

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

Preparasi jaringan merupakan langkah fundamental dalam analisis histologi. Sampai saat ini analisis histologi berperan sebagai standar emas dalam penegakkan diagnosis yang didasarkan pada perubahan morfologi sel dan jaringan tubuh (Lamsudianyah *et al.*, 2023). Preparat yang baik adalah preparat yang mampu memberikan data yang akurat dalam menjawab kebutuhan diagnostik dari pihak klinis. Untuk mencapai tujuan tersebut, preparat harus dapat menggambarkan morfologi, ukuran, dan susunan sel atau jaringan yang menyerupai kondisi aslinya saat masih hidup (Nuryani *et al.*, 2024). Jaringan yang sudah dipisahkan dari tubuh akan cepat mengalami kerusakan dan pembusukan. Oleh karena itu, untuk memperkecil kerusakan jaringan maka harus dilakukan proses preparasi dengan tepat.

1. Preparasi Jaringan

Preparasi jaringan mencakup keseluruhan rangkaian atau langkah yang bertujuan untuk mengawetkan jaringan serta mempertahankan struktur sel agar dapat diamati di bawah mikroskop guna menegakkan diagnosis. Beberapa tahapan preparasi jaringan yaitu sebagai berikut:

a. Fiksasi

Fiksasi merupakan tahapan awal yang sangat penting dalam proses pembuatan sediaan histologi dan menjadi salah satu faktor keberhasilan dalam menghasilkan preparat yang berkualitas. Fiksasi

merupakan proses pengawetan jaringan setelah diambil dari tubuh. Tahapan ini dilakukan dengan cara merendamnya ke dalam larutan fiksatif yang mengandung zat-zat kimia tertentu untuk mencegah terjadinya pembusukan. Proses fiksasi dilakukan untuk melindungi struktur sel agar tidak terjadi autolisis dan degradasi jaringan akibat aktivitas enzimatis (Howat & Wilson, 2014). Fiksasi yang baik adalah fiksasi yang mampu menjaga sel dan komponen jaringan dalam keadaan “*life-like state*” atau menyerupai keadaan aslinya ketika hidup, sehingga menghasilkan preparat yang baik untuk dianalisis oleh patolog (Musyarifah & Agus, 2018).

b. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan tahapan yang bertujuan untuk mengeluarkan sisa cairan yang masih ada di dalam jaringan setelah proses fiksasi, sehingga memungkinkan jaringan tersebut diisi oleh parafin atau bahan lain untuk pembuatan blok. Tahapan ini penting dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan parafin atau bahan pengisi lainnya. Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan ke dalam larutan kimia yang berfungsi sebagai dehidran, seperti alkohol dengan konsentrasi yang ditingkatkan secara bertahap (Pratiwi & Manan, 2015).

c. *Clearing* (Penjernihan)

Tahapan *clearing* (penjernihan) merupakan tahapan penting lainnya dalam proses persiapan sediaan histologi. Proses ini bertujuan

untuk menghilangkan sisa-sisa zat dehidran seperti alkohol dari jaringan. Proses ini mampu menghasilkan jaringan menjadi lebih bersih dan memungkinkan untuk dilakukan penyisipan dengan bahan embedding, seperti parafin.

Sebelum memasuki tahapan infiltrasi, jaringan harus dibersihkan terlebih dahulu dari bahan dehidran. Tahapan penjernihan ini biasanya dilakukan menggunakan xylol yang merupakan agen clearing dalam histoteknologi. Xylol mampu melarutkan alkohol dan memberikan efek transparansi pada jaringan, sehingga mempermudah pengamatan jaringan dibawah mikroskop cahaya (D'azzuri *et al.*, 2023).

d. *Infiltrating* (Infiltrasi)

Tahapan infiltrasi dilakukan setelah jaringan melalui proses fiksasi, dehidrasi, dan clearing. Pada tahap ini, jaringan dimasukkan ke dalam parafin I selama satu jam, kemudian dilanjutkan ke parafin II selama dua jam. Proses ini bertujuan untuk mengeluarkan xylol dari dalam jaringan yang sebelumnya digunakan pada tahapan clearing, sehingga xylol tersebut akan digantikan oleh parafin cair (Nadifah *et al.*, 2022).

e. *Embedding* (Penanaman)

