

BAB I

PENDAHULUAN

A Latar Belakang

Pemeriksaan hisopatologi merupakan standar pemeriksaan yang dilakukan dalam laboratorium patologi anatomi untuk mengetahui suatu jaringan dalam kondisi normal atau abnormal (Musyarifah & Agus., 2018). Proses memperoleh jaringan hingga menjadi sebuah preparat histologi harus melalui rangkaian preparasi jaringan, yang juga dikenal dengan istilah histoteknik. Histoteknik yaitu proses pengolahan jaringan mencakup nekropsi, fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, *sectioning*, *floating*, dan pewarnaan jaringan (Digambiro & Purwanto., 2024).

Keberhasilan histoteknik dapat menentukan kualitas preparat akhir, karena struktur komponen dan jaringan harus tetap meyerupai kondisi pada saat masih hidup. Preparat yang telah diproses dengan baik memungkinkan dapat memberikan gambaran mengenai bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan segmen struktural lainnya. Dengan begitu melalui tahapan ini akan membantu proses analisis jaringan (Ariyadi & Suryono., 2017).

Proses fiksasi merupakan bagian dari tahapan histoteknik yang paling penting dan krusial. Secara teknis, fiksasi berperan mempertahankan kondisi jaringan agar tidak mengalami perubahan atau kerusakan setelah terlepas dari tubuh. Proses ini perlu dilakukan secepat mungkin begitu jaringan kehilangan suplai darah. Tanpa fiksasi, jaringan akan mengalami

degenerasi, yaitu kematian dan kerusakan sel akibat terhentinya aktivitas metabolik. Oleh karena itu, fiksasi berperan penting dalam menjaga struktur jaringan agar tetap stabil dan tidak rusak selama proses infiltrasi parafin pada suhu tinggi (Khristian & Inderiati., 2017).

Seiring dengan berkembangnya ilmu histologi, para peneliti dan ilmuwan semakin terdorong untuk mempelajari struktur dan fungsional jaringan secara terperinci melalui pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan preparat histologi diperlukan stabilisasi jaringan agar sel dan struktur penyusunnya tetap stabil dan tidak rusak setelah melalui proses pengambilan jaringan. Proses inilah yang melatarbelakangi munculnya berbagai jenis fiksatif pada sepanjang abad terakhir. Proses fiksasi dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan spesifik seperti mempertahankan morfologi, mempertahankan aktivitas enzim, ataupun untuk melakukan pemeriksaan imunohistokimia. Dengan adanya larutan fiksasi yang beragam, penelitian histologi dapat lebih akurat dan informatif (Dağdeviren et al., 2024).

Pembuatan preparat histologis, dapat digunakan fiksatif tunggal atau majemuk. *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% merupakan fiksatif tunggal yang paling umum digunakan dalam laboratorium histopatologi. NBF 10% ini larutan fiksasi standar yang memiliki sifat netral dan stabil, sehingga dapat membantu mengurangi pigmentasi dari formalin (Musyarifah & Agus, 2018). Namun, larutan NBF 10% memiliki

kekurangan yaitu, membutuhkan waktu fiksasi yang lama, kurang lebih selama 12-24 jam untuk sepenuhnya terikat pada jaringan (Alwi., 2016).

Larutan fiksatif methacarn adalah salah satu jenis fiksasi berbasis alkohol. Larutan ini merupakan modifikasi dari larutan fiksatif Carnoy dengan menggantikan etanol menjadi methanol (Musyarifah & Agus, 2018). Fiksatif ini memiliki keunggulan dalam mempertahankan integritas asam nukleat dan protein, pengerasan hingga penyusutan jaringan lebih minimal dibandingkan fiksatif Carnoy, serta memiliki waktu fiksasi yang singkat sekita 1-4 jam (Jalali et al., 2023). Selain itu, methacarn bekerja dengan cara mengendapkan protein dan menginaktivasi enzim tanpa merusak asam nukleat, sehingga dapat menjadi salah satu alternatif yang lebih efisien dibandingkan NBF 10% (Dotti et al., 2010). Larutan ini bekerja dengan menggantikan ikatan air pada jaringan dengan menghambat ikatan hidropobik dan hidrogen. Kemudian, bagian hidropobik dalam protein terekspos dan mengganggu struktur tersier dan solubilitasnya di air (Musyarifah & Agus, 2018).

Pemilihan hewan coba dalam suatu penelitian histologi sangat penting untuk memperoleh data yang konsisten dan akurat. Tikus albino Wistar menjadi salah satu hewan coba yang paling sering digunakan karena memiliki sifat yang jinak dan mudah beradaptasi terhadap lingkungan penelitian. Selain itu, secara genetik dan fisiologinya tikus Wistar cukup mirip dengan manusia (Krubaa & Yogitha, 2024).

Pankreas dan usus halus dipilih sebagai objek penelitian karena keduanya mewakili jaringan dengan struktur penyusun yang kompleks. Usus halus merupakan jaringan yang memiliki dinding relatif lebih longgar dan mengandung banyak jaringan ikat tipis pada lamina propria (Loukopoulou, 2024). Sedangkan dalam jaringan pankreas memiliki stroma yang lebih padat dengan pembuluh darah dan serabut kolagennya yang tampak jelas. Perbedaan struktur penyusun jaringan inilah yang akan menguji kemampuan larutan fiksatif untuk menembus jaringan yang tipis maupun padat secara seimbang (Orós, 2022).

