

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Histoteknik merupakan suatu metode untuk membuat sediaan histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisis (Defi, 2020). Proses ini melewati beberapa tahap antara lain fiksasi, dehidrasi, penjernihan, penanaman jaringan, pengeblokan jaringan, pemotongan, *afixing*, pewarnaan, *mounting* dan *labeling* (Sumanto, 2014). Preparat histologi berfungsi sebagai sarana utama dalam mengidentifikasi berbagai kelainan patologis yang ditandai oleh perubahan abnormal pada sel dan jaringan, termasuk lesi tumor maupun keganasan (Pinilih *et al.*, 2024).

Salah satu tahapan dalam pembuatan sediaan histologi yaitu proses fiksasi. Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan jaringan dan mengeraskan jaringan. Supaya jaringan yang akan diamati tidak mengalami perubahan bentuk ataupun ukuran (Aulina, 2019). Proses fiksasi lebih dari 24 jam akan menyebabkan terjadinya pengerasan jaringan (Suvarna *et al.*, 2012). Proses 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 *et al.*, 2017).

Larutan fiksatif berbahan dasar formalin yang merupakan baku emas adalah larutan *Neutral Buffered Formalin 10%* (NBF). Larutan tersebut digunakan dalam proses pembuatan blok parafin karena memiliki beberapa keuntungan di antaranya mudah digunakan, tidak mahal, penetrasi ke jaringan cepat, dan dapat menstabilkan sampel jaringan saat ditanam dalam blok parafin. Selain memiliki keunggulan, larutan fiksatif berbahan dasar formalin mempunyai kekurangan di antaranya daya fiksasi yang lama 12-24 jam, bahkan pada jaringan lunak yang difiksasi menggunakan NBF 10% dapat memakan waktu hingga 2-6 minggu supaya jaringan kuat ketika dilakukan pembedahan. Selain itu, formalin juga bersifat toksik dan karsinogenik sehingga dapat berbahaya bagi pekerja laboratorium (Fitriany, 2020; Khristian, 2017; Miranti, 2010; Moelans et al., 2011; Singh et al., 2019).

Selain NBF 10%, terdapat fiksatif kimiawi lainnya yaitu fiksatif koagulan berbasis alkohol diantaranya adalah larutan *Ethmeth*. *Ethmeth* merupakan jenis fiksatif majemuk yang terdiri dari campuran *ethanol* 75% dan *methanol* 25% pada konsentrasi 100% (absolut). Mekanisme kerja larutan tersebut bekerja melalui proses denaturasi protein (Howat & Wilson, 2014). Keuntungan dari pemakaian fiksatif koagulan adalah fiksasi yang lebih cepat, tidak bersifat karsinogenik. Kombinasi etanol dan metanol sebagai fiksatif menawarkan opsi yang relatif lebih baik dibandingkan formalin yang lebih aman dan toksisitasnya rendah (Rezoana et al., 2022).

Jaringan hati dan pankreas tikus Wistar dipilih karena keduanya memiliki arsitektur histologis yang kompleks serta sangat peka terhadap perubahan yang terjadi selama proses fiksasi. Karakteristik ini menjadikan kedua organ tersebut model yang tepat untuk mengevaluasi larutan fiksatif *Ethmeth* dalam mempertahankan integritas struktur dan morfologi jaringan. Salah satu model hewan yang paling sering digunakan dalam penelitian adalah tikus Wistar (*rattus norvegicus*). Fakta bahwa tikus Wistar secara genetik lebih mirip manusia daripada organisme lain (Krubaa & Yogitha, 2024). Semakin besar kesamaan organik, fisiologis, anatomi dan histologi dengan manusia, semakin besar tikus Wistar dijadikan hewan uji dalam penelitian (Silva-Santana et al., 2019).

Berdasarkan latar belakang diatas, mendorong peneliti untuk melakukan penelitian terhadap kualitas gambaran histologi dari irisan blok parafin pada jaringan yang difiksasi dengan *Ethmeth* dan NBF 10% sebagai kontrol standar larutan fiksatif.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah kualitas hasil pengamatan morfologi pada jaringan hati dan pankreas tikus Wistar yang difiksasi menggunakan larutan *Ethmeth* sama baiknya dengan NBF 10%?

### **C. Tujuan Penelitian**

#### 1. Tujuan Umum

Mengetahui larutan fiksatif *Ethmeth* berpotensi dapat dijadikan sebagai alternatif pengganti NBF 10% pada preparasi jaringan hati dan pankreas tikus Wistar.

#### 2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui gambaran kualitas histomorfologi berdasarkan morfologi inti sel, sitoplasma, dan keseragaman pewarnaan pada jaringan hati tikus Wistar yang difiksasi menggunakan larutan *Ethmeth* dan NBF 10%
- b. Mengetahui gambaran kualitas histomorfologi berdasarkan morfologi inti sel, sitoplasma, dan keseragaman pewarnaan pada jaringan pankreas tikus Wistar yang difiksasi menggunakan larutan *Ethmeth* dan NBF 10%

### **D. Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup dalam penelitian ini termasuk ke dalam bidang Teknologi Laboratorium Medis dengan cakupan penelitian Histoteknologi khususnya proses fiksasi pada pembuatan blok parafin sediaan jaringan histologi.