Penanaman (*embedding*) adalah proses penempatan jaringan ke dalam cetakan berisi parafin cair yang kemudian dikeraskan menjadi blok parafin. Proses ini bertujuan untuk mempermudah

penyayatan atau pemotongan jaringan menggunakan mikrotom (Sari *et al.*, 2016). Parafin yang digunakan pada tahap embedding harus memiliki titik leleh yang sama dengan parafin yang digunakan pada tahapan infiltrasi, biasanya berkisar antara 47°C hingga 64 °C. Parafin dapat menembus jaringan dalam keadaan cair dan akan mengeras dengan cepat setelah proses pendinginan (Dewi *et al.*, 2021).

f. *Sectioning* (Pemotongan)

Proses pemotongan blok parafin dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Mikrotom dilengkapi dengan pisau yang dapat memotong blok parafin dengan ketebalan mencapai 2-3 μm . Teknik ini menghasilkan pita jaringan tipis yang selanjutnya di tempelkan pada preparat, sehingga memudahkan pengamatan di bawah mikroskop. Proses pemotongan terdiri dari dua tahap, yaitu pemotongan kasar dan halus. Pemotongan kasar bertujuan untuk membuang kelebihan parafin di sekitar jaringan yang akan dipotong. Sedangkan pemotongan halus bertujuan untuk memotong atau menyayat jaringan dengan ketebalan tertentu yang sesuai untuk analisis struktur jaringan (Khristian & Inderiati, 2017).

g. *Floating* (Pengapungan)

Floating merupakan proses penempatan pita jaringan yang telah dipotong menggunakan mikrotom ke dalam air hangat sebelum ditempelkan pada kaca objek atau preparat. Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan atau mengurangi lipatan pada pita jaringan.

Pada proses ini, air yang digunakan harus berupa air bersih, dengan suhu yang stabil dan tidak terlalu panas. Suhu yang berlebihan dan perendaman yang terlalu lama dapat menimbulkan artefak pada pita jaringan (Khristian & Inderiati, 2017).

Tahapan selanjutnya setelah pita jaringan menempel pada kaca objek adalah pengeringan kaca objek di atas hotplate atau di dalam oven. Suhu yang digunakan pada pengeringan ini perlu disesuaikan dengan titik leleh parafin, untuk mencegah terjadinya perubahan struktur jaringan. Suhu yang direkomendasikan pada tahapan ini adalah 37°C selama satu malam hingga preparat siap untuk dilakukan pewarnaan (Khristian & Inderiati, 2017).

h. *Staining* (Pewarnaan)

Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong dan ditempelkan pada preparat yang berfungsi untuk memudahkan pengamatan struktur jaringan menggunakan mikroskop. Pewarnaan yang paling umum digunakan dalam histoteknologi yaitu *Hematoxylin-Eosin*. Pewarnaan ini efektif digunakan untuk memulas inti sel, sitoplasma, serta jaringan penghubung lainnya (Pratiwi & Manan, 2015). Hematoxylin bersifat basa berfungsi untuk mewarnai inti sel dengan warna biru keunguan, sementara eosin yang bersifat lebih asam akan mewarnai sitoplasma dan matriks ekstraseluler dengan warna merah muda. Penggunaan

kedua warna secara bersamaan memudahkan identifikasi struktur sel dan jaringan (Nadifah *et al.*, 2022).

Proses pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* dilakukan melalui serangkaian tahapan yang sistematis dan terstruktur. Berikut merupakan prosedur pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*:

- 1) Deparafinisasi, yaitu merendam preparat ke dalam larutan xylol I, II, dan III masing-masing selama tiga menit. Kemudian, bagian tepi jaringan dibersihkan menggunakan kasa.
- 2) Rehidrasi, dilakukan dengan merendam preparat ke dalam alkohol dengan konsentrasi menurun dari 100%, 95%, 80%, 70% dan masing-masing direndam selama tiga menit.
- 3) Tahapan berikutnya setelah rehidrasi, yaitu preparat dibilas dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa alkohol yang masih menempel pada jaringan.
- 4) Pewarnaan inti dengan merendam preparat ke dalam larutan Mayer's Hematoxylin selama 15 menit, lalu dibilas menggunakan air mengalir selama tiga menit.
- 5) Selanjutnya preparat direndam dalam larutan alkohol 70% sebanyak tiga kali dan masing-masing direndam selama tiga menit.
- 6) Tahapan terakhir yaitu merendam preparat ke dalam larutan eosin selama lima menit untuk mewarnai sitoplasma jaringan (Ariyadi & Suryono, 2017).

