

**PERBEDAAN PENGGUNAAN CAIRAN FIKSASI BOUIN
DENGAN BUFFERED FORMALIN PADA GAMBARAN
HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG
DIWARNAI HEMATOXYLIN EOSIN**

SKRIPSI

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai
Gelar Sarjana Terapan Kesehatan



Oleh:
Nengah Ira Oktaviani
NIM 12190836N

**PROGRAM STUDI D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2023**

**PERBEDAAN PENGGUNAAN CAIRAN FIKSASI BOUIN
DENGAN BUFFERED FORMALIN PADA GAMBARAN
HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG
DIWARNAI HEMATOXYLIN EOSIN**

SKRIPSI

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai
Gelar Sarjana Terapan Kesehatan



Oleh:
Nengah Ira Oktaviani
NIM 12190836N

**PROGRAM STUDI D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi :

PERBEDAAN PENGGUNAAN CAIRAN FIKSASI BOUIN DENGAN BUFFERED FORMALIN PADA GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIWARNAI HEMATOXYLIN EOSIN

Oleh :

**Nengah Ira Oktaviani
12190836N**

Surakarta, 27 Juni 2023

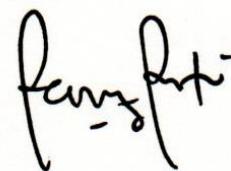
Menyetujui,

Pembimbing utama

Pembimbing Pendamping



Prof. dr. Marsetyawan HNES., M.Sc, Ph.D
NIDN 8893090018



Reny Pratiwi, S.Si., M.Si, Ph.D
NIS 01201206162161

LEMBAR PENGESAHAN

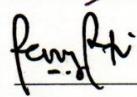
Skripsi :

PERBEDAAN PENGGUNAAN CAIRAN FIKSASI BOUIN DENGAN BUFFERED FORMALIN PADA GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIWARNAI HEMATOXYLIN EOSIN

Oleh :

**Nengah Ira Oktaviani
12190836N**

Surakarta, 27 Juli 2023

	Menyetujui,	Tandatangan	Tanggal
Penguji I	: Dr. Ifandari S.Si M.Si		<u>28-07-2023</u>
Penguji II	: dr. Ratna Herawati., M.Biomed		<u>10-08-2023</u>
Penguji III	: Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D		<u>10/08/2023</u>
Penguji IV	: Prof. dr. Marsetyawan, HNES., M.Sc., Ph.D		<u>13/08/2023</u>

Mengetahui,	
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi	
Prof. dr. Marsetyawan HNES., M.Sc, Ph.D NIDN 8893090018	

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya menyatakan bahwa Skripsi ini yang berjudul “Perbedaan Penggunaan Cairan Fiksasi *Bouin* Dengan *Buffered Formalin* Pada Gambaran Histologi Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) Yang Diwarnai Hematoxylin Eosin” 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, 30 Juni 2023



Nengah Ira Oktaviani
NIM. 12190836N

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Terapan Program Studi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini telah banyak mendapat bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc. Ph.D selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si., M.Si selaku Ketua Program Studi D4 Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Prof. Dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc. Ph.D selaku pembimbing utama dan Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D selaku pembimbing pendamping yang selalu meluangkan waktu di tengah kesibukannya untuk memberikan bimbingan, petunjuk, motivasi, nasehat serta saran kepada penulis selama penelitian dan menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. Dr. Ifandari S.Si M.Si selaku penguji 1 dan dr. Ratna Herawati., M.Biomed selaku penguji 2 yang telah memberi masukan serta saran untuk kesempurnaan Tugas Akhir ini.
6. Keluarga tercinta, Bapak, Ibu, Kakak, Adik dan Saudara-saudara yang telah memberikan dukungan, doa, motivasi, dan selalu menemani dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.
7. Bapak Jatmiko yang telah mengijinkan dan membantu dalam penelitian tugas akhir di Laboratorium Universitas Setia Budi.
8. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari kesempurnaan baik secara sistematika maupun isinya.

Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang sifatnya membangun dari pembaca guna kesempurnaan dalam

penulisan Tugas Akhir ini. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Surakarta, 30 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
ABSTRACT	xii
BAB I PENBAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan	3
D. Manfaat Penelitian	4
1. Manfaat Teoritis	4
2. Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Histologi jaringan	5
2. Hewan Coba	6
3. Ginjal	6
4. Proses Pembuatan Jaringan	8
5. Faktor-faktor yang mempengaruhi dalam pembuatan sediaan jaringan	17
B. Landasan Teori	18
C. Kerangka Teori	20
D. Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Jenis Penelitian	22
B. Desain Penelitian	22
C. Waktu dan Tempat Penelitian	22
D. Sampel	22
E. Variabel Penelitian	23
F. Instrumen Penelitian	23
1. Alat yang digunakan	23
2. Bahan Pemeriksaan	24