Bedasarkan penelitian terdahulu, fiksatif NBF 10% menunjukkan efektivitas yang hampir sama dengan fiksatif berbasis alkohol. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Haque et al., 2020) juga menunjukkan bahwa larutan fiksatif dalam perbandingan yang digunakan, fiksasi methacarn lebih unggul dalam mempertahankan histomorfologi jaringan otak, limpa, dan hati. Hal tersebut menjadi dasar dilakukannya penelitian ini untuk menilai kelayakan larutan fiksasi methacarn sebagai alternatif pengganti NBF 10% dalam fiksasi jaringan pankreas dan usus halus .

B Rumusan Masalah

Apakah larutan fiksatif methacarn sebagai agen fiksasi mampu memberikan kualitas histomorfologi yang baik pada jaringan pankreas dan usus halus tikus Wistar?

C Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui kualitas histomorfologi pada jaringan pankreas dan usus halus tikus Wistar yang difiksasi menggunakan larutan fiksatif methacarn.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kualitas histomorfologi jaringan pankreas tikus Wistar yang difiksasi menggunakan methacarn berdasarkan kejelasan inti sel dan sitoplasma, dan keseragaman warna.
- b. Mengetahui kualitas histomorfologi jaringan usus halus tikus Wistar yang difiksasi menggunakan methacarn berdasarkan kejelasan inti sel dan sitoplasma, dan keseragaman warna.

D Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup dari penelitian ini mencakup bidang ilmu Teknologi Laboratorium Medis (TLM), sub bidang Histoteknologi.

E Manfaat Penelitian

1. Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah kepustakaan dan informasi ilmiah mengenai penggunaan larutan fiksatif methacarn dalam proses histoteknik, khususnya terkait kualitas histomorfologi jaringan. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai pengaruh penggunaan methacarn terhadap kualitas preparat

histologi berdasarkan kejelasan inti sel, sitoplasma, dan keseragaman pewarnaan Hematoxylin Eosin.

2. Praktis

a. Manfaat bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi ilmiah bagi peneliti dalam bidang histologi, khususnya terkait penggunaan larutan fiksasi Methacarn dan *Neutral Buffered Formalin* (NBF 10%). Hasil penelitian yang diperoleh dapat digunakan sebagai referensi dalam pemilihan metode fiksasi yang sesuai untuk mempertahankan kualitas histomorfologi jaringan. Selain itu, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar bagi pengembangan dan penelitian lanjutan dalam bidang histoteknologi.

b. Manfaat bagi Tenaga Laboratorium Medis

Bagi tenaga laboratorium, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi praktis mengenai penerapan metode fiksasi jaringan yang optimal untuk pemeriksaan histomorfologi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu tenaga laboratorium dalam meningkatkan keterampilan teknis selama proses preparasi jaringan, mulai dari fiksasi hingga evaluasi mikroskopis. Dengan adanya acuan ilmiah ini, kualitas preparat histologi dan konsistensi hasil pemeriksaan di laboratorium dapat ditingkatkan sesuai dengan standar operasional prosedur yang berlaku.

F Keaslian Penelitian

Judul Penelitian	Penulis	Persamaan	Perbedaan
Alcohol based fixative provide excellent tissue morphology, protein immunoreactivity and RNA integrity in paraffin embedded tissue spesimens	Milcheva et al., 2012	Penelitian sebelumnya menggunakan fiksatif NBF 10% sebagai standar dan perbandingan hasil fiksasi larutan methacarn terhadap morfologi jaringan.	Penelitian sebelumnya dilakukan fiksasi selama 48 jam dan dilakukan pemeriksaan immunohistokimia, sedangkan penelitian ini akan dilakukan fiksasi selama 4 jam dengan pemeriksaan histomorfologi.
Methacarn as a whole brain fixative for gene and protein expression analyses of specific brain regions in rats.	Akane et al., 2013	Penelitian sebelumnya menggunakan hewan coba tikus diproses dengan fiksasi larutan methacarn sebagai bahan fiksasi jaringan.	Penelitian sebelumnya menggunakan organ otak sebagai sampel dan dilakukan fiksasi selama 5 jam dalam suhu 4°C kemudian dilakukan pemeriksaan analisis ekspresi gen. Sedangkan penelitian ini akan dilakukan fiksasi selama 4 jam dalam suhu ruang dan dilakukan pemeriksaan histomorfologi.
Alcohol based fixative can better preserve tissue morphology than formalin	Haqee et al., 2020	Penelitian sebelumnya menggunakan fiksatif NBF 10% sebagai perbandingan larutan methacarn dengan proses fiksasi dalam suhu ruang dan dilakukan pemeriksaan histomorfologi jaringan.	Penelitian sebelumnya menggunakan sampel hati, limpa, dan otak kambing bengal kemudian durasi fiksasinya selama 24 jam. Sedangkan penelitian ini sampel yang digunakan adalah pankreas dan usus halus tikus Wistar yang akan di fiksasi selama 4 jam.
The effect of aldehyde fixatives, alcohol based fixatives, and fixatives combining denaturation and crosslinking on histomorphological, histochemical, and molecular genetic studies during short term and long term fixation: comprehensive analysis	Macháčová et al., 2024	Penelitian sebelumnya sama-sama menggunakan fiksatif methacarn untuk fiksasi jaringan sebagai perbandingan larutan NBF 10% dan dilakukan pemeriksaan histomorfologinya.	Penelitian sebelumnya menggunakan sampel rahim pada hewan babi dengan durasi fiksasi 1 minggu, 2 minggu, 1 bulan, 2 bulan, 6 bulan, 8 bulan, 10 bulan, 12 bulan. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan sampel pankreas dan usus halus tikus Wistar dengan durasi fiksasi selama 4 jam.