

**PERBANDINGAN LARUTAN FIKSASI *NETRAL BUFFER FORMALIN* 10%
DENGAN BOUIN TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS HEPAR DAN
SEREBRUM AYAM DENGAN PERWARNAAN
HEMATOXYLIN- EOSIN (HE)**

SKRIPSI

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Gelar Sarjana
Terapan Kesehatan



Oleh:
Robestri Natalia Sitanggang
13200963N

**PROGRAM STUDI ALIH JENJANG D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi :

**PERBANDINGAN LARUTAN FIKSASI *NETRAL BUFFER FORMALIN 10%*
DENGAN BOUIN TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS HEPAR DAN
SEREBRUM AYAM DENGAN PERWARNAAN
HEMATOXYLIN- EOSIN (HE)**

**Oleh :
Robestri Natalia Sitanggang
13200963N**

Surakarta, Agustus 2021

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Skripsi

Pembimbing Utama



dr. Rusnita, Sp.PA
NIS. 197803122006042007

Pembimbing Pendamping



dr. Ratna Herawati, M.Biomed
NIS. 01200504012108



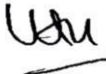

HALAMAN PENGESAHAN

**PERBANDINGAN LARUTAN FIKSASI *NETRAL BUFFER FORMALIN 10%*
DENGAN BOUIN TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS HEPAR DAN
SEREBRUM AYAM DENGAN PERWARNAAN
HEMATOXYLIN- EOSIN (HE)**

Oleh :

**Robestri Natalia
Sitanggang
13200963N**

Menyetujui,

		Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I	Prof. dr. Mersetyawan HNE.Soesatyo, M. Sc. Ph		30/08/21
Penguji II	Suwarto, M.Kes		27/08/21
Penguji III	dr. Ratna Herawati, M.Biomed		28/8/21
Penguji IV	dr. Rusnita, Sp.PA		27/8/21

Mengetahui

Dekan Fakultas Kesehatan
Universitas Setia Budi



Prof. dr. Mersetyawan HNE
Soesatyo, M. Sc. Ph
NIDK: 8893090018

Ketua Program Studi D4
Analis Kesehatan



Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si. M. Si
NIS.01201304161170

HALAMAN PERSEMBAHAN

MOTTO

- ❖ Karena masa depanmu sungguh ada dan harapanmu tidak akan hilang (Amsal 23:18)
- ❖ Terimakasih untuk diri sendiri, kamu hebat dan sangat hebat! I LOVE ME!<3

PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas terselesaikannya skripsi saya yang berjudul Perbandingan Larutan Fiksasi *Netral Buffer Formalin* 10% dengan Bouin Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar dan Serebrum Ayam Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Penulis menyadari bahwa selesainya skripsi ini tidak lepas dari orang-orang sekitar yang telah membantu dan memotivasi agar dapat menyelesaikan skripsi ini.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada :

- ❖ **My Blessed Lord and Savior, Jesus Christ**, Thank you Jesus for your love and blessings. Terimakasih untuk pertolonganMu yang tak hentinya di dalam hidupku, yang selalu memberikan kekuatan, hiburan, dan sukacita disetiap hariku hingga sampai detik ini.

- ❖ **Keluarga Tercinta Bapak dan Alm. Mama, Kakak, Itok, dan Adikku**, Terima kasih yang tak terhingga atas apa yang telah kalian berikan kepada anak-anakmu. Tidak mengenal kata lelah, pamrih, dan bahkan tidak pernah mengeluh. Terimakasih untuk doa dan motivasi yang selalu mengiringi disetiap langkah anak-anakmu. Semoga aku bisa membalas semua kerja keras dan bisa membahagiakan dan membanggakan suatu saat nanti. Kepada kak dokter Jelita Sitanggang, Itok Cristofer Sitanggang, adik Rotama Sitanggang dan adik kecilku Roulina Sitanggang terimakasih selalu menjadi pendengar yang baik, nasehat, arahan, motivasi, dan dukungan yang kalian berikan. Semoga semuanya lancar untuk setiap urusannya baik jodoh yang baik dari Tuhan, pekerjaan, sekolah dan cita-cita yang ingin dicapai.