i. *Mounting* (Perekatan)

Mounting atau perekatan merupakan tahapan terakhir dalam pembuatan preparat histologi. *Mounting* dilakukan dengan menempelkan cover glass pada kaca objek atau preparat dengan menggunakan cairan perekat berupa entellan. Tahapan ini bertujuan untuk melindungi jaringan dari kerusakan fisik serta mencegah kontak langsung antara jaringan dengan lensa mikroskop saat pengamatan. Selain itu, cover glass juga berperan dalam menjaga kualitas preparat agar dapat digunakan untuk observasi jangka panjang (Rahmawanti *et al.*, 2021).

j. *Labelling* (Pelabelan)

Pelabelan merupakan tahapan terakhir dalam proses histoteknik. Tujuan dari pelabelan yaitu untuk memudahkan proses identifikasi preparat histologi. Informasi yang tercantum pada label dapat disajikan secara lengkap dalam bentuk kode yang umumnya berasal dari nama atau kode spesimen, serta informasi lainnya yang relevan dan mendukung keakuratan data identifikasi preparat (Sumanto, 2014).

2. Fiksasi

a. Definisi

Fiksasi merupakan proses pengawetan jaringan setelah diambil dari tubuh. Tahapan ini dilakukan dengan cara merendamnya ke dalam larutan fiksatif yang mengandung zat-zat

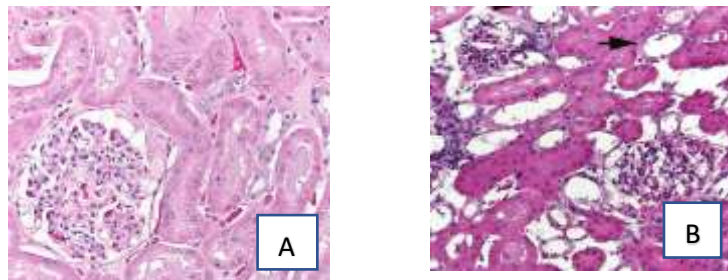
kimia tertentu untuk mencegah terjadinya pembusukan. Proses fiksasi dilakukan untuk melindungi struktur sel agar tidak terjadi autolisis akibat aktivitas enzimatik (Musyarifah & Agus, 2018). Autolisis terjadi karena beberapa faktor seperti penundaan dalam memulai fiksasi, penetrasi fiksatif yang lambat, volume fiksasi yang tidak memadai, serta suhu fiksasi yang terlalu tinggi. Proses fiksasi paling tepat dilakukan segera setelah kematian hewan dan dalam kondisi fisikokimia yang sesuai. Autolisis juga dapat menghambat pemrosesan selanjutnya, khususnya pada proses pembuatan irisan jaringan (Wild *et al.*, 2025).

Secara umum, fiksasi pada spesimen biologi dibedakan menjadi dua jenis, yaitu fiksasi fisik dan kimia. Fiksasi fisik dilakukan dengan menggunakan suhu yang ekstrim, baik sangat rendah seperti *cryo fixation*, maupun sangat tinggi seperti microwave. Sementara itu, fiksasi kimia dilakukan dengan cara merendam jaringan ke dalam larutan fiksatif. Fiksasi kimia ini merupakan metode yang paling umum digunakan untuk pengamatan histomorfologi menggunakan mikroskop (Musyarifah & Agus, 2018).

b. Tujuan fiksasi

Menurut Khristian & Inderiati (2017), fiksasi memiliki beberapa tujuan utama dalam proses pembuatan sediaan histologi, antara lain sebagai berikut:

- 1) Menjaga struktur sel dan komposisi kimianya agar tetap menyerupai kondisi aslinya ketika masih hidup.
- 2) Mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme dan autolisis yang disebabkan oleh aktivitas enzim intraseluler.
- 3) Menghasilkan efek pengerasan yang dapat mempermudah proses *sectioning* (pemotongan) pada jaringan lunak.
- 4) Memadatkan jaringan dengan mengubah konsistensi jaringan dari semi-cair menjadi semi-padat hingga padat.
- 5) Memperkuat intensitas pewarnaan pada sel dan jaringan.



