

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Histologi merupakan cabang ilmu biologi yang mempelajari struktur mikroskopis sel dan jaringan. Struktur jaringan yang mikroskopis menjadi objek kajian dalam histologi untuk diamati di bawah mikroskop (Garcia *et al.*, 2019). Cara terbaik dalam mempelajari histologi adalah dengan menggunakan irisan jaringan yang dibuat dalam suatu sediaan. Kualitas sediaan jaringan yang optimal diperoleh dengan membuat irisan tipis dari jaringan yang dipotong kecil kemudian dilekatkan di atas *object glass* dan ditutup dengan kaca penutup (Wulansari dkk., 2024). Jaringan hewan dibuat dalam bentuk potongan preparat yang kecil, tipis, transparan, dan dapat ditembus oleh cahaya sehingga mempermudah pengamatan di bawah mikroskop (Mustami, 2017). Pembuatan sediaan jaringan hewan melalui beberapa tahapan yang saling mempengaruhi satu dengan lainnya, antara lain isolasi, fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *blocking*, pemotongan, dan pewarnaan. Preparat yang diperoleh dapat memperlihatkan susunan sel, bentuk sitoplasma, inti sel, susunan serat jaringan ikat, dan jaringan otot sesuai dengan gambaran jaringan normal (Wulansari dkk., 2024).

Kualitas sediaan jaringan yang optimal diperoleh dari tahap yang dimulai sejak awal, salah satunya adalah fiksasi. Proses pengawetan jaringan berperan penting untuk mencegah dekomposisi atau autolisis (Ellyawati, 2018). Tahap fiksasi menentukan keberhasilan tahap-tahap

lanjutan setelahnya seperti tahap pencucian (*washing*) dan pewarnaan (*staining*) untuk menentukan hasil analisis yang akan diperoleh. Proses fiksasi dilakukan dengan merendam jaringan dalam larutan fiksatif. Penggunaan jenis fiksatif disesuaikan dengan komponen jaringan yang akan diamati dan metode pewarnaan yang akan digunakan karena setiap fiksatif memiliki mekanisme pengawetan yang berbeda terhadap komponen jaringan. Peran fiksatif dapat membantu reagen menembus jaringan dengan lebih mudah sehingga dapat mempermudah proses pengamatan (Thavarajah *et al.*, 2012). Volume larutan fiksatif yang digunakan harus lebih dari 20 kali volume jaringan untuk memastikan jaringan terfiksasi dengan sempurna sehingga menghasilkan preparat yang baik saat diamati di bawah mikroskop (Singh & Nayak, 2022).

Jenis fiksatif yang dapat digunakan dalam pembuatan preparat antara lain, tunggal dan majemuk. Fiksatif tunggal hanya mengandung satu jenis larutan dan yang umumnya digunakan adalah etanol. Fiksatif majemuk mengandung dua atau lebih jenis larutan, yang umumnya digunakan antara lain, *neutral buffered formaline* (NBF) dan bouin. Etanol adalah jenis fiksatif yang memiliki sifat asam dan memiliki daya penetrasi yang cepat. Fiksatif NBF termasuk fiksatif yang paling banyak digunakan, mengandung *buffer* sehingga memiliki sifat yang netral dengan pH 7,2 dan daya penetrasi fiksasinya adalah 24 jam atau lebih lama. Bouin mengandung asam pikrat, formalin, dan asam asetat, daya penetrasi yang

cepat. Fiksatif bouin dapat memfiksasi jaringan atau organ lebih cepat yaitu selama 6 sampai 24 jam. Bouin mengandung asam pikrat sehingga jaringan atau organ yang difiksasi lebih dari 24 jam akan berwarna kuning (Howard & Wilson, 2014). Fiksatif etanol 50% termasuk fiksatif yang dapat menghasilkan penyusutan jaringan yang signifikan (Ajileye & Esan, 2022). Fiksatif menstabilkan komponen sel dengan membuatnya tidak larut, sehingga mengurangi perubahan dan juga mencegah kerusakan pada jaringan, yang dapat menyebabkan penyusutan atau pembengkakan, sehingga menjaga struktur sel dan jaringan dalam keadaan seperti aslinya (Singh *et al.*, 2019).

Proses pengawetan jaringan dapat dipengaruhi beberapa faktor, antara lain waktu fiksasi, jenis fiksatif, dan organ yang digunakan. Waktu fiksasi berpengaruh terhadap kualitas sediaan histologis jaringan yang diamati secara mikroskopis. Peneliti Anthony & Mescher (2016) menyatakan bahwa waktu fiksasi antara 6-24 jam dapat menghasilkan tampilan mikroskopis yang baik. Waktu fiksasi yang terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan organ, semakin lama jaringan di dalam fiksatif, semakin banyak jaringan kehilangan organel sel dan dapat mengalami pengerutan jaringan. Faktor lain yang mempengaruhi fiksasi yaitu jenis fiksatif yang berbeda akan menghasilkan gambaran preparat yang berbeda.

