin

Skripsi ini telah di pertahankan di depan siding penguji dan dinyatakan **LULUS** Pada 20 Mei 2025.

Abstrak telah disetujui oleh penguji:

| | | | |
|--------------|--|--|--|
| Tanda Tangan | 1.  | 2.  | 3.  |
| Nama Terang | Rita Permatasari M.Biotek | Marisa, M.Pd | dr. Tofrizal, Sp.PA, M.Biomed., Ph. D |

Mengetahui
Ketua Program Studi:


Dr. Apt. Dewi Yudianta Shinta, M.Si
NIK.13441116017601206
ANALIS KESEHATAN / TLM



a). Place/Date of birth : Kota Garo/ 27 Agustus 2002, Muzilatul Isma b). Name of parents (Father) Siarudin (Mother) Sarma Warni c). Study program: Bachelor of Applied Medical Laboratory Technology, d). Faculty of Health Sciences, e). NIM: 2310263538 f). Date of Graduation: 22 April 2025 g). Graduation predicate: Cumlaude h). GPA 3,79 i) Length of study: 1 Year j). Address: Desa Kota Garo, Kecamatan Tapung Hilir, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau.

THE INFLUENCE OF FIXATION TIME VARIATION ON THE QUALITY OF LIVER TISSUE PREPARATIONS IN RATS (*Rattus norvegicus*) USING HEMATOXYLIN EOSIN STAINING

THESIS

By : Muzilatul Isma



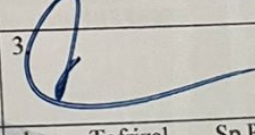
Rita Permatasari, M. Biotek(1), Marisa, M. Pd(2)

Abstract

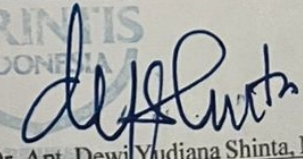
Fixation is an important method for preserving cell or tissue components to prevent changes and deterioration. The preservative used is a 10% Neutral Buffered Formalin (NBF) solution. Generally, fixation is performed for 12-24 hours. The aim of this research is to determine the effect of the duration of fixation with 10% NBF on the microscopic appearance of tissues stained with Hematoxylin-Eosin. This is a descriptive observational study. The samples in this study were liver organs from experimental rats, which were fixed with 10% NBF for 6, 24, and 72 hours. The samples were prepared as histology preparations with Hematoxylin-Eosin staining and then evaluated for their appearance. The results of the study showed that fixation with 10% NBF using a variation of 24 hours produced good microscopic images. In contrast, the fixation at 6 hours and 72 hours resulted in poorer outcomes. The data was analyzed using the Shapiro-Wilk normality test, Levene's variance homogeneity test, and One-Way ANOVA statistical analysis. The Shapiro-Wilk test results show a significance value of 0.006, indicating that the data is normally distributed. Additionally, the Shapiro-Wilk test yielded a significance value of 0.000, meaning the variances between groups are not homogeneous. This assumption led to the results of the One-Way ANOVA test which shows a significance of 0.047 indicating a significant difference between the treatment groups of fixation time tested.

Keywords: BNF10%, fixation, Hematoxylin -Eosin

This thesis has been defended in front of the examiner's passes and was declared passed on May 20, 2025. The Abstract has been approved by the examiner.

| | | | |
|-----------|--|--|--|
| Signature | 1.  | 2.  | 3.  |
| Name | Rita Permatasari, M.Biotek | Marisa, M.Pd | dr. Tofrizal, Sp.PA, M.Biomed., Ph. D |

Mengetahui
Ketua Program Studi:


Dr. Apt. Dewi Yudianta Shinta, M.Si
NIK.13441116017601206

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muzilatul Isma

NIM : 2310263538

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang ditulis dengan judul **“Pengaruh Variasi Waktu Fiksasi Terhadap Kualitas Sediaan Jaringan Hati Tikus (*Rattus Norvegicus*) dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin”** adalah kerja/karya sendiri dan bukan merupakan duplikat dari hasil karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar maka status kelulusan saya menjadi batal dengan sendirinya.

Pekanbaru, 20 Mei 2025
Menyatakan



(Muzilatul Isma)
NIM: 2310263538

BIODATA



Nama : Muzilatul Isma

Tempat,Tanggal Lahir : Kota Garo, 27 Agustus 2002

Agama : Islam

Jenis Kelamin : Perempuan

Alamat : Desa Kota Garo, kec. Tapung Hilir, kab. Kampar

Riwayat Pendidikan : 1. TK Nusa Indah
2. SD Negeri 015 Kota Garo
3. SMP Negeri 3 Tapung Hilir
4. SMK Abdurrah Pekanbaru
5. D-III Analis Kesehatan Universitas Abdurrah

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Variasi Waktu Fiksasi Terhadap Kualitas Sediaan Jaringan Hati Tikus (*Rattus Norvegicus*) dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan pada program studi Sarjana Sains Terapan Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Kesehatan Universitas Perintis Indonesia. Semoga dengan terselesaikannya penyusunan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis maupun bagi pembaca.

Proses penyusunan skripsi ini telah melewati perjalanan panjang, dan penulis banyak mendapatkan petunjuk dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Yaslina, M. Kep., Ns., Sp. Kep., Kom selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia
2. Bapak Dr. rer. nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M.Si sebagai Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.
3. Ibu Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si sebagai Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.
4. Ibu Rita Permatasari, M.Biotek selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran, ilmu dan semangat kepada penulis.
5. Ibu Marisa, M.Pd selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran, ilmu dan semangat kepada penulis.
6. Bapak dr. Tofrizal, Sp.PA, M. Biomed., Ph. D selaku penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan pengarahan serta masukan bagi penulis demi kesempurnaan penelitian ini.
7. Seluruh dosen dan staf pengajar Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

8. yang telah mendidik dan memberi ilmu hingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
9. Teristimewa dan tak terhingga penulis ucapkan terima kasih kepada Ayahanda dan Ibu Nda tercinta yang selama ini telah banyak berkorban baik materi maupun non materi demi kesuksesan penulis serta terima kasih buat saudara-saudaraku.
10. Seluruh teman-teman RPL Angkatan 2023/2024 yang telah berjuang bersama pada kesempatan ini.

Penulis berharap Allah SWT membalas segala kebaikan dan jasa yang telah diberikan. Dengan penuh hormat dan rasa terima kasih, penulis menyampaikan penghargaan atas bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis juga menyadari sepenuhnya dengan segala kekurangan dan keterbatasan yang ada, sehingga bentuk dan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih terdapat kekeliruan dan kekurangan. sehingga kritik dan saran sangat diharapkan agar hasil yang lebih baik dapat dicapai.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua khususnya bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya. Skripsi ini merupakan tugas akhir yang wajib dilewati dari masa studi yang telah penulis tempuh, semoga menjadi awal yang baik bagi penulis. Aamiin.

Pekanbaru, Mei 2025

Muzilatul Isma

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| ABSTRAK..... | vi |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| LEMBAR PERSETUJUAN | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI..... | v |
| BIODATA | viii |
| KATA PENGANTAR | ix |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar belakang | 1 |
| 1.2 Perumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.3.1 Tujuan Umum..... | 2 |
| 1.3.2 Tujuan khusus..... | 3 |
| 1.4 Manfaat penelitian | 3 |
| 1.4.1 Bagi peneliti | 3 |
| 1.4.2 Bagi institusi..... | 3 |
| 1.4.3 Bagi tenaga teknis laboratorium..... | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Histoteknik | 4 |
| 2.2 Tikus | 7 |
| 2.2.1 Klasifikasi Tikus..... | 7 |
| 2.2.2 Deskripsi Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) | 7 |
| 2.2.3 Anatomi Dan Fisiologis Tikus | 8 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 11 |
| 3.1 Jenis Penelitian | 11 |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian | 11 |
| 3.2.1 Tempat Penelitian | 11 |
| 3.2.2 Waktu penelitian..... | 11 |
| 3.3 Teknik Sampling..... | 11 |
| 3.4 Populasi dan Sampel | 11 |
| 3.4.1 Populasi | 11 |
| 3.4.2 Sampel..... | 11 |
| 3.5 Alat dan Bahan | 12 |
| 3.5.1 Alat | 12 |
| 3.5.2 Bahan | 12 |
| 3.6 Variabel Penelitian..... | 12 |
| 3.6.1 Variabel Indenpenden | 12 |
| 3.6.2 Variabel Dependenden | 12 |
| 3.7 Definisi Operasional | 12 |
| 3.8 Prosedur Kerja | 13 |
| 3.8.1 Tahapan Pembedahan Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) | 13 |
| 3.8.2 Tahapan Pengelolaan Jaringan | 13 |
| 3.8.3 Prosedur Pewarnaan Hematokxylin Eosin (HE) | 14 |