Gambar 1. Preparat jaringan dengan kualitas baik (A) dan kualitas buruk/suboptimal (B) pada pewarnaan HE dengan Perbesaran 100 x Lensa Objektif.

Sumber: Venne *et al.*, 2014

c. Faktor yang mempengaruhi fiksasi

Menurut Musyarifah & Agus, (2018) proses fiksasi pada jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain sebagai berikut:

1) Konsentrasi ion hidrogen (pH)

Larutan fiksatif idealnya memiliki pH netral, yang berkisar antara 6 hingga 8. Ketidakseimbangan pH larutan dapat menyebabkan perubahan integritas sel, dimana larutan fiksatif

yang hipertonic akan menyebabkan penyusutan sel yang berlebih, sedangkan larutan fiksatif yang hipotonik akan mengakibatkan pembengkakan sel.

2) Suhu

Peningkatan suhu dalam proses fiksasi dapat mempercepat reaksi kimia antara unsur fiksatif dengan jaringan. Fiksasi yang dilakukan dengan pemanasan sebaiknya dimulai pada suhu kamar dan secara bertahap ditingkatkan hingga suhu 45°C. suhu tersebut merupakan suhu optimal untuk mempertahankan morfologi sel dan jaringan dengan kualitas yang baik (Khristian & Inderiati, 2017; Musyarifah & Agus, 2018).

3) Ketebalan pemotongan dan kemampuan penetrasi

Efisiensi penetrasi fiksatif ke dalam jaringan dipengaruhi oleh kemampuan difusi dan berat molekul larutan fiksatifnya. Pemotongan jaringan menjadi irisan tipis sekitar 2-3 mm dapat memungkinkan larutan fiksatif menembus jaringan lebih cepat, sehingga dapat mempercepat proses penetrasi (Musyarifah & Agus, 2018).

4) Konsentrasi Larutan

Konsentrasi larutan perlu disesuaikan pada tingkat serendah mungkin untuk meningkatkan efisiensi bahan. Larutan dengan konsentrasi tinggi dapat merusak jaringan serta menimbulkan artefak (Musyarifah & Agus, 2018).

5) Volume Fiksasi

Rasio volume larutan dan jaringan perlu diperhatikan karena berpengaruh terhadap konsentrasi akhir dan kecepatan penetrasi. Rasio optimal volume fiksasi dan jaringan yaitu 20:1. Volume fiksasi yang terlalu sedikit dapat menurunkan konsentrasi larutan, sehingga menghambat penetrasi. Sedangkan volume larutan yang lebih besar dapat menstabilkan dan mempercepat penetrasi (Khristian & Inderiati, 2017; Musyarifah & Agus, 2018).

6) Waktu fiksasi

Waktu fiksasi yang optimal bergantung pada jenis fiksatif yang digunakan. Fiksasi dengan durasi yang terlalu lama dapat menyebabkan pengerasan dan menimbulkan penyusutan pada jaringan (Musyarifah & Agus, 2018).

d. Jenis-jenis Larutan Fiksasi

Pada pemeriksaan histologi terdapat berbagai macam jenis larutan fiksatif yang dapat digunakan untuk memfiksasi jaringan. Masing-masing dari larutan fiksatif memiliki komposisi, mekanisme kerja, dan keunggulan yang berbeda pada proses fiksasi jaringan.

Berikut merupakan tabel jenis-jenis larutan fiksatif.

Tabel 2. Jenis-jenis larutan fiksatif

Larutan Fiksatif	Komposisi	Waktu fiksasi	Rekomendasi penggunaan
NBF 10%	<ul style="list-style-type: none"> • 40% formaldehyde: 100 ml • Distilled water: 900 ml • Sodium dihydrogen phosphate monohydrate: 4 g • Disodium hydrogen phosphate anhydrous 6.5 g pH of 6.8	12-24 Jam	Paling umum digunakan dalam pemeriksaan rutin histopatologi.
Larutan Carnoy	<ul style="list-style-type: none"> • Ethanol absolute: 60 ml • Chloroform: 30 ml • Acetic acid glacial: 10 m 	1-4 Jam	Bereaksi cepat, mempertahankan inti sel, menahan glikogen, melisiskan eritrosit dan lipid.
Larutan Bouin's	<ul style="list-style-type: none"> • Picric acid saturated aqueous solution. (2.1%): • 750 ml • 40% formaldehyde: 250 ml • Acetic acid glacial: 50 m 	4-8 Jam	Memberikan hasil yang sangat baik untuk pewarnaan trichrome. Mempertahankan glikogen tapi biasanya melisis eritrosit, cocok untuk biopsi saluran gastrointestinal, embrio hewan dan kelenjar endokrin
Methacam	<ul style="list-style-type: none"> • Methanol absolute: 60 ml • Chloroform: 30 ml • Acetic acid glacial: 10 m 	1-4 Jam	Sifat yang mirip dengan Carnoy tetapi kurang menyebabkan pengerasan dan penyusutan jaringan
Larutan Zenker's	<ul style="list-style-type: none"> • Distilled water: 950 ml • Mercuric chloride: 50 g • Potassium dichromate: 25 g • Glacial acetic acid: 50 ml 	4-24 Jam	Baik dalam pengawetan inti sel tapi melisis sel darah merah karena adanya acetic acid. Direkomendasikan untuk spesimen padat dan memberikan hasil yang baik dengan pewarnaan Ptah dan trichrome

Sumber: Musyarifah & Agus, 2018

Tabel jenis-jenis larutan fiksatif tersebut menunjukkan bahwa setiap fiksatif memiliki komposisi zat kimia dan mekanisme kerja yang berbeda. Variasi komposisi ini berpengaruh terhadap kemampuan preservasi dan kualitas jaringan yang dihasilkan. Perbedaan jenis larutan fiksatif juga menyebabkan perbedaan waktu yang diperlukan untuk melakukan pengawetan jaringan. Pada penelitian ini, *Neutral Buffered Formaline* (NBF) 10% dipilih sebagai fiksatif standar, sedangkan larutan Carnoy digunakan sebagai fiksatif alternatif.

1. *Neutral Buffered Formaline* (NBF) 10%

Larutan fiksatif yang paling umum digunakan untuk memfiksasi jaringan adalah *Neutral Buffered Formaline* (NBF) 10%. Larutan ini diperoleh melalui pengenceran 100 ml formaldehida 37-40% dengan 900 ml larutan buffer, sehingga menghasilkan formalin 10% yang mengandung formaldehida 4% dan merupakan konsentrasi optimal untuk menjaga morfologi jaringan selama fiksasi. Fiksatif ini umum digunakan karena memiliki pH netral dan memiliki tekanan osmotik yang sama dengan cairan ekstraseluler. NBF 10% bekerja melalui mekanisme *cross-linking* yang melibatkan reaksi antara molekul fiksatif dan komponen sel. Formalin bereaksi dengan gugus amino pada protein membentuk senyawa metilol-protein, senyawa tersebut mengalami kondensasi berlanjut sehingga terbentuk jembatan metilen (-CH₂-) antar gugus amino yang menghasilkan ikatan silang (*cross-linking*) sehingga membuat jaringan menjadi lebih stabil (Koji, 2025).

Pada pembuatan formalin 10% dilakukan penambahan garam penyangga (buffer) untuk memastikan larutan formalin memiliki pH yang netral (Musyarifah & Agus, 2018). Buffer dalam NBF 10% berfungsi untuk menjaga stabilitas pH dengan mencegah perubahan keasaman yang dapat merusak struktur jaringan, mengoptimalkan reaksi fiksasi, serta mempertahankan morfologi sel. Tanpa penambahan buffer, larutan formalin akan berubah menjadi asam format seiring berjalanya waktu, sehingga dapat merusak struktur sel dan mengganggu analisis histologi (Simos *et al.*, 2011). Keunggulan formalin sebagai bahan fiksatif yaitu memiliki nilai pH yang mendekati normal serta mampu mempertahankan sediaan jaringan dalam kurun waktu yang lama. Pada jaringan berukuran kecil sekitar 10 x 10 x 3 mm ketika difiksasi selama 12-24 jam menunjukkan kondisi sitoplasma dan inti yang baik. Meskipun demikian, penggunaan formalin sebagai larutan fiksatif juga memiliki keterbatasan, antara lain membutuhkan waktu 2-6 minggu untuk jaringan yang lunak (Khristian & Inderiati, 2017).