Penelitian ini menggunakan organ *cor* *R.norvegicus* galur wistar jantan dengan usia dua bulan dan bobot badan 150 g. Organ *cor* memiliki

struktur jaringan yang tersusun rapat dengan serat otot dan jaringan ikat yang kompleks. Struktur jaringan yang kompleks ini berpotensi memengaruhi penetrasi fiksatif NBF 10%, bouin, dan etanol 50% yang berlangsung lambat dan tidak merata yang dilakukan selama satu minggu serta proses pencucian setelahnya, sehingga diperlukan analisis lebih lanjut terhadap hasil sediaan jaringan organ *cor* melalui tahap pencucian (*washing*) setelah fiksasi selama satu minggu. Komponen *cor* yang diamati yaitu kardiomiosit. Fiksatif NBF 10% berbasis formaldehid dengan *buffer* yang netral dapat mempertahankan struktur jaringan tanpa menyebabkan penyusutan atau pembengkakan (Howard & Wilson, 2014). Bouin mengandung asam pikrat sehingga menghasilkan tampilan sediaan warna inti sel menghitam dan sel membengkak (Allimi dkk., 2023). Fiksatif etanol 50% menghasilkan tampilan sediaan sel yang menyusut signifikan karena kandungan alkohol yang dapat menyebabkan cairan di dalam sel keluar (Ajileye & Esan, 2022).

Sediaan histologi jaringan yang optimal dengan hasil pewarnaan yang baik ditentukan pada tahapan awal, salah satunya fiksasi sehingga diperlukan pertimbangan lebih lanjut terhadap potensi kerusakan yang dapat disebabkan oleh waktu fiksasi dan jenis fiksatif yang digunakan (Khristian & Inderiati, 2017). Kendala peneliti dalam memfiksasi organ dengan waktu yang lama berisiko menyebabkan *over* fiksasi yang dapat menurunkan kualitas preparat, sehingga gambaran jenis kerusakan

preparat dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam pembuatan sediaan histologi.

Pembuatan preparat pada beberapa literatur tidak melakukan tahap pencucian (*washing*) sehingga dalam pembuatan preparat langsung dilakukan tahap dehidrasi setelah fiksasi (Anthony & Mescher, 2016; Harijati dkk., 2017). Tahap pencucian (*washing*) setelah fiksasi yang tidak dilakukan berpotensi menyebabkan residu fiksatif masih tertinggal di dalam jaringan dan dapat mengganggu hasil pewarnaan maupun interpretasi mikroskopis, sehingga diperlukan pengembangan penelitian melalui proses pencucian (*washing*) jaringan organ sebanyak 4x30 menit. Pencucian preparat histologi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jenis larutan yang berbeda sesuai dengan jenis pelarut bahan fiksatif yang digunakan. Preparat yang difiksasi menggunakan NBF 10% dicuci dengan akuades, preparat yang difiksasi dengan bouin dicuci dengan alkohol 70%, dan preparat yang difiksasi dengan etanol 50% dicuci dengan alkohol 50%.

Penggunaan jenis fiksatif yang berbeda pada pembuatan preparat yang difiksasi dengan waktu yang lama akan menghasilkan beberapa kerusakan yang berbeda-beda, sehingga dapat dilakukan analisis untuk menentukan perbedaan gambaran kardiomyosit pada setiap preparat. Tahap pencucian (*washing*) dapat meminimalisir kerusakan preparat setelah difiksasi, karena tahap pencucian dilakukan untuk membersihkan sisa fiksatif di dalam jaringan (Daningsih & Mardiyyaningsih, 2021). Kondisi

ini memerlukan pengembangan penelitian untuk membuktikan pengaruh proses pencucian (*washing*) terhadap kardiomiosit *R. norvegicus* yang difiksasi dengan fiksatif berbeda selama satu minggu. Penelitian ini dilakukan dengan mengamati variabel keutuhan preparat, bentuk sel, ukuran sel, bentuk inti sel, ukuran inti sel, warna inti sel, dan warna sitoplasma (Rukminingsih & Latief, 2020).

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana gambaran sediaan histologi kardiomiosit *R.norvegicus* melalui proses pencucian setelah difiksasi dengan NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu?

1.3. Tujuan Penelitian

Menganalisis gambaran sediaan histologi kardiomiosit *R.norvegicus* melalui proses pencucian setelah difiksasi dengan NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah yang dapat dijadikan acuan referensi untuk penelitian lebih lanjut mengenai gambaran sediaan kardiomiosit *R.norvegicus* yang dibuat melalui proses pencucian (*washing*) setelah difiksasi menggunakan NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu.