

PERBEDAAN KUALITAS PEWARNAAN HE PADA JARINGAN USUS BESAR TIKUS YANG DIFIKSASI MENGGUNAKAN GULA MOLASSES DENGAN NBF 10%

Hasniar Fuzran A Saleh¹, Tulus Ariyadi², Arya Iswara³, Nurbaiti⁴

¹Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Keperawatan dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

²Departemen Diploma III Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Keperawatan dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

³Departemen Magister Ilmu Laboratorium Klinis, Program Pascasarjana, Universitas Muhammadiyah Semarang

⁴Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Swadaya Gunung Jati

email : hasniarfuzranasaleh@gmail.com

ABSTRAK

Fiksasi jaringan merupakan tahap penting dalam pembuatan preparat histologi untuk mempertahankan struktur seluler dan morfologi jaringan. Neutral Buffer Formalin (NBF) 10% umum digunakan sebagai fiksatif, namun memiliki risiko toksisitas dan dampak lingkungan negatif. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kualitas pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) pada jaringan usus besar tikus wistar yang difiksasi menggunakan gula molasses konsentrasi 30% dan NBF 10%. Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan dua kelompok perlakuan. Penilaian kualitas pewarnaan dilakukan secara mikroskopis terhadap inti sel dan sitoplasma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jaringan yang difiksasi dengan NBF 10% memberikan kualitas pewarnaan HE yang lebih baik, dengan skor rata-rata 18,00 (kategori baik), dibandingkan gula molasses 30% yang memperoleh skor rata-rata 14,18 (kategori kurang baik). Kesimpulan, NBF 10% masih menjadi fiksatif yang lebih unggul dibandingkan gula molasses 30% dalam mempertahankan kualitas pewarnaan HE pada jaringan usus besar tikus. Namun, gula molasses tetap memiliki potensi sebagai alternatif fiksatif yang lebih ramah lingkungan, meskipun kualitasnya masih perlu ditingkatkan.

Kata kunci: Fiksasi Jaringan, Gula Molasses, NBF 10%, Pewarnaan HE, Usus Besar Tikus, Histopatologi

ABSTRACT

Tissue fixation is an important stage in the manufacture of histology preparations to maintain cellular structure and tissue morphology. Neutral Buffer Formalin (NBF) 10% is commonly used as a fixative, but has the risk of toxicity and negative environmental impacts. This study aims to compare the quality of Hematoxylin Eosin (HE) staining in Wistar rat colon tissue fixed using 30% molasses sugar concentration and 10% NBF. The study was conducted experimentally in a laboratory with two treatment groups. Assessment of the quality of the test was carried out microscopically on the cell nucleus and cytoplasm. The results showed that tissue fixed with 10% NBF gave better HE staining quality, with an average score of 18.00 (good category), compared to 30% molasses which obtained an average score of 14.18 (less good category). In conclusion, 10% NBF is still a superior fixative compared to 30% molasses in maintaining the quality of HE staining in rat colon tissue. However, molasses still has the potential as a more environmentally friendly alternative fixative, although its quality still needs to be improved.

Keywords : Tissue Fixation, Molasses, 10% NBF, HE Staining, Rat Colon, Histopathology

Latar Belakang

Preparasi jaringan merupakan salah satu langkah penting dalam kegiatan histologi untuk mendukung proses diagnosis maupun penelitian biomedis. Tahapan awal dari proses ini adalah fiksasi, yaitu penyimpanan jaringan pada cairan khusus yang bertujuan untuk menghentikan proses autolisis dan dekomposisi, serta mempertahankan struktur morfologi jaringan sedekat mungkin dengan

kondisi aslinya dalam tubuh. Fiksasi dilakukan dengan menstabilkan struktur sel dan jaringan melalui perubahan kimia dan fisik yang ditimbulkan oleh bahan fiksatif (Khirstian & Inderiati, 2017).

Umumnya, fiksatif yang digunakan dalam praktik laboratorium adalah formaldehida dalam bentuk formalin netral buffer 10% (NBF 10%). Formalin dikenal mampu menjaga detail morfologi sel, termasuk inti dan sitoplasma,

serta memberikan hasil pewarnaan jaringan yang baik. Paparan jangka pendek maupun jangka panjang terhadap formalin dapat menyebabkan sakit, seperti iritasi pada saluran pernafasan, alergi, hingga kanker (Pratiwi et al., 2018; Ganavi et al., 2013). Selain berisiko bagi pengguna, formalin juga berdampak negatif terhadap lingkungan.