2. Larutan Carnoy

Larutan Carnoy merupakan jenis larutan fiksatif yang terdiri dari campuran ethanol absolut, kloroform, dan asam asetat dengan perbandingan volume 6:3:1. Mekanisme kerja larutan ini didasarkan pada metode denaturasi, yang disebabkan oleh dehidran seperti alkohol. Larutan Carnoy berfungsi dengan mengubah komposisi jaringan serta menstabilkannya melalui penghilangan ikatan hidrogen pada gugus tertentu dalam molekul protein. Proses ini menyebabkan perubahan pada struktur tersier protein

dengan cara mendestabilisasi ikatan hidrofobik di dalamnya. Hal ini menyebabkan protein yang larut di dalam air menjadi tidak larut, serta menyebabkan pengendapan protein sehingga struktur sel tetap terjaga (Musyarifah & Agus, 2018). Penambahan kloroform dan asam asetat pada fiksatif Carnoy dapat menangkal efek penyusutan akibat ethanol serta menghasilkan fiksasi jaringan melalui ikatan hidrogen dari konstituen ke jaringan (Howat & Wilson, 2014). Kombinasi ini menghasilkan preservasi histomorfologi yang baik khususnya pada struktur epitel, vili, sel asinus, dan inti sel.

Larutan Carnoy tersusun atas beberapa komponen kimia yaitu:

a. Ethanol

Ethanol sebagai bahan fiksatif memiliki kemampuan dalam mempresipitasi protein dan glikogen. Kelebihan ethanol sebagai bahan fiksatif yaitu memiliki daya penetrasi yang cepat dan mudah diperoleh. Namun demikian, penggunaan ethanol yang terlalu lama sebagai bahan fiksasi dapat menyebabkan kerusakan pada inti dan sitoplasma. Oleh karena itu, fiksasi berbasis alkohol ini memungkinkan proses pengawetan jaringan yang lebih cepat dan optimal (Djaelani *et al.*, 2025).

c. Asam Asetat

Asam asetat yang merupakan cairan tidak berwarna dalam bentuk pekat tidak dapat diencerkan dikenal sebagai asam asetat glasial. Asam asetat memiliki kemampuan dalam menyebabkan pembengkakan

jaringan melalui absorpsi air. Oleh karena itu asam asetat sebagai komponen dalam larutan fiksatif campuran berfungsi untuk mengurangi penyusutan jaringan yang disebabkan oleh komponen lain seperti ethanol (Musyarifah & Agus, 2018). Kombinasi asam asetat dan ethanol dalam larutan Carnoy menghasilkan fiksatif sitologis yang efektif dalam mempertahankan asam nukleat. Asam asetat dapat menjaga inti sel dengan baik melalui mekanisme presipitasi nukleoprotein dan asam nukleat, sehingga dapat meningkatkan pewarnaan inti sel pada pewarnaan histologis (Ajileye & Esan, 2022). Asam asetat juga berfungsi untuk melisiskan sel darah merah yang berpotensi mengganggu pengamatan mikroskopis jaringan (Khristian & Inderiati, 2017).

d. Kloroform

Kloroform berfungsi sebagai komponen fiksatif campuran memiliki peran dalam melawan efek penyusutan sel oleh ethanol. Selain itu campuran asam asetat dan kloroform juga dapat melarutkan lipid sehingga memungkinkan penetrasi jaringan yang lebih cepat (Pacheco *et al.*, 2019). Larutan fiksatif Carnoy memiliki kemampuan kerja yang cepat dalam proses penetrasi jaringan, dan dapat digunakan untuk spesimen yang memerlukan pemrosesan segera menggunakan parafin (Ahmed *et al.*, 2010).

Uji coba preparasi jaringan menggunakan larutan fiksatif Carnoy dan NBF 10% pada penelitian ini memanfaatkan penggunaan hewan coba sebagai

subjek penelitian. Dalam konteks penelitian, hewan coba sering disebut sebagai *semifinal test tube* karena mampu mempresentasikan respon fisiologis yang menyerupai organ manusia. Beberapa jenis hewan coba yang umum digunakan dalam penelitian meliputi, tikus, kelinci, dan primata (Intan & Khariri, 2020). Jenis hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus yang berasal dari genus *rattus* khususnya spesies *Rattus norvegicus*. Salah satu strain dari spesies tersebut adalah tikus wistar (Prastyo Wati, 2024).