| | |
|---|-----------|
| 3.9 Analisis Data | 15 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN | 16 |
| 4.1 Hasil Penilaian Berdasarkan Kriteria Skor | 16 |
| 4.2 Gambaran Hasil Penilaian Mikroskopis | 17 |
| 4.3 Hasil Analisis Data | 20 |
| BAB V PEMBAHASAN | 21 |
| 5.1 Waktu Fiksasi Selama 6 jam..... | 21 |
| 5.2 Waktu fiksasi selama 24 jam | 21 |
| 5.3 Waktu fiksasi selama 72 jam..... | 22 |
| 5.4 Uji Analisa SPSS | 23 |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN..... | 26 |
| 6.1 Kesimpulan | 26 |
| 6.2 Saran | 26 |
| DAFTAR PUSTAKA | 27 |
| LAMPIRAN..... | 28 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 <i>Rattus norvegicus</i> | 7 |
| Gambar 2.2 Anatomi Fisiologi Tikus | 10 |
| Gambar 3.2 Prosedur Pewarnaan HE | 15 |
| Gambar 4.2 Fiksasi 6 jam Hasil Mikroskopis | 17 |
| Gambar 4.3 Fiksasi 24 jam Hasil Mikroskopis | 18 |
| Gambar 4.4 Fiksasi 72 jam Hasil Mikroskopis | 19 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 3.1 Definisi Operasional | 12 |
| Tabel 4.1 Skor Histologi Kualitas Pewarnaan HE..... | 16 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1 Hasil SPSS..... | 27 |
| Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian..... | 29 |
| Lampiran 3 Surat Penelitian..... | 30 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Histoteknik adalah suatu metode dalam proses pembuatan preparat histologi dari spesimen tertentu dengan melalui serangkaian proses sampai menjadi preparat yang dapat di amati atau dianalisa. Spesimen jaringan yang dapat digunakan dalam membuat preparat histologis bisa didapatkan pada manusia dan hewan. Jaringan yang diperoleh dari hewan dapat difiksasi dalam keadaan hidup maupun dari hewan yang sudah mati. Salah satu tahapan histoteknik yaitu fiksasi (Saputro Ade Tri dkk, 2023).

Fiksasi adalah salah satu bagian dari beberapa tahapan dalam pembuatan sediaan histologi. Fiksasi sangat penting dalam tahapan ini karena suatu hal yang menjadi faktor keberhasilan dalam suatu pembuatan sediaan. Ketika terjadi kesalahan dalam proses fiksasi maka proses selanjutnya menjadi sia-sia karena akan menghasilkan sediaan yang tidak baik, dan akan membuat sel atau jaringan yang akan diamati menjadi rusak keseluruhannya dan tidak dapat diambil kembali (Nurlila Umi Ratna, 2024). Tujuan fiksasi ini adalah untuk mengawetkan jaringan sehingga jaringan secara permanen mirip sedekat mungkin dengan keadaan saat hidup serta untuk mengeraskan sehingga memudahkan pembuatan jaringan irisan yang tipis (Yohana, 2017).

Bahan pengawet yang digunakan dalam proses fiksasi ini adalah larutan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10% merupakan cairan fiksatif untuk mengawetkan jaringan pada pemeriksaan histopatologi rutin. Pengawet ini telah digunakan sebagai cairan fiksatif rutin dan menjadi gold standard dalam laboratorium histologi selama beberapa dekade (Miranti, 2010). Namun, ada kekurangan dari fiksasi menggunakan BNF 10% yaitu daya fiksasinya lebih lambat sekitar 12-24 jam (Rahmadani, 2018). Mengingat tujuan fiksasi, maka perlu diperhatikan bahwa tindakan fiksasi merupakan tahap yang sangat menentukan keberhasilan indikator layak baca dari sediaan mikroskopis jaringan yang sudah dilakukan pewarnaan (Miranti, 2010).

Pewarnaan yang rutin digunakan di laboratorium histopatologi yaitu pewarnaan HE. HE merupakan kombinasi dari dua pewarnaan yaitu hematoxylin

dan eosin. Pewarnaan HE ini melibatkan serangkaian langkah untuk memberikan kontras pada struktur sel dan jaringan. Hematoxylin digunakan untuk mewarnai inti sel atau nukleus yang akan memberikan warna biru, sedangkan eosin mewarnai sitoplasma yang akan memberikan warna merah atau merah muda (Saputro Ade Tri dkk, 2023).

Dari penelitian yang sudah dilakukan oleh (Jahira, Sri Sinto Dewi, 2018) tentang “Pengaruh lama fiksasi terhadap gambaran mikroskopis dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)”. Didapatkan hasil gambaran mikroskopis pada fiksasi organ ginjal dan hati kelinci dengan menggunakan larutan Buffered Neutral Formalin (BNF) 10% dan menggunakan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) dengan waktu fiksasi 8, 16, dan 24 jam hasil gambar rata-rata baik yaitu warna biru terang pada inti sel, warna merah (eosin) pada sitoplasma dan warna pada preparat seragam.

Oleh karena itu, penulis tertarik untuk meneliti tentang “Pengaruh Variasi Waktu Fiksasi Terhadap Kualitas Sediaan Jaringan Hati Tikus Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin”. Tujuannya adalah untuk melihat apakah dengan perlakuan lama waktu fiksasi pada jaringan hati menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dengan waktu fiksasi 6, 24 dan 72 jam akan membuat kualitas pewarnaan jaringan hati yang baik atau malah membuat kualitas pewarnaan jaringan hati yang buruk.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimanakah pengaruh lama waktu fiksasi pada kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) jaringan hati tikus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas jaringan hati tikus dengan pewarnaan HE.

1.3.2 Tujuan khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh lama fiksasi terhadap gambaran mikroskopis jaringan dengan lama waktu jam, 6 jam, 24 jam dan 72 jam berdasarkan skor penilaian.
- b. Untuk mengetahui waktu fiksasi yang baik dari preparat jaringan hati tikus menggunakan 3 perlakuan waktu yaitu 6 jam, 24 jam dan 72 jam secara mikroskopis.
- c. Untuk menentukan waktu fiksasi yang paling efektif dari analisis hasil.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Bagi peneliti

Sebagai latihan bagi penulis untuk membuat suatu karya tulisan ilmiah. Serta sebagai sarana belajar untuk menerapkan ilmu yang didapat selama kuliah di universitas perintis indonesia terkhusus pada program studi Diploma Empat Analisis Kesehatan dan menambah wawasan tentang informasi waktu yang bagus untuk fiksasi dengan pewarnaan HE pada jaringan hati tikus.

1.4.2 Bagi institusi

Sebagai literatur di bidang sitohistoteknologi bagi institusi kesehatan khususnya program studi analisis kesehatan serta sebagai bahan bacaan di perpustakaan untuk menambah informasi bagi mahasiswa/i Universitas Perintis Indonesia.