- ❖ **Kost Bougenville**, Terimakasih kuucapkan kepada kalian semua Sherly, Bunga, Vivin, Sola, Ayu, Nai, Serlin, Titin, Astrid, dan Nindy orang-orang baik yang selalu menemani keseharianku, menemani disetiap proses pengerjaan skripsi ini.

- ❖ **Partner Penelitian dan Hangout**, Terimakasih banyak kepada Filip, Simon, Suzila yang menemani dan menjadi partner yang baik selama penelitian, dan proses pengerjaan skripsi ini, terimakasih atas waktu refreshingnya, semoga ada kesempatan dilain waktu untuk liburan bareng yah.


- ❖ **Dan Terimakasih banyak untuk segenap teman-teman D4 Alih Jenjang Ankes Setia Budi**, walaupun satu tahun hanya bertemu secara daring yakinla suatu saat kita bisa bertemu dalam suasana normal tanpa pandemic amin.

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya menyatakan bahwa Skripsi ini yang berjudul Perbandingan Larutan Fiksasi *Netral Buffer Formalin* 10% dengan Bouin Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar dan Serebrum Ayam Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila Skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian / karya ilmiah / Skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 1 Agustus 2021


Robestri Natalka Sitanggang
13200963N

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Tuhan Yesus, karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul " Perbandingan Larutan Fiksasi *Netral Buffer Formalin* 10% dengan Bouin Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar dan Serebrum Ayam Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)"

Penyusunan Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya Skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. dr. Marsetyawan HNES.,M.Sc, Ph.D selaku dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi
2. Ibu dr Rusnita, Sp.PA pembimbing pertama yang telah membimbing dan banyak memberikan arahan, nasehat dan motivasi dalam penyusunan proposal skripsi ini.
3. Ibu dr Ratna Herawati, M.Biomed selaku pembimbing kedua yang istimewa telah membimbing saya dan banyak memberi arahan, masukan serta motivasi dalam penyusun Skripsi ini.
4. Bapak Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si, M.Si selaku ketua program studi DIV Analis Kesehatan

5. Orangtua dan keluarga yang selalu mendoakan, membantu, memberikan dukungan, dan yang selalu mengingatkan untuk menjaga kesehatan serta untuk selalu menjaga diri.
6. Para sahabat yang yang selalu memberi semangat, masukan dan selalu mendukungku.
7. Serta kepada teman-teman seangkatan DIV Alih Jenjang Analis Kesehatan yang selalu saling memberi dorongan dan semangat untuk menyelesaikan Skripsi ini penulis menyadari masih banyak ketidak sempurnaan dan kekurangan dalam penulisan Skripsi ini. Penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun agar dapat membantu perbaikan selanjutnya.

Surakarta, 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
1. Bagi Peneliti.....	4
2. Bagi Institusi.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tinjauan Pustaka.....	6
1. Definisi Jaringan Histopatologi	6
2. Histoteknik.....	6
3. Fiksasi.....	7
4. Pewarnaan <i>Hematoxylin-Eosin</i> (HE).....	15
B. Landasan Teori	23
C. Kerangka Teori	24
D. Hipotesis	24
BAB III METODE PENELITIAN	24
A. Rancangan Penelitian.....	24
B. Waktu dan Tempat Penelitian	24