Pemilihan metode dan larutan fiksatif yang tepat merupakan salah satu langkah paling krusial dalam pemeriksaan histologi, karena jenis larutan fiksatif yang dipakai akan sangat berpengaruh terhadap kualitas pelestarian jaringan usus halus dan pankreas yang akan digunakan dalam penelitian ini.



Gambar 2. Histologi Usus Halus (A) dan Histologi Pankreas (B) Perbesaran Mikroskop 400x Lensa Objektif
Sumber: Sorenson & Brelje, 2014

Kedua jenis jaringan tersebut termasuk ke dalam jaringan lunak. Namun keduanya memiliki karakteristik struktural yang berbeda. Usus halus tersusun atas jaringan ikat longgar berupa lamina propia sehingga terbentuk ruang antar sel yang lebih luas. Sedangkan, pankreas memiliki karakteristik struktur sel yang lebih padat, karena tersusun atas kelenjar eksokrin dan endokrin. Pada bagian eksokrin terdapat *asinus serosa* yang tersusun lebih rapat, sehingga hanya memiliki sedikit ruang antar sel (Biology Insights, 2025).

3. Histologi Usus Halus



Gambar 3. Histologi Usus Halus Tikus Wistar dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* pada Perbesaran 100x Lensa Objektif
Sumber: Wijyanthi *et al.*, 2017

Usus halus tersusun dari empat lapisan utama, yaitu mukosa, submukosa, *muscularis externa* dan serosa. Lapisan mukosa merupakan lapisan terdalam yang terdiri dari epitel, lamina propina, dan muskularis mukosa. Lapisan submukosa merupakan lapisan jaringan ikat yang mengandung pembuluh darah serta sistem limfatik. Bagian mukosa dan submukosa ini membentuk banyak lipatan (*plicae*) yang tersusun melingkar di dalam lumen. Permukaan *plicae* ini dilapisi oleh mikrovili yang berfungsi untuk memperluas area permukaan dan meningkatkan penyerapan (Turiccki, 2025). *Plicae*, vili, dan mikrovili banyak terdapat di permukaan setiap sel epitel dan tersusun oleh *brush border* yang berfungsi untuk sekresi enzim, penyerapan, dan ashed sel (Delbaere *et al.*, 2023). Sementara itu, pada bagian *muscularis externa* berisi dua lapisan otot polos. Lapisan terluar dari usus halus adalah serosa, pada lapisan ini fibroblas dan kolagen tersusun secara longgar yang dilewati oleh pembuluh darah dan saraf (Turiccki, 2025).

4. Histologi Pankreas



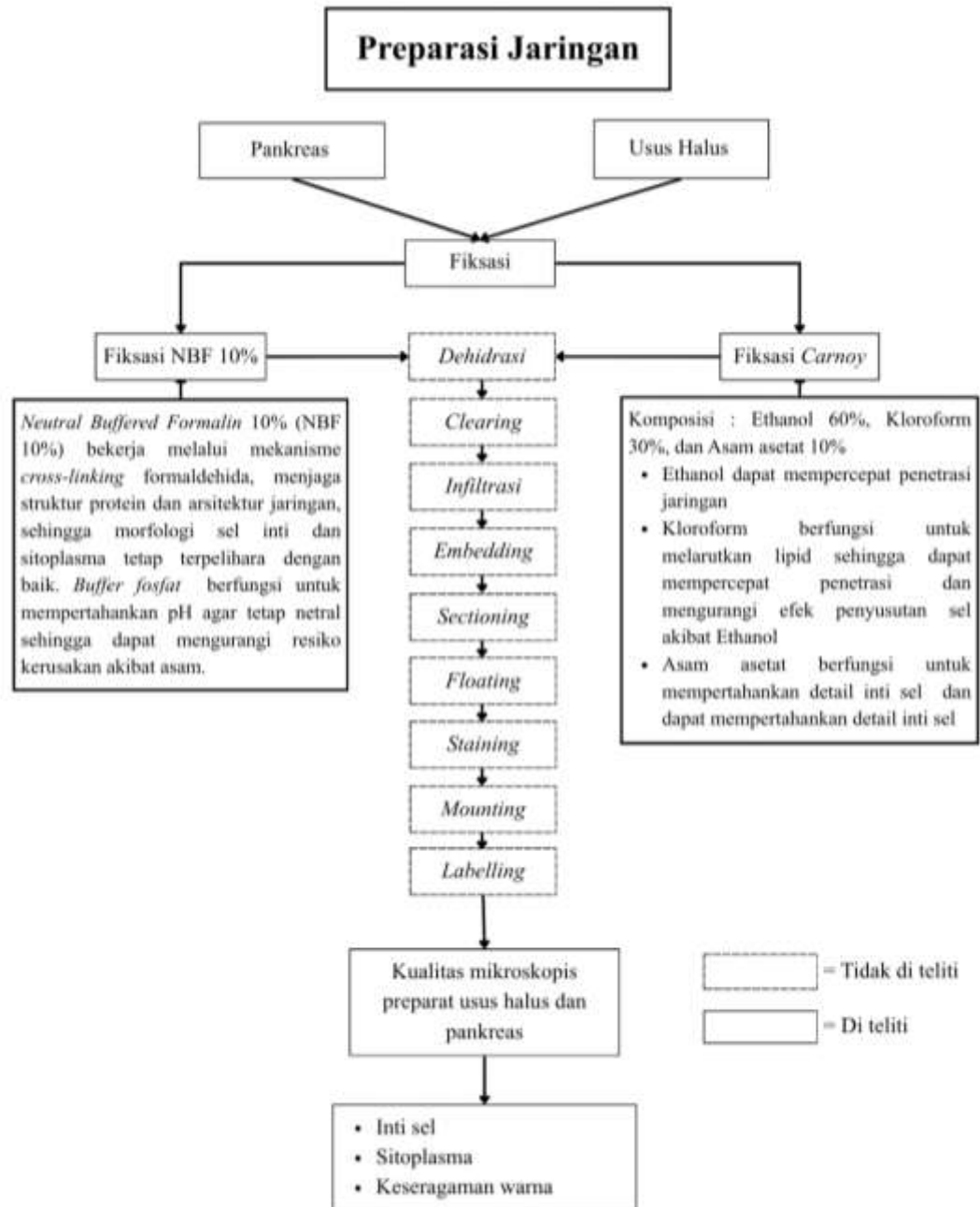
Gambar 4. Histologi Jaringan Pankreas Tikus Wistar Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* pada Perbesaran 100 x Lensa Objektif
Sumber: Endrinaldi *et al.*, 2024

Kelenjar pankreas terdiri dari campuran komponen eksokrin dan endokrin. Sebagian besar pankreas dibentuk oleh kelenjar eksokrin yang terdiri dari sel asinus serosa dan sel zimogenik yang tersusun rapat dan membentuk lobus (Eroschenko, 2008). Pankreas memiliki struktur multilobular yang kompak dan terdiri dari eksokrin dan endokrin yang diselubungi oleh kapsul fibrosa yang relatif tebal (Villaca & Mastracci, 2024). Pada komponen eksokrin, unit asinus pankreas memiliki dinding piramidal yang terletak di atas membran basal retikuler dan mengandung granula zymogen sekretori. Pada membran basal, terdapat jaringan tubular padat berbentuk saluran (Alkhatib, 2024).

Komponen endokrin pankreas memiliki ukuran relatif kecil dari pada kelenjar eksokrin, yaitu 2% dari volume total. Bagian dari kelenjar endokrin ini dapat disebut juga pulau langerhans atau insula pancreatica (Peckham, 2014). Pulau langerhans merupakan massa sefris padat jaringan endokrin yang terletak di dalam jaringan eksokrin pankreas. Pulau langerhans tersusun banyak sel dan memiliki diameter mencapai 100-200

μm . Secara histologis, pulau langerhans terdiri dari empat jenis sel berbentuk bulan atau poligonal yang tersusun berderet dan dipisahkan jaringan kapiler, yaitu sel alfa, beta, delta dan sel polipeptida (PP). Ketika dilakukan pewarnaan dengan *Hematoxylin-Eosin*, pulau langerhans tampak lebih pucat dibandingkan sel asinus yang mengelilinginya, karena sel tersebut memiliki sedikit retikulum endoplasma kasar (Peckham, 2014).

B. Kerangka Teori



C. Pertanyaan Penelitian

Apakah larutan Carnoy sebagai agen fiksasi memberikan hasil kualitas histomorfologi jaringan usus halus dan pankreas yang sama baiknya dengan NBF 10% ?.