1.4.3 Bagi tenaga teknis laboratorium

Dapat menjadikan ini sebagai informasi yang akurat dalam menentukan waktu yang bagus untuk fiksasi pada pewarnaan HE pada jaringan hati tikus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Histoteknik

Histoteknik yaitu cara untuk membuat preparat histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi preparat yang siap dianalisis menggunakan mikroskop. Preparat histologi yang baik harus dapat memberikan gambaran tentang susunan sel, inti sel, sitoplasma, badan inklusi, susunan serat, jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan tubuh tersebut pada waktu hidup (Jusuf, 2009)

Proses pada pembuatan preparat histologi adalah fiksasi (fixation), dehidrasi (dehydration), pembersihan (clearing), pembedan (embedding), pengeblokan (blocking), pemotongan jaringan (sectioning), pewarnaan (staining), dan perekatan (mounting). (Jusuf, 2009).

a. Fiksasi

Fiksasi adalah tahap awal untuk setiap teknik pemeriksaan laboratorium histologi dan sitologi. Tahap ini merupakan proses memperbaiki sel-sel dalam jaringan secara kimia dan fisika, secara biokimia dan aktifitas mencegah sel aktif secara proteolitik. Proses ini bertujuan untuk membuat suatu sediaan yang baik, sel dan jaringan yang akan diamati diharapkan sangat mirip dengan kondisi ketika masih hidup. Larutan yang sering digunakan di laboratorium patologi anatomi yaitu netral buffer formalin 10% (Khristian Erick, 2017).

b. NBF 10%

Secara umum larutan fiksasi yang banyak digunakan pada laboratorium patologi anatomi adalah NBF 10%. Larutan NBF terdiri dari formaldehid dan buffer fosfat. Larutan buffer berfungsi mencegah kondisi pH asam pada spesimen jaringan yang dapat memicu terjadinya autolisis. Formalin tanpa buffer yang disimpan dalam waktu lama akan diubah menjadi asam format yang bereaksi dengan hemoglobin darah dan menghasilkan asam formaldehid hematin yang membentuk granular berwarna hitam kecoklatan yang tidak larut. Dengan ikatan ini, maka NBF dapat menurunkan permeabilitas untuk makromolekul tetapi struktur molekul protein begitu

berubah. Dengan ukuran yang kecil dari molekul metilen glikol dan formaldehida memungkinkan penetrasi menjadi cepat, dan dengan akibatnya fiksatif ini cocok untuk spesimen dengan ukuran yang besar atau kecil. Kelebihan dari larutan ini adalah Tingkat penetrasi tinggi, morfologi sel terjaga, lebih murah, lebih mudah disiapkan, dan merupakan cairan stabil (Fauzi, 2018).

c. Dehidrasi

Dehidrasi (pengeluaran air dari dalam sel/organ), Karena sebagian besar volume sel terdiri dari air dan air memberikan konsistensi lunak pada jaringan sehingga keberadaan air dalam sel akan menyulitkan pengirisan jaringan. Untuk itu, air dalam jaringan atau sel mesti dikeluarkan dari sel dengan menggunakan dehidran seperti alkohol atau aseton (Sari, 2019).

d. Penjernihan (Clearing)

Suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan paraffin. Clearing ini bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan agar jaringan tidak mudah membusuk dengan memperoleh hasil yang baik akan membuat jaringan terlihat transparan (Wulandari et al. 2022).

e. Pengeblokan (blocking)

Bertujuan untuk pada saat pemotongan jaringan mudah dipotong di mikrotom. Proses pengeblokan dengan paraffin padat yang dicairkan dituangkan kedalam cetakan (base mold), jaringan yang dari processing dimasukkan kedalam cetakan yang telah berisi paraffin cair, tekan jaringan agar semakin menempel di dasar cetakan. Tutup cetakan kaset, letakkan diatas cetakan dan ditekan, diberi label nomor sampel/etiket dipinggir kaset, biarkan sampai paraffin membeku setelah beku dikeluarkan dari cetakan (Jahira et al. 2018).

f. Pemotongan jaringan (sectioning)

Blok parafin yang telah membeku dapat dipotong menjadi sejumlah tipis menggunakan alat yang disebut mikrotom. Potongan tipis ini ditempatkan pada kaca objek untuk analisis mikroskopis (Khristian Erick, 2017).

g. Pewarnaan (staining)

Pewarnaan yang rutin digunakan di laboratorium histopatologi adalah pewarnaan HE. Pewarnaan ini terdiri atas masing-masingnya zat warna utamanya adalah hematoxylin dan eosin. Larutan pewarna hematoxylin mengandung beberapa zat lainnya selain daripada zat warna hematoxylin, dikenal sebagai zat modren. Larutan eosin dibuat dengan melarutkan zat warna eosin dalam akuades dan alkohol. HE merupakan teknik pewarnaan yang berdasarkan pada prinsip asam basa. Larutan hematoxylin bersifat basa sedangkan larutan eosin bersifat asam. Sifat basa pada larutan hematoxylin akan memungkinkan hematoxylin berikatan terutama dengan komponen sel yang bersifat asam (Sari, 2019).

Proses pewarnaan jaringan dimulai dari proses deparafinisasi dengan tujuan untuk menghilangkan paraffin atau membebaskan jaringan dari sisa paraffin. Proses rehidrasi bertujuan untuk memasukkan molekul air ke dalam jaringan yang telah dideparafinisasi. Pewarnaan hematoxylin bertujuan untuk mewarnai inti sel. Proses pencucian bertujuan untuk lebih menempelkan warna biru pada inti sel. Proses dehidrasi bertujuan untuk menarik molekul air dari dalam jaringan yang telah diwarnai. Pewarnaan eosin untuk mewarnai sitoplasma. Proses clearing bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan agar jaringan tidak mudah membusuk, hasil clearing yang baik akan membuat jaringan terlihat transparan

h. Perekatan (mounting)

Berfungsi untuk jaringan yang telah diwarnai dengan cara meneteskan preparat menggunakan entelan I tetes kemudian ditutup dengan deck glass (Jahira et al. 2018).

i. Pelabelan

Preparat yang telah dimounting kemudian diberi label berupa identitas nama dan nomer. Pemberian label penting dilakukan agar tidak saling tertukar (Rahmadani, 2018).

2.2. Tikus

2.2.1 Klasifikasi Tikus

Menurut I ketutu brata budidaya hewan coba
klasifikasi mencit sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
 Sub filum : Vertebrata
 Class : Mamalia
 Sub class : Theria
 Ordo : Rodentia
 Sub ordo : Myomorpha
 Famili : Muridae
 Sub family : Murinae
 Genus : *Rattus*
 Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.1 *Rattus norvegicus* sumber : (Handajani, 2021)

2.2.2 Deskripsi Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus merupakan salah satu jenis hewan yang banyak digunakan untuk penelitian hewan coba karena memiliki struktur DNA yang mirip dengan manusia. Tikus adalah kelompok hewan mamalia rodensia (pengerat) yang sering digunakan untuk penelitian. Tikus ini merupakan mamalia yang mempunyai kemiripan dengan manusia, yang masuk dalam famili muridae. Penggunaan tikus ini sering digunakan

dalam penelitian ilmiah terutama dalam penelitian biologi, genetika, toksikologi, patologi, histopatologi dan bidang lainnya (Handajani, 2021).

Tikus memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya. Tikus memiliki bulu pendek halus berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari pada badan dan kepala. Ciri-ciri lain mencit secara umum adalah tekstur rambut lembut dan halus, bentuk hidung kerucut terpotong, bentuk badan silindris agak membesar ke belakang warna rambut putih, mata merah, ekor merah muda.

Tikus memiliki kemampuan untuk bertahan hidup selama 2 hingga 3 tahun, dengan masa kebuntingan yang singkat, yakni sekitar 20-22 hari, dan memiliki masa aktivitas reproduksi yang relatif lama, berkisar antara 1 tahun sepanjang hidupnya. Tikus dianggap dewasa pada usia 40-60 hari, dan mereka sudah dapat berkawin ketika mencapai usia sekitar 10 minggu baik untuk jantan maupun betina. Siklus reproduksi mencit bersifat poliestrus, yang berarti masa estrus atau birahi dapat terjadi selama 5 hari dengan rentang waktu birahi sekitar 9-20 jam (Khairani et al. 2024).

2.2.3 Anatomi Dan Fisiologis Tikus

Menurut (Saputro Ade Tri et al. 2023). Anatomi dan fisiologis mencit sebagai berikut :

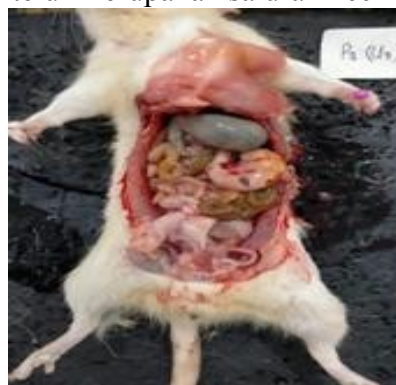
1. Tikus terdiri atas 2 bagian yakni bagian eksternal (luar) yang sempit berupa vestibula yang terdiri dari ruang diantara gusi, gigi, bibir dan pipi, bagian dalam (internal) atau rongga mulut yang dibatasi dengan tulang maksilaris, palatum serta mandibularis di bagian belakang bersambung dengan faring. Selaput lendir mulut ditutupi oleh jaringan epitel berlapis yang dibawahnya terdapat kelenjar halus penghasil lendir. Selaput tersebut penuh dengan pembuluh darah dan ujung akhir dari saraf sensoris. Bibir mencit terletak di sebelah luar mulut dan ditutupi dengan kulit serta dan di bagian dalam ditutupi dengan mukosa.
2. Faring tikus di bagian dalamnya terdapat lengkung faring yang terdapat tonsil atau amandel yang tersusun atas kumpulan kelenjar limfe. Kelenjar tersebut banyak mengandung limfosit yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap

infeksi. Letak faring bersimpangan antara saluran respirasi dengan saluran makanan.

3. Saluran udara yang berfungsi sebagai pembentuk suara yang lokasinya berada di depan bagian faring sampai di ketinggian vertebra servikalis serta masuk ke dalam trakea. Pangkal trakea tersebut ditutup dengan epiglotis yang tersusun atas dari tulang-tulang rawan.
4. Jantung tikus berada di atas rongga dada sebelah kiri, diatas diafragma. Jantung terdiri dari 4 ruang dan terbungkus oleh selaput pericardia.
5. Paru-paru tikus lokasinya di dalam rongga dada sebelahnya kanan dan kiri jantung. Paru-paru bagian kanan terdiri atas tiga kelompok alveolus yang merupakan dua lobus paru-paru. Di bagian dalam paru- paru, bronkus bagian kanan memiliki tiga cabang, sementara bronkus bagian kiri memiliki 2 cabang.
6. Hati berfungsi sebagai homeostasis yang berperan dalam proses metabolisme. Warna hati coklat kemerahan yang terletak di bagian bawah diafragma. Fungsi hati yakni mengubah zat makanan yang diserap dari usus dan kemudian disimpan di organ tubuh lain mengubah hasil metabolisme untuk diekskresikan kedalam empedu dan urin.
7. Kantung empedu tikus memiliki bentuk seperti buah pir yang mana organ tersebut sebagai penghubung antara hati dengan usus dua belas jari. Kandung empedu berfungsi untuk menghasilkan getah empedu, sehingga membuat getah empedu menjadi kental.
8. Lambung tikus adalah organ yang berbentuk seperti kacang kedelai. Lambung tersusun atas 3 bagian, yakni kardia, fundus, antrum. Makanan yang masuk ke dalam lambung melalui kerongkongan serta melewati otot sfingter.
9. Usus dua belas jari (duodenum) adalah bagian pertama dari usus halus. Makanan yang masuk ke dalam duodenum bisa dicerna oleh usus halus. Jika duodenum sudah penuh, maka duodenum akan memberikan sinyal kepada lambung untuk berhenti menyuplai sari makanan.
10. Usus besar terdiri atas dari kolon ascendens (naik), kolon transversum (mendatar), kolon descendens (menurun), dan kolon sigmoid (yang berhubungan dengan rektum). Usus besar menghasilkan sekret yang

berfungsi menyerap air dan elektrolit dari tinja. Pada saat mencapai usus besar, isi usus berbentuk cairan, namun pada saat mencapai rektum bentuknya menjadi padat.

11. Ginjal terdiri dari sepasang organ dengan bentuk seperti kacang dan letaknya berada di retroperitoneal di bagian kedua sisi tulang punggung. Ginjal tidak melekat langsung pada bagian dinding tubuh namun dilapisi oleh jaringan lemak. Pada bagian ginjal kanan memiliki ukuran lebih besar, lebih berat dan letaknya lebih anterior. Ginjal jantan memiliki massa lebih berat dan lebih besar.
12. Organ reproduksi tikus jantan berfungsi menghasilkan gamet jantan. Alat kelamin tikus jantan tersusun atas alat kelamin dalam dan luar. Alat kelamin luar berupa penis dan skrotum, sementara alat kelamin dalam berupa testis, saluran reproduksi, dan kelenjar kelamin.
13. Sistem reproduksi tikus betina terdiri atas beberapa organ, yaitu ovarium, saluran telur (oviduct atau tuba falopi), uterus (endometrium), vagina, dan klitoris. Ovarium berbentuk bulat, kecil, melekat pada dinding rongga tubuh oleh selaput mesovarium. Ovarium terdapat sepasang yang jenuh dengan bakal sel telur atau oogonium. Ovarium tersebut akan selalu mematangkan oogonium menjadi telur (ovum) secara bergantian antara ovarium kanan dan kiri dengan cara ovulasi yang selanjutnya akan masuk ke dalam saluran telur atau oviduct. Saluran telur merupakan saluran kecil yang berliku-liku.



Gambar 2.2 Anatomi dan fisiologis Tikus
Sumber : (Khairani et al. 2024)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif analitik dengan pendekatan longitudinal. Merupakan rancangan penelitian yang menggunakan kelompok subjek dengan cara membandingkan perubahan perlakuan dalam rentang waktu tertentu (Sumantri, 2011). Karena penelitian ini bertujuan untuk mencari perbedaan waktu yang baik dalam fiksasi jaringan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Perintis Indonesia.

3.2.2 Waktu penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan November 2024 - Januari 2025.

3.3 Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang akan digunakan pada penelitian kali ini adalah Teknik *random sampling*, dimana semua individu dalam populasi baik secara sendiri-sendiri atau bersama-sama diberi kesempatan yang sama untuk dipilih menjadi anggota sampel (Riyanto and Andi, 2022).

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini menggunakan 15 slide dari 3 ekor hewan tikus.

3.4.2 Sampel

Sampel diambil dari jaringan organ tubuh hewan coba (tikus), dilakukan pembedahan kemudian diambil organ hati yang masih segar, jaringan dipotong masing-masing dimasukkan kedalam wadah yang berisi larutan fiksatif NBF 10%. Kemudian difiksasi selama 6, 24 dan 72 jam.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat pelindung diri (APD), alat ukur, alat untuk pengeblokan, alat untuk pemotongan blok paraffin, alat untuk pewarnaan, kaset, mesin pengolahan jaringan, tissue processing, mikroskop, pisau jaringan (*makro knife*), pinset, wadah/botol kaca bermulut besar, telenan, Water bath (*Section Floation Bath*).

3.5.2 Bahan

Sampel hati tikus, alkohol 70%, 80%, 96% absolute, dek glass, entelan, eosin, fiksatif BNF 10%, Hematoxylin, kaca objek glass, paraffin dan xylol.

3.6 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas dua variabel.

3.6.1 Variabel Independen

Adalah variasi waktu fiksasi selama 6, 24 dan 72 jam menggunakan NBF 10%

3.6.2 Variabel Dependen

Adalah kualitas preparate jaringan Hati Tikus secara mikroskopis menggunakan pewarnaan HE.

3.7 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

| No | Variabel | Definisi Operasional | Alat ukur | Cara ukur | Hasil ukur | Skala Ukur |
|----|---|---|-------------|---|---|------------|
| 1 | Waktu Fiksasi | Lama waktu hati tikus di rendam dalam larutan Buffered Neutral Formalin (BNF) 10% dengan variasi waktu fiksasi 6, 24, dan 72 jam. | stopwatch | Sampel hati tikus di fiksasi dengan BNF 10% selama 6,24 dan 72 jam | 1. 6 jam di fiksasi dengan BNF 10% 2. 24 jam di fiksasi dengan BNF 10% 3. 72 jam di fiksasi dengan BNF 10% | Nominal |
| 2 | Mikroskopis variasi waktu fiksasi 6,24 dan 72 jam | Kejelasan sel pada jaringan hati tikus dengan variasi waktu fiksasi yang telah di lakukan pewarnaan hematoxsilin | Mikroskopis | Melihat sel dan sitoplasma dari masing-masing variasi waktu fiksasi | 1. skor 1 (tidak baik yaitu warna biru inti sel dan warna merah sitopalsama tidak baik) 2. skor 2 (kurang baik yaitu, warna biru inti sel dan warna merah sitopalsama kurang baik) 3. skor 3 (baik yaitu warna biru inti sel dan warna merah sitopalsama baik/jelas)(Ja hira, Sri Sinto Dewi, 2018) | Ordinal |