### **E. Manfaat Penelitian**

#### 1. Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis penelitian ini dapat menambah ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang histoteknologi dan teknik preparasi jaringan.

Penelitian ini dapat menjadi referensi atau dasar teori bagi penelitian selanjutnya, serta memperkaya kajian tentang fiksatif *Ethmeth* sebagai agen fiksatif dalam menjaga struktur morfologi jaringan hati dan pankreas tikus Wistar. Dalam manfaat teoritis juga mencakup penambahan wawasan mengenai mekanisme fiksasi jaringan dan perbandingan fiksatif *Ethmeth* sebagai alternatif, sehingga diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan metode preparasi histologi.

## 2. Manfaat Praktis

Hasil dari penelitian diharapkan dapat bermanfaat sebagai solusi nyata bagi Ahli Teknologi laboratorium Medis (ATLM) dan user seperti; rumah sakit kanker, laboratorium patologi dalam memilih dan mengaplikasikan larutan fiksatif yang optimal untuk preparasi jaringan hati dan pankreas, sehingga hasil pengamatan mikroskopis menjadi lebih jelas dan akurat. Dapat digunakan sebagai pedoman dalam praktik laboratorium, dan penggunaan fiksatif yang dapat mengurangi bahaya toksisitas, menghemat waktu, dan mempertahankan kualitas morfologi jaringan pada proses preparasi jaringan.

## F. Keaslian Penelitian

1. Penelitian oleh Haque et al (2020), berjudul “Alcohol-Based Fixatives can Better Preserve Tissue Morphology than Formalin” menyimpulkan bahwa kualitas hasil preparat jaringan hati, limpa, dan otak segar kambing Bengal hitam (*Carpa hircus*) yang difiksasi menggunakan

larutan *Ethmeth* yang terdiri dari campuran etanol dan metanol dengan rasio 3:1 diketahui mampu memfiksasi jaringan dengan baik, mempertahankan morfologi jaringan sehingga semua detail nukleus dan sitoplasma terlihat jelas bahkan lebih baik dibandingkan formalin. Pada kualitas pewarnaan Hematoxylin-Eosin lebih bagus dibandingkan formalin.

Persamaan pada penelitian tersebut terletak pada perlakuan uji kualitas hasil histomorfologi pada jaringan yang difiksasi menggunakan larutan *Ethmeth* dengan menggunakan skor penilaian. Perbedaan dari penelitian yang akan dilakukan adalah pada jaringan hewan coba yang digunakan. Pada penelitian tersebut, jaringan hewan yang digunakan adalah organ hati, limpa, dan otak segar kambing Bengal hitam (*Carpa hircus*). Penelitian yang akan dilakukan menggunakan organ hati dan pankreas tikus Wistar.

2. Penelitian oleh Rahman *et al* (2022), berjudul “Alcoholic fixation over formalin fixation: A new, safer option for morphologic and molecular analysis of tissues” menunjukkan bahwa penetrasi jaringan yang lebih cepat pada larutan fiksatif EMA (*Ethanol Methanol Acetid Acid*) dibandingkan dengan larutan NBF 10%. Preparat jaringan segar hati (lobus kanan) dan otak (korteks selebri) kambing Bengal hitam (*Carpa hircus*) yang difiksasi dengan EMA menghasilkan detail inti sel, sitoplasma, batas sel yang lebih baik dan pewarnaan Hemaktosilin Eosin (HE) yang lebih tajam dibandingkan NBF 10%. Persamaan pada

penelitian tersebut terletak pada agen fiksatif menggunakan larutan alternatif berbasis alkohol yaitu campuran etanol dan metanol. Namun terdapat perbedaan pada penambahan larutan tambahan. Pada penelitian tersebut ditambahkan asam asetat. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan campuran etanol dan metanol.

3. Penelitian oleh Salsabil *et. al* (2023), berjudul “Perbandingan Kualitas Hasil Preparat Histologi Jaringan Ginjal Dengan Fiksasi Menggunakan *Neutral Buffer Formalin* 10% dan Etanol 50%”. Didapatkan hasil uji statistika pada jaringan ginjal yang difiksasi menggunakan NBF 10% dan etanol yaitu tidak terdapat perbedaan yang signifikan mengenai artefak dan penyusutan jaringan. Persamaan penelitian tersebut terletak pada larutan fiksatif yang digunakan dengan larutan etanol. Perbedaan dari penelitian yang akan dilakukan terletak pada konsentrasi larutan etanol yang dipakai, jenis fiksatif berdasarkan jumlah larutan penyusun dan parameter uji. Pada penelitian tersebut menggunakan konsentrasi larutan etanol 50%, merupakan jenis larutan fiksatif sederhana serta uji statistika. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan campuran etanol dan metanol 100% perbandingan 3:1 bagian, merupakan jenis larutan fiksatif majemuk dan parameter uji menggunakan penilaian

makroskopis dan mikroskopis dengan skoring parameter kejelasan inti sel, sitoplasma dan keseragaman warna.