3.	Prosedur Penelitian	24
G.	Teknik Pengumpulan Data dan Analisa Data	24
H.	Alur Penelitian	25
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
A.	Gambaran Umum Sampel.....	26
B.	Hasil Penelitian	26
C.	Pembahasan.....	27
BAB V	PENUTUP.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....		32
LAMPIRAN		35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Mikroskopis Ginjal.....	7
Gambar 2.2. Kerangka Teori.....	21
Gambar 3.1. Alur Penelitian.....	25
Gambar 4.1. Gambaran mikroskopis ginjal mencit difiksasi <i>buffered</i> formalin Inti dan sitoplasma terlihat tetapi berwarna pucat	26
Gambar 4.2. Gambaran mikroskopis ginjal mencit fiksasi bouin Inti dan sitoplasma kurang jelas dan muculnya artefak pada sediaan	27
Gambar 4.3. Gambaran mikroskopis ginjal mencit pada fiksasi <i>buffered</i> formalin.....	27
Gambar 4.4. Gambaran mikroskopis ginjal pada fiksasi bouin	29

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Surat Permohonan Ijin Penelitian di Laboratorium	35
Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian di Laboratorium.....	36
Lampiran 3. <i>Ethical Clearance</i>	37
Lampiran 4. Lampiran Dokumentasi.....	38

INTISARI

Oktaviani, Nengah Ira. 2023. Perbedaan Penggunaan Cairan Fiksasi *Bouin* dengan *Buffered Formalin* Pada Gambaran Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Yang diwarnai Hemaktoxylin Eosin. Skripsi. Program Studi D4 Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Fiksasi merupakan serangkaian proses kimiawi yang kompleks, membawa perubahan pada berbagai konstituen kimia sel, namun morfologi sel. Larutan NBF merupakan bahan fiksasi campuran yang umum digunakan dan berfungsi sebagai bahan pengawet dan untuk melindungi struktur fisik sel. Larutan bouin dianggap sebagai fiksatif yang baik untuk struktur jaringan lunak yang halus. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan penggunaan cairan fiksasi bouin dengan *buffered formalin* pada gambaran histologi ginjal mencit (*mus musculus*) yang diwarnai *hematoxylin eosin*.

Jenis penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimen beserta kriterianya, seperti penelitian deskriptif dan teknik pengambilan sampel. Dalam penelitian ini pertama jaringan ginjal mencit (*mus musculus*) melakukan proses pembuatan jaringan selanjutnya melakukan proses fiksasi dengan larutan *bouin* selama 6 jam dan 10 jam sedangkan larutan *buffered formalin* selama 36 jam dan 48 jam. Variabel yang digunakan penelitian ini adalah variabel bebas dalam penelitian ini adalah fiksasi larutan *buffered formalin* dan larutan *bouin* dan variabel terikatnya adalah gambaran histologi ginjal mencit (*mus musculus*).

Hasil dari penelitian ini pada fiksasi dengan larutan bouin inti dan sitoplasmanya kurang jelas dan terjadi adanya artefak sedangkan pada fiksasi buffered formalin inti dan sitoplasma terlihat jelas tetapi pucat. Kesimpulan penelitian ini terdapat perbedaan pada gambaran mikroskopis sediaan jaringan ginjal mencit (*mus musculus*) yang telah difiksasi dengan *neutral buffered formalin* menunjukkan gambaran inti sel, sitoplasma yang jelas sedangkan pada gambaran mikroskopis yang difiksasi bouin kurang jelas dan terlihat adanya artefak.

Kata Kunci: Histologi ginjal mencit (*mus musculus*), Fiksasi, Larutan *Bouin*, Larutan *Buffered formalin*, *Hematoxylin-eosin*

ABSTRACT

Oktaviani, Nengah Ira. 2023. *Difference Comparison Fixation Fluid Bouin With Buffered Formalin On Histological Overview Mice Kidney (Mus musculus) Colored ones Hematoxylin Eosin.* Skripsi. D4 Study Program of Study Health Analyst, Faculty of Health Sciences, Setia Budi University, Surakarta.

Fixation is a complex series of chemical processes, bringing about changes in the various chemical constituents of the cell, but in the morphology of the cell. NBF solution is a commonly used mixed fixation agent that functions as a preservative and to protect the physical structure of cells. Bouin's solution is considered a good fixative for delicate soft tissue structures. The purpose of this study was to determine the difference between the use of bouin fixation fluid and buffered formalin on the histological appearance of mice kidneys (mus musculus) stained with hematoxylin eosin.

This type of research is included in experimental research and its criteria, such as descriptive research and sampling techniques. In this study, the kidney tissue of mice (mus musculus) first carried out the process of making the tissue then carried out the fixation process with bouin solution for 6 hours and 10 hours while buffered formalin for 36 hours and 48 hours. The variable used in this study was the independent variable in this study, fixation of buffered formalin solution and Bouin solution, and the dependent variable was the histological appearance of the mice kidney (mus musculus).

The results of this study in fixation with bouin solution, the nucleus and cytoplasm were less clear and there were artifacts, while in formalin buffered fixation, the nucleus and cytoplasm were clear but pale. The conclusion of this study was that there were differences in the microscopic appearance of the kidney tissue preparations of mice (mus musculus) which had been fixed with neutral buffered formalin showing clear images of the cell nucleus and cytoplasm, whereas in the microscopic images fixed with bouin it was less clear and there were visible artifacts.

Keywords: *Mice kidney histology (mus musculus), Fixation, Bouins solution, Buffered formalin solution, Hematoxylin-eosin*

BAB I

PENBAHULUAN

A. Latar Belakang

Histologi merupakan cabang ilmu biologi anatomi yang difokuskan mempelajari mengenai susunan struktur jaringan secara detail menggunakan mikroskop pada sediaan jaringan yang dipotong tipis (Prasetyana, dkk., 2018). Cabang ilmu ini memiliki peran yang sangat penting dalam mempelajari fungsi fisiologi sel-sel dalam tubuh, baik manusia, hewan, serta tumbuhan, dan dalam bentuk histopatologi cabang ilmu ini berguna dalam menentukan diagnosis penyakit yang melibatkan perubahan fungsi fisiologi dan deformasi organ (Koesoemah dan Dwiastuti, 2017). Selain itu, proses jaringan histologi masih menjadi *gold standard* penentu dalam terapi dan prognosis pasien (Sriwahyunizah, 2018).

Metode dalam membuat sediaan histologi dari spesimen tertentu dikenal dengan sebutan histoteknik (Pramitaningrum, 2020). Adapun langkah-langkah dalam membuat sediaan histologi yaitu: pengambilan bahan, fiksasi, pemendaman (dehidrasi, *clearing*, *embedding*, dan *sectioning*), pemulasan, dan *mounting* (Soesilawati, 2020). Salah satu tahap yang krusial sebagai upaya dalam mendapatkan sediaan histopatologi yang layak untuk dibaca adalah tahap fiksasi (Musyarifah & Agus, 2018). Apabila dalam tahap ini terjadi kesalahan, maka akan memberikan gambaran sediaan histopatologi yang tidak bagus (Sitanggang, 2021).

Fiksasi merupakan serangkaian proses kimiawi yang kompleks, yang membawa perubahan pada berbagai konstituen kimia sel, namun morfologi sel dan detail strukturalnya dapat dipertahankan (Nadifah, dkk., 2022; Bath dan Hussein, 2021). Fungsi fiksasi dapat untuk menjaga sel dari kerusakan struktural bahkan kimiawi, mencegah kematian sel akibat *post-mortem* ataupun autolisis, mengeraskan jaringan, memadatkan komponen sel, meningkatkan intensitas optik, dapat meningkatkan intensitas warna ketika terjadi proses pewarnaan dan pada sebuah kasus-kasus tertentu dapat digunakan untuk membantu merekatkan sel-sel ke kaca sediaan (Khristian & Inderiati, 2017).

Jenis bahan yang digunakan dalam proses fiksasi biasanya tergantung pada jenis pewarnaan yang akan dipakai. Terdapat dua

macam jenis bahan fiksatif, yaitu bahan sederhana dan campuran. Bahan sederhana terdiri dari satu macam zat, seperti formalin, etanol, asam cuka, bikromat, dan sublimat. Sedangkan bahan campuran mengandung lebih dari satu macam zat misalnya larutan bouin, zenker, *helly*, dan *carnoy* (Rusmiati, 2019). Hal utama yang perlu diperhatikan dalam memilih cairan fiksasi adalah kegunaan atau tujuan pemeriksaan jaringan itu sendiri (Fauzi, 2018). Di antara beberapa jenis larutan fiksasi tersebut, larutan yang lebih sering dipakai adalah larutan Bouin dan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%.