3.8 Prosedur Kerja

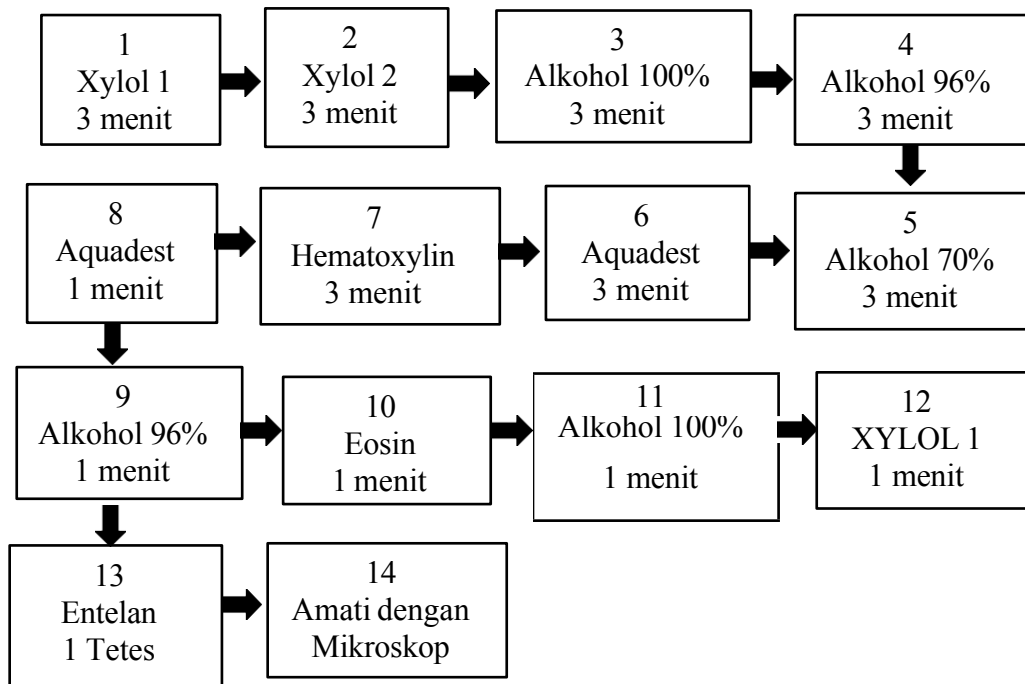
3.8.1 Tahapan Pembedahan Tikus (*Rattus norvegicus*)

Siapkan alat dan bahan, diberi eter pada kapas, lalu dimasukkan kapas tadi kedalam toples dan dimasukkan tikus (*Rattus norvegicus*) kedalam toples, kemudian ditutup dan tunggu beberapa saat sampai tikus (*Rattus norvegicus*) teranastesi, kemudian diletakkan mencit diatas papan bedah, ditancapkan keempat kaki tikus (*Rattus norvegicus*) menggunakan paku steroform, dibedah bagian dada sampai perut dari hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*), kemudian diangkat organ tubuh tikus (*Rattus norvegicus*) yang akan digunakan dalam penelitian.

3.8.2 Tahapan Pengelolaan Jaringan

Organ hati di potong dengan ukuran 2x2 atau 2x1 cm, dimasukan kedalam kaset jaringan dan beri label, kemudian di fiksasi dengan larutan Buffered Neutral Formalin (BNF) 10% waktu fiksasi 6, 24, dan 72 jam, kaset jaringan yang berisi organ hati tikus dilakukan prosesing jaringan menggunakan tissue prosesor. Kemudian dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat mulai dari wadah 1 (Alkohol 70%), wadah 2 (Alkohol 80%), wadah 3 (Alkohol 95%), wadah 4 (Alkohol 100%) wadah 5 (Alkohol 100%), masing-masing selama 1 jam 20 menit, masuk pada tahap clearing pada wadah 6 (Xylol 1), wadah 7 (Xylol 2) masing-masing selama 1 jam 20 menit, tahapan infiltrasi menggunakan paraffin cair pada wadah 8 (Parafin 1) selama 2 jam, wadah 9 (Parafin 2) selama 1 jam, lakukan blocking sampel menggunakan mold pada organ hati tikus dan bekukan sampai menjadi blok paraffin, pemotongan blok paraffin menggunakan mikrotom dengan cara diletakkan blok paraffin pada penjepit kaset mikrotom, dipasang pisau mikrotom yang masih tajam pada tempat pisau mikrotom kemudian diatur ketebalan 2 sampai 5 mikron, setelah didapatkan pita jaringan diambil dan dimasukan kedalam waterbath dengan suhu 50°C sampai mengembang lembaran jaringan diambil menggunakan objek glas.

3.8.3 Prosedur Pewarnaan Hematokxylin Eosin (HE)



Gambar 3.2 Prosedur Pewarnaan HE

3.9 Analisis Data

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskriptif analitik. Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer. Data yang dikumpulkan langsung oleh peneliti. Data dalam penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel. Semua data yang telah diperoleh dari hasil penilaian dicatat, dianalisis dan diberi skor sesuai dengan kriteria kemudian dilakukan pengolahan data menggunakan uji ANOVA test dengan SPSS.

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1 Hasil Penilaian Berdasarkan Kriteria Skor

Penilaian kualitas hasil pewarnaan dari preparat jaringan hati tikus dengan waktu fiksasi 6, 24, dan 72 jam di nilai menggunakan kriteria menurut (Jahira et al, 2018) yang memiliki kriteria skor 1 tidak baik, skor 2 kurang baik dan skor 3 baik. Adapun hasil penilaian dapat dilihat pada tabel 4.1 dibawah ini :

Tabel. 4.1 Skor Histologi Kualitas Pewarnaan HE

| Perlakuan | Skor Histologis | | | | | Rerata | Rerata Kualitas |
|----------------|-----------------|---------|---------|---------|---------|--------|-----------------|
| | Slide 1 | Slide 2 | Slide 3 | Slide 4 | Slide 5 | | |
| Fiksasi 6 Jam | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2,4 | 2 |
| Fiksasi 24 Jam | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Fiksasi 72 Jam | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1,6 | 2 |

Ket :

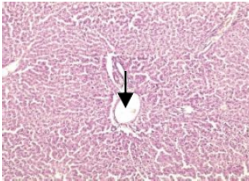
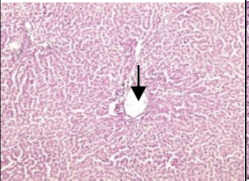
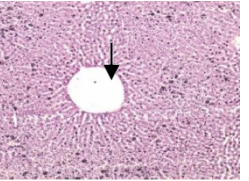
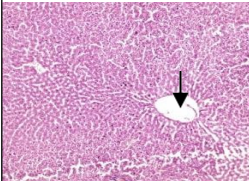
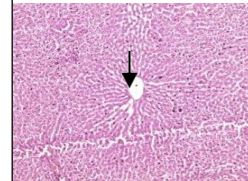
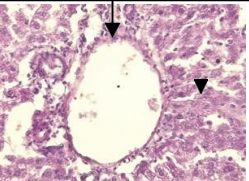
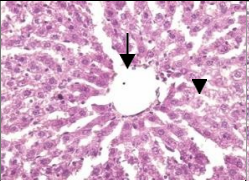
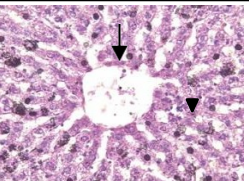
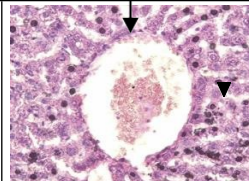
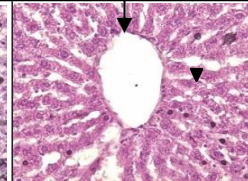
1. Tidak baik : warna biru tua pada inti sel tidak jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma pada jaringan ikat tidak jelas serta warna pada preparat tidak seragam. Sediaan tidak bisa didiagnosis.
2. Kurang baik : warna biru pada inti sel kurang, warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang, serta keseragaman warna pada preparat kurang, tetapi masih bisa didiagnosis.
3. Baik : warna biru terang pada inti sel, warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam. Sediaan bisa didiagnosis

Hasil pada tabel diatas yaitu hasil analisis kualitas pewarnaan HE berdasarkan waktu fiksasi menunjukkan variasi yang signifikan. Pada fiksasi selama 6 jam, rata-rata skor yang diperoleh adalah 2,4, yang mengindikasikan bahwa kualitas pewarnaan berada dalam kategori "Kurang Baik". Dalam hal ini, warna biru pada inti sel tampak kurang jelas, dan warna merah (eosin) pada sitoplasma serta jaringan ikat juga tidak optimal. Meskipun preparat masih dapat didiagnosis, keseragaman warna yang kurang memadai menjadi kendala dalam interpretasi hasil. Sebaliknya, fiksasi selama 24 jam memberikan hasil yang sangat baik dengan rata-rata skor 3,0,

menunjukkan bahwa warna biru terang pada inti sel dan warna merah (eosin) pada sitoplasma serta jaringan ikat sangat jelas dan seragam. Hal ini memungkinkan sediaan untuk didiagnosis dengan akurat. Namun, fiksasi selama 72 jam menunjukkan hasil yang mengecewakan dengan rata-rata skor 1,6, yang menempatkan kualitas pewarnaan dalam kategori "Tidak Baik". Pada waktu fiksasi ini, warna biru tua pada inti sel tidak terlihat jelas, dan warna merah (eosin) pada sitoplasma serta jaringan ikat juga tidak tampak dengan baik, sehingga preparat tidak dapat didiagnosis. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan pentingnya waktu fiksasi yang tepat untuk mencapai kualitas pewarnaan yang optimal dalam preparat histologis.

4.2 Gambaran Hasil Penilaian Mikroskopis

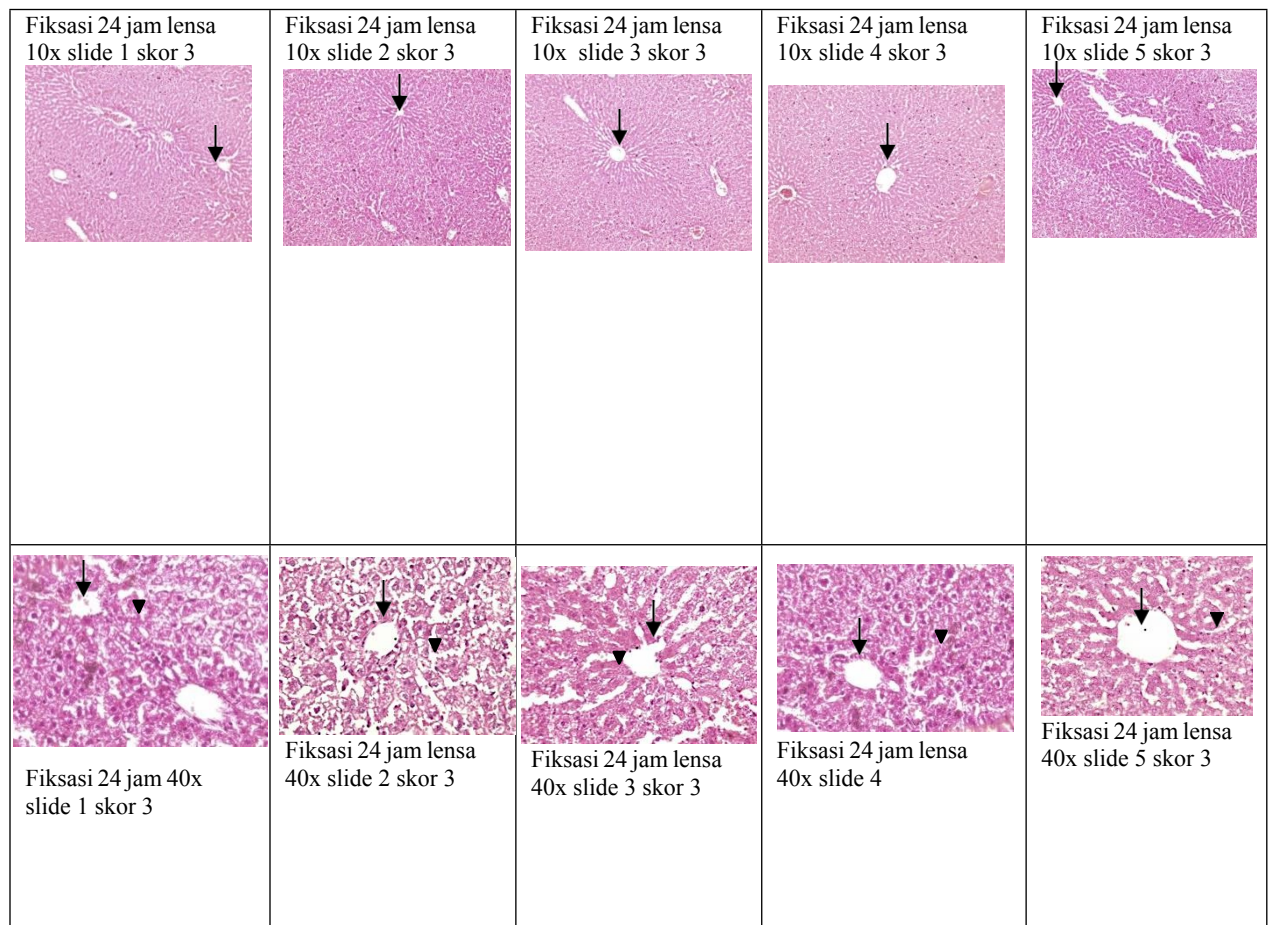
Gambaran penilaian mikroskopis pada preparat jaringan hati tikus menggunakan perbesaran 10x dan 40x dapat dilihat pada gambar 4.2 dibawah ini :

| | | | | |
|---|---|--|---|---|
| Fiksasi 6 jam lensa 10x slide 1 skor 2 | Fiksasi 6 jam lensa 10x slide 2 skor 3 | Fiksasi 6 jam lensa 10x slide 3 skor 2 | Fiksasi 6 jam lensa 10x slide 4 skor 2 | Fiksasi 6 jam lensa 10x slide 5 skor 3 |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| Fiksasi 6 jam 40x slide 1 skor 2 | Fiksasi 6 jam lensa 40x slide 2 skor 3 | Fiksasi 6 jam lensa 40x slide 3 skor 2 | Fiksasi 6 jam lensa 40x slide 4 skor 2 | Fiksasi 6 jam lensa 40x slide 5 skor 3 |

Gambar 4.2 Fiksasi 6 jam Hasil Mikroskopis Vena Sentralis (↓) Hepatosit sel (▼)

Berdasarkan gambar 4.2 di atas pada waktu fiksasi 6 jam: Semua sampel dalam gambar difiksasi selama 6 jam adalah proses penting dalam pembuatan preparat mikroskopis untuk mengawetkan struktur sel dan jaringan agar tidak mengalami perubahan atau kerusakan setelah diambil dari organisme. Hasil