C. Populasi dan Sampel.....	24
D. Variabel Penelitian	24
E. Definisi Operasional	25
F. Alat dan Bahan	25
G. Prosedur Penelitian.....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
A. Hasil Penelitian	31
B. Pembahasan.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
A. Kesimpulan	40
B. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
DAFTAR LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Kriteria Penilaian Kualitas Sediaan Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE).....	19
Tabel 2 Jadwal Penelitian.....	29
Tabel 3 Hasil pengamatan mikroskopis jaringan yang difiksasi NBF 10% dan Bouin pada pewarnaan HE.....	32
Tabel 4 Hasil pengamatan mikroskopis jaringan yang difiksasi NBF 10% dan Bouin pada pewarnaan HE.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin Yang Baik dan Kurang Baik.....	20
Gambar 2. Kerangka Teori.....	24
Gambar 3. Alur Penelitian.....	30
Gambar 4. Gambaran Hasil Mikroskopis hepar yang difiksasi dengan NBF 10% pada pewarnaan HE.....	32
Gambar 5. Gambaran Hasil Mikroskopis Jaringan Hepar yang difiksasi dengan Bouin pada pewarnaan HE	33
Gambar 6. Hasil Mikroskopis Jaringan Otak Yang Difiksasi Dengan NBF 10% Pada Pewarnaan HE.....	34
Gambar 7. Gambaran Hasil Mikroskopis Jaringan Otak Yang Difiksasi Dengan Bouin.....	35

DAFTAR SINGKATAN

C	<i>Celsius</i>
Gugus O-H	Gugus Hidroksil
HE	<i>Hematoxylin Eosin</i>
mOsm	Miliosmol
mm	mili meter
M	Molaritas
NBF	<i>Netral Buffered Formalin</i>
nm	nanometer
pH	<i>Power of Hydrogen</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pengambilan Sampel.....	44
Lampiran 2 Processing Jaringan	45
Lampiran 3 Surat Izin Peneliitan.....	48

INTISARI

Sitanggang, RN. 2021. Perbandingan Larutan Fiksasi Neutral Buffer Formalin 10% Dengan Bouin Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar dan Serebrum Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Program Studi D4 Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Proses fiksasi merupakan tahap penting dalam pembuatan sediaan histopatologi. Fiksasi merupakan tahap penting untuk mencegah autolisis dan degradasi jaringan serta komponen jaringan, sehingga hasilnya nanti dapat diamati baik secara anatomis dan mikroskopis. Cairan Fiksasi yang sering digunakan dalam pemeriksaan histopatologi rutin yaitu *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% dan Bouin. Kedua larutan ini memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing dalam penggunaannya. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui hasil perbandingan larutan fiksasi Neutral Buffer Formalin 10% dengan Bouin terhadap gambaran mikroskopis hepar dan serebrum dengan pewarnaan hematoxylin eosin (HE).

Penelitian ini menggunakan pendekatan cross sectional dengan desain deskriptif kualitatif. Pengambilan sampel dilakukan pada hewan coba ayam. Sampel yang digunakan yaitu hepar dan serebrum yang difiksasi dengan NBF 10% dan Bouin selama 12 jam, diwarnai dengan Hematoxylin Eosin dan diamati secara mikroskopis. Kemudian, memberi penilaian dengan kategori baik, kurang baik, atau tidak baik berdasarkan indikator penilaian berdasarkan warna dan bentuk sel.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan gambaran mikroskopis pada jaringan hepar dan serebrum sebanyak 6 preparat yang difiksasi dengan cairan NBF 10% menunjukkan hasil yang baik. Sedangkan jaringan hepar dan serebrum yang difiksasi dengan cairan bouin sebanyak 6 preparat menunjukkan hasil yang kurang baik.

Kata Kunci : NBF 10%, Bouin, Mikroskopis Hepar, Serebrum, HE

ABSTRACT

Sitanggang, RN. 2021. *Comparison of 10% Formalin Neutral Buffer Fixation Solution with Bouin Against Microscopic Images of the Liver and Cerebrum With Hematoxylin Eosin (HE) Staining.* Bachelor's degree Program in Medical Laboratory Technology, Health Sciences Faculty, Setia Budi University.