Cairan fiksatif pada dasarnya memiliki beberapa kelebihan maupun kekurangan. Adapun kelebihan penggunaan larutan bouin dalam tahap fiksasi antara lain: kemampuannya lebih cepat dalam penetrasi ke dalam jaringan nukleus dan jaringan ikat akan terpulsa dengan baik, cairan bouin dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama serta dapat digunakan sewaktu-waktu. Kekurangan dari penggunaan cairan bouin dalam tahap fiksasi adalah jika waktu fiksasi yang digunakan terlalu lama maka jaringan menjadi hancur dan sulit untuk diiris. Sedangkan kelebihan dari pemakaian *buffered formalin* dalam tahap fiksasi antara lain: memiliki pH 7, dalam penggunaannya dinilai lebih fleksibel/mudah, dan bisa dimanfaatkan untuk mengawetkan jaringan dengan waktu lama. Adapun kekurangan dari penggunaan *buffered formalin* adalah daya fiksasinya lebih lambat, yaitu 12-24 jam (Sriwahyunizah, 2018).

Beberapa penelitian telah dilakukan sebagai upaya untuk mengetahui perbedaan penggunaan cairan fiksasi bouin dan formalin pada gambaran histologi sediaan jaringan (Ellenburg, dkk., 2020; Yohana, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ellenburg dkk. (2020), yang menggunakan jaringan testis tikus, menunjukkan bahwa fiksasi dengan larutan formalin menghasilkan histologi yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan larutan bouin. Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yohana (2017), yang menggunakan jaringan hepar tikus putih, menunjukkan bahwa hasil fiksasi dengan menggunakan larutan bouin lebih banyak mengandung sel normal (84,61%) dibandingkan dengan larutan formalin (38,46%).

Ginjal merupakan organ utama dalam sistem urin, yang berwarna merah coklat, berbentuk seperti biji kacang merah. Ginjal memiliki fungsi dalam menyaring darah yang telah mengandung zat sisa metabolisme dari sel-sel tubuh (Kurniasih, 2018). Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh paparan zat kimia, karena ginjal menerima 25-30% sirkulasi darah untuk dibersihkan. Selain itu, ginjal yang berfungsi sebagai organ filtrasi memungkinkan terjadinya perubahan patologik yang sangat tinggi saat terpapar zat kimia tertentu (Aulina, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rowley dkk. (2020) analisis visualisasi *Hyaluronan* (HA) pada jaringan ginjal telah dilakukan dengan menggunakan beberapa larutan fiksasi antara lain: Larutan Bouin, Larutan *Carnoy*, *Ethanol-Formalin-Glacial Acetic Acid* (EFG), *Histochoice*, Larutan Davidson yang dimodifikasi, dan *Neutral Buffered Formalin* 10%. Oleh karena itu, pemilihan larutan bouin dan *Buffered Formalin* dapat dijadikan pilihan yang tepat dalam penelitian ini.

Tahap yang tak kalah penting dalam mendapatkan sediaan histopatologi adalah pewarnaan jaringan, yang mana pada tahap ini sangat proses pewarnaan terhadap komponen-komponen jaringan transparan sangat diperlukan melalui proses pematangan jaringan (Khristian & Inderiati, 2017). Pewarnaan rutin yang biasa digunakan adalah pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* (H&E).

Pada uraian yang terdapat di latar belakang, peneliti akan melakukan penelitian terhadap mencit dengan judul “Perbedaan Penggunaan Cairan Fiksasi Bouin dengan *Buffered Formalin* pada Gambaran Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Diwarnai *Hematoxylin Eosin*”.

B. Rumusan Masalah

Mengacu pada pemaparan di atas, peneliti mengajukan rumusan penelitian yaitu apakah terdapat perbedaan penggunaan cairan fiksasi bouin dengan *buffered formalin* pada gambaran histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diwarnai *hematoxylin eosin*.

C. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui adanya perbedaan penggunaan cairan fiksasi bouin dengan *buffered*

formalin pada gambaran histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diwarnai *hematoxylin eosin*.

D. Manfaat Penelitian

Dalam penelitian ini didapati beberapa manfaat yaitu:

1. Manfaat Teoritis

Mampu memberikan sumbangan informasi ilmiah mengenai perbandingan penggunaan cairan fiksasi *bouin* dengan *buffered formalin* pada gambaran histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diwarnai *hematoxylin eosin*. Selain itu, peneliti berharap temuan penelitian bisa berguna menjadi sumber daya bagi peneliti lain yang hendak mengkaji topik yang sama.

2. Manfaat Praktis

1. Menambah wawasan dan keterampilan pada bidang Sitohistoteknologi dan dapat mengetahui perbandingan penggunaan cairan fiksasi *bouin* dengan *buffered formalin* pada gambaran histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diwarnai *hematoxylin eosin*.
2. Penelitian ini dapat menambah sumber pustaka dan ragam penelitian dalam bidang Sitohistoteknologi.
3. Menambah informasi kepada petugas laboratorium mengenai perbedaan larutan fiksasi *bouin* dan *buffered formalin*.