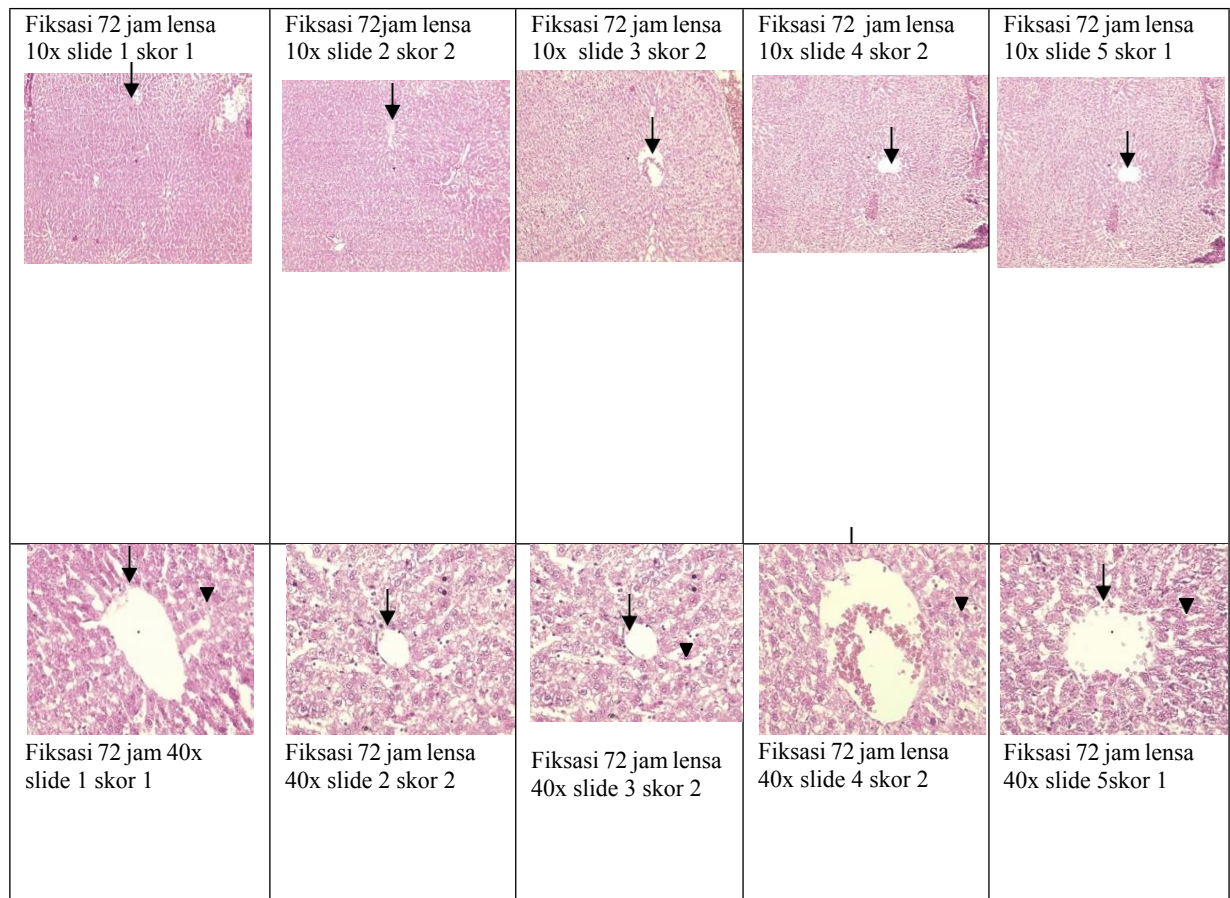
pengamatan menggunakan lensa objektif 10x dan 40x menunjukkan hasil yang cukup baik, di mana gambaran jaringan terlihat merata tetapi dengan pewarnaan inti yang pucat dan sitoplasma yang tidak terwarnai dengan baik, Lensa 10x ini memberikan pembesaran yang lebih rendah, cocok untuk melihat gambaran umum jaringan. Lensa 40x memberikan perbesaran yang lebih tinggi, dengan struktur jaringan dapat dikenali, tetapi detail seluler tidak terlalu jelas tidak memungkinkan dalam pengamatan. Kemudian analisa pada slide berbeda sampel diambil dari slide yang berbeda (slide 1 hingga slide 5), yang menunjukkan variasi dalam jaringan yang diamati.



Gambar. 4.3 Fiksasi 24 jam Hasil Mikroskopis Vena Sentralis (↓) Hepatosit sel (▼)

Fiksasi 24 jam semua sampel difiksasi selama 24 jam merupakan proses krusial dalam pembuatan preprat mikroskopis untuk mengawetkan struktur sel dan jaringan. Hasil lensa 10x dan 40x gambar menunjukkan hasil struktur sel dan jaringan lebih baik menghasilkan pewarnaan inti sel yang tajam dan jelas, dengan

warna biru yang intens pada nukleus dan merah muda yang merata pada sitoplasma. Pada pewarnaan Hematoxylin dan eosin (HE) warna ungu disebabkan oleh pewarnaan HE. Hematoxylin mewarnai inti sel menjadi biru, sementara eosin mewarnai sitoplasma dan komponen ekstraseluler menjadi merah muda. Kontras yang dihasilkan oleh pewarnaan HE memungkinkan visualisasi yang jelas dari struktur jaringan dan sel



Vena Sentralis (↓) Hepatosit sel (▼)

Gambar 4.4 Fiksasi 72 jam Hasil Mikroskopis Vena Sentralis (↓) Hepatosit sel (▼)

Hasil pada gambar diatas merupakan hasil fiksasi 72 jam tampaknya memberikan hasil yang cukup baik untuk pengamatan mikroskopis dengan lensa 10x dan 40x. Pada pewarnaan HE memberikan kontras yang baik untuk memvisualisasikan struktur jaringan dan sel. Kemudian variasi slide menunjukkan perbedaan dalam struktur jaringan yang diamati, dibandingkan dengan fiksasi 24 jam, fiksasi 72 jam mungkin memberikan hasil yang lebih baik dalam beberapa

kasus, terutama untuk jaringan yang lebih padat atau sulit ditembus oleh fiksasi namun, fiksasi yang terlalu lama juga dapat menyebabkan artefak.

4.3 Hasil Analisis Data

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dan uji One-Way ANOVA, dapat disimpulkan bahwa data skor histologis dari semua perlakuan (Fiksasi 6 Jam, Fiksasi 24 Jam, dan Fiksasi 72 Jam) didapatkan hasil distribusi normal. Dengan demikian, analisis statistik yang memerlukan asumsi normalitas, seperti ANOVA, dapat diterapkan. Sebagai alternatif, analisis non-parametrik, seperti Kruskal-Wallis, tidak dapat digunakan untuk membandingkan kelompok-kelompok ini.

Berdasarkan hasil analisis Ranks dan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas varians Levene, serta analisis statistik One-Way ANOVA. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan nilai signifikansi 0,006, yang mengindikasikan data berdistribusi normal. Selain itu, uji *sapiro wilk* menghasilkan nilai signifikansi 0,000, yang berarti varians antar kelompok tidak homogen. Asumsi ini menyebabkan hasil uji One-Way ANOVA yang menunjukkan signifikansi 0,047 ini berarti kita dapat menolak hipotesis nol. Terdapat perbedaan nyata antara kelompok perlakuan waktu fiksasi 6, 24 dan 72 jam yang diuji.

BAB V PEMBAHASAN

5.1 Waktu Fiksasi Selama 6 Jam

Fiksasi selama 6 jam menunjukkan hasil yang cukup baik pada lensa 10x, di mana gambaran jaringan terlihat merata dengan pewarnaan yang baik. Meskipun struktur jaringan dapat dikenali, detail seluler tidak terlalu jelas pada perbesaran ini. Beberapa area berwarna putih menunjukkan jaringan yang kosong atau area yang tidak terwarnai dengan baik. Perbedaan antara slide menunjukkan hasil yang konsisten, dengan warna ungu yang tetap dominan, menandakan bahwa fiksasi 6 jam memberikan hasil yang cukup baik meskipun tidak optimal. Penelitian oleh Zhang et al. (2020) menunjukkan bahwa fiksasi yang lebih singkat dapat menghasilkan pewarnaan yang tidak merata, yang sejalan dengan penelitian ini bahwa fiksasi 6 jam mungkin tidak cukup untuk memastikan penetrasi fiksatif yang optimal (Zhang et al. 2020).

Pada lensa 40x, detail seluler mulai terlihat lebih jelas, dan struktur inti sel serta sitoplasma dapat dibedakan dengan lebih baik. Variasi kepadatan jaringan antar slide menunjukkan perbedaan struktur yang mungkin disebabkan oleh teknik preparasi atau variasi biologis. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Lee et al. (2021), yang menyatakan bahwa waktu fiksasi yang lebih pendek dapat mengakibatkan detail seluler yang kurang terlihat, sehingga mempengaruhi analisis histologis (Lee et al. 2021).