The fixation process is an important step in the manufacture of histopathological preparations. Fixation is an important step to prevent autolysis and degradation of tissue and tissue components, so that the results can be observed both anatomically and microscopically. Fixation fluids that are often used in routine histopathological examinations are Neutral Buffer Formalin (NBF) 10% and Bouin. Both of these solutions have their respective advantages and disadvantages in their use. The purpose of this study was to determine the results of the comparison of 10% Neutral Buffer Formalin fixation solution with Bouin on microscopic images of the liver and cerebrum with hematoxylin eosin (HE) staining.

This study used a cross sectional approach with a qualitative descriptive design. Sampling was carried out on experimental chickens. The samples used were liver and cerebrum which were fixed with 10% NBF and Bouin for 12 hours, stained with Hematoxylin Eosin and observed microscopically. Then, give an assessment with good, poor, or bad categories based on assessment indicators based on the color and shape of the cell.

The results of this study showed a microscopic picture of the liver and cerebrum tissue as many as 6 preparations fixed with 10% NBF fluid showed good results. Meanwhile, liver and cerebrum tissue which were fixed with 6 preparations of Bouin's fluid showed poor results.

Keywords: NBF 10%, Bouin, Liver Microscopy, Cerebrum, HE

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Histologi merupakan salah satu cabang ilmu biologi yang mempelajari struktur jaringan, terutama pada sampel jaringan yang dipotong tipis, dan hasilnya dapat dilihat di bawah mikroskop. Histologi sangat berharga dalam mempelajari fungsi fisiologis sel dalam tubuh manusia, hewan, dan tumbuhan, serta histopatologi, yang berguna dalam menegakkan diagnosis penyakit termasuk perubahan fungsi fisiologis dan deformasi organ (Kemenkes RI, 2015).

Metode histoteknik adalah satu-satunya cara untuk membuat presentasi dalam histologi. Metode ini melibatkan serangkaian operasi yang menghasilkan presentasi histologis dari spesimen tertentu yang siap untuk dilihat atau dievaluasi. Fiksasi adalah komponen dari banyak fase dalam produksi preparat histopatologi. Fiksasi merupakan langkah penting dalam mencegah autolisis dan degradasi jaringan dan komponen jaringan sehingga hasilnya dapat dilihat secara anatomis dan mikroskopis (Alwi, 2016).

Prosedur fiksasi merupakan langkah awal dalam pembuatan preparat histologis. Pastinya, kualitas fiksasi adalah kunci yang penting untuk semua tahapan dalam pembuatan sediaan histopatologi, karena jika pada tahap ini terjadi kesalahan, maka akan memberikan gambaran sediaan histopatologi yang tidak bagus. Oleh karena itu, pengawetan jaringan yang mengalami

perubahan morfologi secara kasat mata tanpa adanya molekul, sangat penting dalam pengolahan jaringan (Musyarifah dan Agus, 2018).

Cairan yang dapat digunakan untuk fiksasi terdiri dari satu jenis cairan kimia yaitu formaldehid, etil alkohol, asam asetat, asam kromat, asam pikrat, potassium dikromat, osmium tetraklorida, acetone, dan merkuri klorida. Namun, ada juga cairan fiksasi yang terdiri dari campuran beberapa jenis bahan kimia yaitu larutan zenker, larutan bouin, dan larutan karnoy. Hal utama yang perlu diingat dalam pemilihan cairan fiksasi adalah berdasarkan kegunaan atau tujuan pemeriksaan jaringan itu sendiri (Yunalda, 2016).

Cairan fiksasi Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% sering digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam pemeriksaan histopatologi rutin. Manfaat penggunaan Neutral Buffer Formalin 10% adalah memiliki pH 7 (pH yang sangat baik), lebih mudah digunakan, murah, dan dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam waktu yang lama. Kerugiannya adalah waktu fiksasi lebih lama, berkisar antara 12 hingga 24 jam (Sriwahyunizah, 2018).

Selain NBF 10%, ada juga larutan bouin yang sering digunakan untuk fiksasi pada jaringan tertentu. Larutan bouin ini mempunyai kelebihan yaitu kemampuan lebih cepat untuk penetrasi ke dalam jaringan pada nukleus, dan jaringan ikat akan terpulas dengan baik. Namun, jika waktu fiksasi yang digunakan terlalu lama, jaringan menjadi hancur dan sulit untuk di iris. Cairan bouin ini dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama dan bisa digunakan sewaktu-waktu (Rusmiatik, 2011).

Beberapa peneliti telah melakukan penelitian terhadap perbedaan kualitas larutan fiksasi sediaan jaringan. Pada penelitian sebelumnya Yohana (2017), dilakukan penelitian perbedaan larutan fiksatif untuk mengetahui daya penetrasi yang baik antara larutan Bouin dengan Buffer Formalin, dan kesimpulan dari penelitian tersebut adalah hasil fiksasi yang baik yaitu Bouin karena larutan tersebut menghasilkan hasil mikroskopis dengan lebih banyak sel yang normal dibanding buffer formalin.

Hepar dan Otak adalah dua organ yang dapat diperiksa secara mikroskopis menggunakan preparat histologi jaringan. Karena hepar adalah salah satu organ terbesar dalam sistem pencernaan dan terdiri dari 70-80% sel hati/hepatosit, jaringan hati mudah dilihat. Karena jaringan hati yang tebal akan mengganggu proses fiksasi jaringan (Trianto, *et al* 2015). Sedangkan otak merupakan organ vital yang berfungsi untuk mengatur dan mengkoordinasikan semua fungsi normal tubuh serta menyimpan memori. Adalah sistem saraf pusat, yang membutuhkan persiapan dan pewarnaan yang memadai dalam proses histopatologis untuk mengungkapkan sel atau struktur yang diperlukan dengan jelas (Djuwita, *et al* 2012).

Menurut penelitian Rimbun dan Pintoko Kalanjati (2012), pewarnaan spesifik untuk sistem saraf adalah *heavy metal impregnation techniques*, antara lain *silver and gold method*. Penemuan teknik impregnasi terhadap neuron ini dapat memperlihatkan morfologi dari neuron secara keseluruhan. Namun pada penelitian ini, dilakukan pewarnaan rutin yang pada umumnya sering digunakan dan mudah didapat yaitu pewarnaan Hematoxylin Eosin.

Hematoxylin mewarnai inti sel menjadi biru dan eosin mewarnai sitoplasma menjadi warna merah muda. Pewarnaan HE adalah pewarna histologi permanen bukan pewarna sementara (Musumeci, 2014).

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin mengangkat judul “Perbandingan Cairan Fiksasi NBF 10% dengan Bouin Terhadap Kualitas Gambaran Mikroskopis Pada Jaringan Hepar dan Otak Ayam Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Dan pada fiksasi bouin nantinya tidak dilakukan pembilasan dengan alkohol 70% untuk membedakan cara penelitian sebelumnya serta membuktikan cairan fiksasi yang baik antara cairan NBF 10% dan cairan bouin.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, dapat dibuat rumusan masalahnya yaitu “Bagaimanakah gambaran mikroskopis jaringan hepar dan otak ayam yang difiksasi dengan NBF 10% dan bouin pada Pewarnaan Hematoxylin (HE)”?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hasil gambaran mikroskopis pada jaringan yang difiksasi dengan cairan NBF 10% dan Bouin.
2. Menganalisa hasil gambaran mikroskopis yang baik antara jaringan yang difiksasi dengan NBF 10% dan Bouin dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Dapat menambah pengetahuan dan skill dalam bidang sitohistologi dan mengaplikasikan apa yang telah diperoleh selama teori perkuliahan.

2. Bagi Institusi

Sebagai informasi dan referensi bahan masukan mengenai hasil perbandingan cairan fiksasi terhadap gambaran kualitas sediaan histologi secara mikroskopis pada pengecatan *Hematoxylin Eosin* (HE).