Salah satu kandidat adalah larutan berbasis gula alami, seperti madu, gula pasir, atau molasses. Molasses merupakan produk sampingan dari proses pembuatan gula dari tebu atau bit gula yang mengandung sukrosa dalam kadar tinggi, serta dikenal memiliki sifat higroskopis dan kemampuan sebagai pengawet alami (Iqbal et al., 2017; Prasetyo, 2015). Gula dalam konsentrasi tinggi juga diketahui mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme serta mengalami reaksi kimia dalam lingkungan asam yang menyerupai mekanisme kerja formalin dalam proses fiksasi jaringan (Pratiwi et al., 2018).

Penelitian terdahulu oleh Ganavi et al., (2013) menunjukkan bahwa larutan gula alami seperti jaggy dengan konsentrasi 30% memberikan hasil morfologi jaringan yang baik, mendekati hasil fiksasi formalin. Namun, penggunaan molasses dengan konsentrasi 20% menunjukkan hasil yang kurang optimal, terutama dalam pewarnaan dan pemotongan jaringan. Diperlukan penelitian lanjutan untuk menguji efektivitas molasses sebagai fiksatif dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan menggunakan jenis jaringan yang berbeda.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen yaitu suatu metode percobaan dengan menggunakan gula molasses sebagai pengganti NBF 10%.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Larutan Gula Molasses

Gula molasses ditimbang sebanyak 30 gram, kemudian dilarutkan dalam 70 mL aquades menggunakan gelas beaker 200 mL hingga homogen.

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba berupa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) berusia 2–3 bulan dan berat 200–300 gram, dipelihara selama 7 hari dengan pakan dan minum cukup, lalu dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ usus besar.

Anestesi Tikus

Anestesi dilakukan menggunakan chloroform yang diteteskan pada kapas dalam bejana tertutup hingga tikus tidak merespons rangsangan nyeri.

Pengolahan Jaringan

Usus besar tikus dipotong ukuran 1×1 cm, dibagi ke dalam dua larutan fiksatif (NBF 10% dan gula molasses 30%) selama 24 jam. Proses dilanjutkan dengan dehidrasi alkohol bertingkat, penjernihan dengan xylol, impregnasi-parafin embedding, pemotongan mikrotom (3–4 µm), dan pemasangan pada kaca objek.

Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Preparat menjalani defarafinisasi, dehidrasi, pewarnaan hematoxylin 5 menit, eosin 30 detik, dehidrasi, clearing dengan xylol, lalu mounting menggunakan entellan antara kaca objek dan cover glass.

Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan dilakukan pada 10 lapang pandang (400x) oleh dokter spesialis dan peneliti, menilai inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna. Penilaian menggunakan skoring kualitas preparat (1–3) dan hasil disajikan dalam bentuk tabel dan deskripsi.

Analisis Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini diperoleh dengan melakukan pengamatan mikroskop perbesaran 400x pada usus besar tikus yang telah difiksasi menggunakan gula molasses terutama pada bagian morfologi jaringan, morfologi sel, inti sel, sitoplasma dan warna sediaan.

Setelah diperoleh hasil dari masing-masing bagian (morfologi jaringan, morfologi sel, inti sel, sitoplasma, warna sediaan dan pengaruh fiksasi), Kategori penilaian didapatkan berdasarkan jumlah skor yang didapat. Data hasil evaluasi dianalisis dengan uji statistik dengan didahului uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena sampel pada penelitian ini berjumlah (< 50), data yang tidak berdistribusi normal, akan dilanjutkan dengan uji nonparametrik menggunakan *mann whitney*.

Hasil Penelitian

Hasil mikroskopis perbedaan kualitas pewarnaan HE preparat jaringan usus besar tikus yang di fiksasi menggunakan gula molasses dengan NBF 10% disajikan dalam tabel 1.

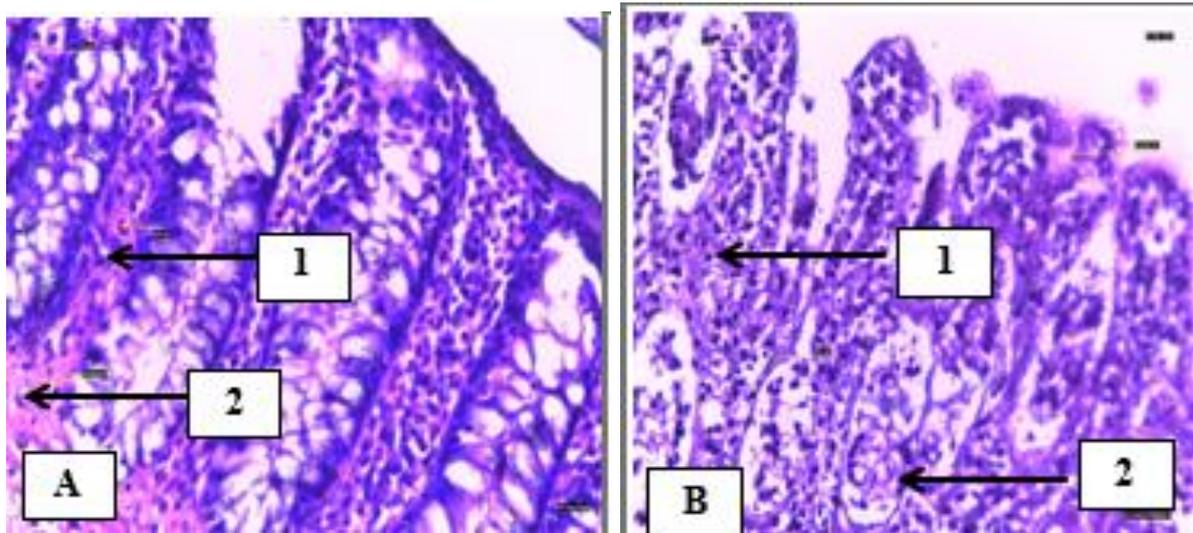
Berdasarkan rekapitulasi rata-rata hasil mikroskopis diatas menunjukkan bahwa 16 preparat usus besar tikus yang difiksasi menggunakan NBF 10% didapatkan hasil

Gambar 1.A Mikroskopis usus besar tikus Pewarnaan HE (A). NBF 10% skor 18,00 (baik). 1. Inti Sel tidak terjadi penyusutan,

warna biru keunguan pada inti sel terlihat jelas . rata-rata skor 18,00 (Baik), 16 preparat usus besar tikus putih wistar yang difiksasi menggunakan larutan gula molasses 30% mendapatkan hasil rata-rata 14,18 (Kurang Baik). 2. Sitoplasma warna merah (eosin) terlihat jelas, serta dapat diidentifikasi dengan jelas. (B). Larutan Gula Molasses 30% skor 14,18 (kurang baik). 1. Inti Sel terjadi penyusutan, warna biru keunguan pada inti sel terlihat jelas 2. Sitoplasma warna merah (eosin) kurang jelas, serta warna preparat kurang baik tetapi masih dapat diidentifikasi.

Tabel 1. Hasil mikroskopis penilaian perbedaan kualitas pewarnaan HE preparat jaringan usus besar tikus yang di fiksasi menggunakan gula molasses dengan NBF 10%

Kualitas Preparat			
	Baik	Kurang	Skor Baik
Perlakuan Fiksasi dengan NBF 10%	48	-	18
Morfologi Jaringan	16	-	
Morfologi Sel	16	-	
Inti Sel	16	-	
Sitoplasma	16	-	
Warna Preparat	16	-	
Perlakuan Fiksasi dengan Gula Molasses 30%	12	36	14,18
Morfologi Jaringan	2	9	
Morfologi Sel	2	7	
Inti Sel	2	3	
Sitoplasma	2	6	
Warna Preparat	2	8	
Pengaruh Fiksasi dengan Gula Molasses 30%	2	3	



Gambar 1

Hasil pengamatan mikroskopis dari gambar A menggunakan larutan NBF 10% yang sudah diwarnai dengan HE diketahui warna biru keunguan pada inti sel dan warna merah muda keunguan pada sitoplasma seragam serta tidak terjadi kerusakan pada sel maupun jaringan. Sedangkan pada pengamatan mikroskopis untuk gambar B preparat larutan gula molasses 30% yang diwarnai menggunakan pewarnaan HE disimpulkan hasil kurang baik, warna biru keunguan pada inti sel dan warna merah muda keunguan pada sitoplasma kurang baik.