5.2 Waktu Fiksasi Selama 24 Jam

Fiksasi selama 24 jam umumnya dianggap optimal untuk menjaga integritas jaringan. Proses ini meminimalkan kesalahan yang dapat mengganggu interpretasi. Pewarnaan yang relatif merata dan detail struktur yang terlihat menunjukkan bahwa fiksasi 24 jam berhasil mempertahankan kualitas jaringan. Penelitian oleh Kim et al. (2020) mendukung penelitian ini, menunjukkan bahwa fiksasi selama 24 jam memberikan hasil yang lebih baik dalam hal preservasi struktur seluler dibandingkan dengan waktu fiksasi yang lebih singkat (Kim et al. 2020). Perbedaan antar slide menekankan pentingnya variabilitas biologis, di mana jaringan dari individu atau lokasi yang berbeda dapat menunjukkan perbedaan struktural yang signifikan. Pewarnaan hematoxylin dan eosin (HE) memberikan kontras yang jelas

untuk visualisasi struktur jaringan dan seluler, di mana hematoxylin mewarnai inti sel biru dan eosin mewarnai sitoplasma merah muda. Perbesaran 10x memberikan gambaran umum jaringan, sedangkan perbesaran 40x memungkinkan analisis yang lebih rinci dari struktur seluler. Perbedaan hasil dari kedua perbesaran ini menunjukkan bahwa setiap perbesaran memiliki fungsi tersendiri dalam analisis histologis.

5.3 Waktu Fiksasi Selama 48 Jam

Fiksasi selama 48 jam menunjukkan gambaran umum jaringan yang masih utuh saat diamati dengan lensa 10x. Namun, gambaran mikroskopisnya kurang baik karena terjadi over fiksasi, yaitu kondisi di mana jaringan terlalu lama terkena bahan fiksatif. Hal ini menyebabkan penyerapan pewarna hematoksilin-eosin (HE) menjadi kurang sempurna. Akibatnya, warna biru pada inti sel menjadi kurang jelas, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat juga berkurang, serta warna pada preparat tidak merata. Meskipun demikian, preparat ini masih bisa digunakan untuk diagnosis, walaupun terdapat area berwarna putih yang menandakan kerusakan jaringan akibat fiksasi yang terlalu lama. Penelitian oleh Patel et al. (2021) menyatakan bahwa fiksasi yang lama memang dapat meningkatkan penetrasi bahan fiksatif ke dalam jaringan, tetapi juga berisiko menyebabkan kerusakan yang mempengaruhi hasil akhir.

Pada pembesaran lensa 40x, detail seluler lebih terlihat sehingga memungkinkan analisis morfologi inti dan sitoplasma. Variasi kepadatan jaringan antar slide menunjukkan perbedaan struktur yang cukup signifikan, di mana beberapa slide menunjukkan kualitas jaringan yang kurang baik, kemungkinan menandakan kerusakan jaringan. Hal ini sejalan dengan temuan Thompson et al. (2020) yang menyebutkan bahwa fiksasi yang terlalu lama dapat merusak struktur seluler dan mengganggu interpretasi mikroskopis.

Secara keseluruhan, hasil analisis menunjukkan bahwa waktu fiksasi berpengaruh besar terhadap kualitas preparat histologis. Fiksasi selama 24 jam dianggap waktu optimal karena mampu menjaga integritas jaringan dan meminimalkan artefak. Waktu fiksasi ini menghasilkan pewarnaan inti sel yang tajam dan jelas dengan warna biru yang intens pada nukleus serta warna merah

muda yang merata pada sitoplasma. Sebaliknya, fiksasi kurang dari 12 jam menghasilkan pewarnaan inti yang pucat dan sitoplasma yang kurang berwarna, sedangkan fiksasi lebih dari 48 jam menyebabkan pewarnaan terlalu gelap pada inti dan ketidakmerataan warna pada sitoplasma. Hasil ini sesuai dengan penelitian Rahmadani (2018) yang menemukan bahwa fiksasi dengan larutan formalin buffer netral (NBF) 10% selama 6 dan 24 jam menghasilkan gambaran mikroskopis yang baik dengan warna biru pada inti sel dan warna merah pada sitoplasma serta jaringan ikat yang seragam. Sedangkan fiksasi selama 7 hari menghasilkan gambaran yang kurang baik karena warna inti dan sitoplasma kurang jelas serta warna preparat tidak merata.

Penelitian Jahira et al. (2018) juga menyimpulkan bahwa waktu fiksasi sangat mempengaruhi kualitas gambaran mikroskopis jaringan. Waktu fiksasi antara 6 sampai 24 jam memberikan hasil yang baik, sedangkan fiksasi yang terlalu lama seperti 7 hari atau 2 minggu menyebabkan over fiksasi yang merusak struktur jaringan dan menyulitkan analisis mikroskopis. Menurut Septiana (2022), waktu fiksasi 24 jam adalah yang paling ideal untuk menghasilkan preparat histopatologi dengan inti dan sitoplasma yang jelas. Fiksasi selama 2 jam menghasilkan sitoplasma yang kurang jelas meskipun inti sel terlihat jelas, fiksasi 48 jam menghasilkan preparat yang jelas namun sedikit mengalami penyusutan, sedangkan fiksasi 72 jam menyebabkan sitoplasma dan inti sel menjadi tidak jelas dan terjadi penyusutan jaringan.

Dari semua temuan tersebut dapat disimpulkan bahwa pengaturan waktu fiksasi sangat penting untuk mendapatkan hasil mikroskopis yang optimal. Penggunaan waktu fiksasi yang terlalu lama harus dihindari agar kualitas gambaran jaringan tidak menurun. Kontrol waktu fiksasi menjadi faktor utama dalam proses persiapan sampel jaringan untuk analisis mikroskopis yang akurat dan dapat diandalkan.

5.4 Uji Analisis SPSS

Berdasarkan analisa SPSS menggunakan uji normalitas Shapiro – wilk dengan nilai signifikasi sebesar 0.006 untuk semua jenis kategori perlakuan (waktu fiksasi 6 jam, 24 jam, dan 72 jam), dimana nilai tersebut dapat dikatakan baik karena nilai

sig 0.647 > 0.05. Hal ini mengindikasikan bahwa variabel independent waktu fiksasi selama 6 dan 72 jam menggunakan NBF 10% berhubungan baik dengan variabel dependent skor histologi, sedangkan variabel independent waktu fiksasi 24 jam menggunakan NBF 10% berhubungan tidak normal dengan variabel dependent skor histologi, dimana nilai sig < 0.05. Pengujian Shapiro – wilk. Maka dapat dikatakan bahwa waktu fiksasi selama 6 jam dan 72 jam berdistribusi normal dengan skor histologi, dimana uji Shapiro – wilk lebih lebih sensitif dalam mendeteksi penyimpangan distribusi pada sampel kecil. Sehingga kondisi ini berbanding lurus dengan syarat utama analisis parametrik yang mensyaratkan kenormalan data.

Pada uji Kolmogorov – Smirnov mendapatkan nilai Asymp.sig (2-tailed) 0.162 dengan nilai signifikansi 0.05, hal ini menunjukkan data tersebut terdistribusi secara normal atau variabel independent waktu fiksasi tersebut berhubungan dengan variabel dependent skor histologi. Pada uji homogenitas varians Levene memperoleh nilai Levene Statistic = 195.087 dengan signifikansi 0,000 ($p < 0,001$), yang menunjukkan varians antar kelompok tidak homogenitas. Tingginya nilai Levene Statistic (>100) mengindikasikan perbedaan varians yang ekstrem antar kelompok perlakuan. Kedua pelanggaran asumsi ini (normalitas dan homogenitas) membuat hasil uji One-Way ANOVA sebelumnya yang menunjukkan signifikansi 0,047 menjadi tidak valid secara statistik

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan uji One Way ANOVA, diketahui bahwa variasi waktu fiksasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kualitas sediaan jaringan hati tikus yang diwarnai dengan Hematoxylin Eosin. Hal ini ditunjukkan oleh nilai signifikansi sebesar 0,01 ($p > 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan nyata antara kelompok perlakuan waktu fiksasi yang diuji. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pemilihan waktu fiksasi yang tepat sangat penting untuk memperoleh hasil preparat jaringan yang optimal. Namun, hasil uji homogenitas varians (Levene's Test) menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000, yang berarti varians antar kelompok tidak homogen. Kondisi ini menandakan adanya perbedaan variasi data antar kelompok, sehingga interpretasi hasil ANOVA perlu dilakukan dengan hati-hati. Pelanggaran asumsi homogenitas varians ini dapat memengaruhi keandalan hasil uji ANOVA, sehingga

disarankan untuk melakukan uji lanjut non-parametrik atau uji post-hoc yang sesuai, seperti Games-Howell, untuk memastikan kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