Data yang didapat dari penelitian merupakan data yang memiliki skala rasio, setelah dilakukan uji normalitas *shapiro wilk* didapatkan hasil sig 0,002 ($<0,005$) bahwa data tidak terdistribusi normal. Selanjutnya, untuk melihat perbedaan kriteria penilaiannya dilakukan uji nonparametrik *Mann Whitney*. Pada uji nonparametrik Mann Whitney (morfologi jaringan) didapatkan hasil 0,000 terdapat adanya perbedaan, pada uji nonparametrik Mann Whitney (morfologi sel) didapatkan hasil 0,000 terdapat adanya perbedaan, pada uji nonparametrik Mann Whitney (inti sel) didapatkan hasil 1,000 tidak terdapat adanya perbedaan, pada uji nonparametrik Mann Whitney (sitoplasma) didapatkan hasil 0,000 terdapat adanya perbedaan, pada uji nonparametrik Mann Whitney (warna preparat) didapatkan hasil 0,001 terdapat adanya perbedaan, pada uji nonparametrik Mann Whitney (pengaruh fiksasi) didapatkan hasil 1,000 tidak terdapat adanya perbedaan.

Diskusi

Penelitian menunjukkan bahwa fiksasi menggunakan NBF 10% menghasilkan

kualitas pewarnaan HE yang lebih baik (skor rata-rata 18,00) dibandingkan larutan gula molasses 30% (skor rata-rata 14,18). Fiksasi NBF mempertahankan morfologi jaringan dan inti sel dengan warna pewarnaan yang seragam, sedangkan larutan gula molasses menunjukkan penyusutan inti sel, warna tidak seragam, dan jaringan tampak kaku akibat plasmolisis.

Perbedaan kualitas ini dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti pH larutan, suhu, konsentrasi, waktu fiksasi, dan ketebalan potongan jaringan. NBF 10% bersifat stabil, memiliki pH netral, dan efektif menjaga struktur sel, tetapi bersifat toksik. Sebaliknya, gula molasses yang mengandung sukrosa tinggi memiliki kemampuan fiksasi lebih rendah, terutama pada pH asam (pH 6), sehingga kualitas jaringan dan pewarnaan menurun. Secara keseluruhan, fiksasi dengan NBF 10% lebih direkomendasikan untuk mempertahankan struktur dan warna jaringan histologis dibandingkan gula molasses.

Simpulan

Berdasarkan Hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

Pengamatan mikroskopis preparat usus besar tikus yang di fiksasi menggunakan NBF 10% sebagai kontrol mendapatkan kategori 18,00 (Baik).

Pengamatan mikroskopis preparat usus besar tikus yang di fiksasi menggunakan Gula Molasses 30% sebagai perlakuan mendapatkan kategori 14,18 (Kurang Baik).

Pengujian menunjukkan perbedaan yang signifikan pada morfologi jaringan, morfologi sel, sitoplasma, dan warna preparat ($p < 0,001$), sementara tidak terdapat perbedaan signifikan pada inti sel dan pengaruh fiksasi ($p = 1,000$)

REFERENSI

1. Ganavi, B., Patil, S., Premalatha, B., & Rao, R. S. (2013). Revelation in the field of tissue preservation - a preliminary study on natural formalin substitutes. *Journal of International Oral Health JIOH*. 5(1): 31–38.
2. Iqbal, M., Afzal Qamar, M., Bokhari, T. H., Abbas, M., Hussain, F., Masood, N., Keshavarzi, A., Qureshi, N., & Nazir, A. (2017). Total phenolic, chromium contents and antioxidant activity of raw and processed sugars. *Information Processing in Agriculture*, 4(1): 83–89.

- <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2016.11.002>
3. Khristian, E., & Inderiati, D. (2017). Sitohistoteknologi. *Kemenkes Ri*, 6(1), 235. Bahan ajar Teknologi Laboratorium Medis Sitohistoteknologi. *Jakarta: Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan dan pemberdayaan sumber daya Kesehatan Manusia*
 4. Pratiwi, S.(2020). Histologi Kedokteran Dasar. (Airlangga, n.d.)Airlangga, C. (n.d.).
 5. Pratiwi, N. Y., Durachim, A., Mahmud, D., & Gusnandjar, A. (2019). Perbandingan Fiksasi Menggunakan Gula Pasir Tebu Dan Neutral Buffer Formalin Terhadap Keutuhan Sel. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*. 11(2): 190–197.
<https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v11i2.742>
 6. Prasetyo, A. (2015). Identifikasi Perubahan Karakteristik Fisik Gula Pasir Akibat Proses Penggilingan Selama Penyimpanan dan Penggunaan Kemasan Pada Skala Laboratorium. *Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor*.