

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroteknik hewan adalah cabang ilmu yang mempelajari teknik pembuatan preparat mikroskopis dari jaringan, organ, atau organisme hewan untuk observasi struktural dan fungsional. Organ hewan yang berukuran besar dibuat menjadi preparat berukuran kecil, tipis, dan transparan. Pembuatan preparat dengan mikroteknik dapat mempermudah pengamatan jaringan dengan menggunakan mikroskop (Faluti, 2022). Proses pembuatan preparat mikroteknik hewan meliputi beberapa tahap yaitu isolasi, fiksasi, dehidrasi, infiltrasi, pemotongan, hingga pewarnaan. Metode standar pada tahap pewarnaan preparat histologi, yaitu pewarnaan hematoksin eosin yang berfungsi memberikan kontras antara komponen seluler (Chaudhuri, 2023). Langkah penting yang mempengaruhi hasil pewarnaan preparat dalam prosedur pembuatan preparat histologis adalah fiksasi (Allimi dkk., 2023).

Fiksasi merupakan proses kimia yang dilakukan untuk mengawetkan jaringan sehingga mencegah autolisis atau proses dekomposisi jaringan. Proses pengawetan jaringan biologis bertujuan untuk mempertahankan kondisi jaringan seperti saat jaringan masih hidup (Allimi dkk. 2023). Tahap fiksasi sangat menentukan langkah berikutnya dalam proses pembuatan preparat, khususnya mempengaruhi tahap pencucian (*washing*) dan pewarnaan (*staining*) dalam pembuatan mikroteknik. Proses fiksasi dilakukan dengan menggunakan larutan fiksatif. Pembuatan preparat dengan tahap fiksasi membuat jaringan lebih mudah ditembus oleh reagen sehingga mempermudah proses pengamatan

jaringan (Singh *et al.*, 2019). Hasil fiksasi yang baik akan memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, dan sitoplasma, dan susunan serat jaringan ikat yang sesuai dengan gambaran jaringan pada saat kondisi masih hidup, sehingga akan memudahkan pada saat proses analisis preparat histologi (Survarna *et al.*, 2019).

Pemilihan fiksatif dilakukan berdasarkan komponen jaringan yang akan diamati serta jenis pewarnaan yang digunakan karena setiap fiksatif memiliki mekanisme pengawetan yang berbeda terhadap komponen jaringan. Larutan fiksatif mampu menghambat terjadinya autolisis dan memberikan perbedaan gambaran mikroskopik yang baik (Musyarifah & Agus, 2018). Penggunaan larutan fiksatif yang berbeda akan memengaruhi proses pemberian reagen pada tahap berikutnya. Jaringan yang diberi larutan fiksatif lebih mudah ditembus oleh reagen sehingga mempermudah proses pengamatan jaringan (Singh *et al.*, 2019). Jumlah larutan fiksatif yang sesuai dapat mempengaruhi kondisi jaringan. 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).

Pembuatan preparat histologi dapat menggunakan fiksatif tunggal dan majemuk. Fiksatif tunggal yang umum digunakan pada bidang histologi adalah etanol. Fiksatif majemuk yang umum digunakan yaitu NBF dan bouin. Etanol merupakan fiksatif tunggal, bersifat asam, dan daya penetrasi yang cepat. NBF bersifat netral dengan pH 7,2 dan daya penetrasinya lama. Bouin mengandung

asam pikrat berwarna kuning, dengan daya penetrasi yang cepat. Larutan NBF 10% memiliki daya penetrasi yang lama dan membuat pH jaringan menjadi netral untuk mencegah nekrosis sel dan kerusakan protein (Fajrina dkk., 2018). Larutan fiksatif bouin dapat memfiksasi jaringan atau organ lebih cepat yaitu selama 6 jam sampai 24 jam. Bouin mengandung asam pikrat sehingga jaringan atau organ yang difiksasi lebih dari 24 jam akan berwarna kuning (Howat & Wilson, 2014). Fiksatif etanol 50% merupakan larutan fiksatif koagulan yang memutus ikatan hidrogen sehingga mengendapkan protein dalam jaringan dan menghentikan aktivitas enzim serta mencegah kerusakan sel (Rahman *et al.*, 2022).

Faktor yang mempengaruhi fiksasi, antara lain durasi fiksasi, jenis larutan fiksatif, dan organ yang digunakan. Durasi fiksasi sangat mempengaruhi kualitas gambaran histologis jaringan yang diamati secara mikroskopis. Peneliti Anthony & Mescher (2016) menyatakan, bahwa waktu fiksasi antara 6-24 jam memberikan gambaran mikroskopis yang baik. Proses fiksasi yang terlalu lama akan menyebabkan kerusakan jaringan dan organ, semakin lama jaringan menunggu untuk diawetkan, semakin banyak kehilangan organel sel dan pengerutan jaringan (Nadifah, dkk., 2022). Faktor lain yang mempengaruhi fiksasi yaitu jenis larutan fiksatif yang berbeda akan menghasilkan gambaran preparat yang berbeda. Penelitian ini menggunakan ren *Rattus norvegicus* jantan dengan umur dua bulan dan bobot 150 g. Ren merupakan jaringan lunak yang mudah menyerap larutan fiksatif sehingga preparat akan lebih mudah diamati setelah proses fiksasi. Komponen ren yang diamati yaitu glomerulus.

Hasil fiksasi dengan NBF 10%, sel penyusun glomerulus tetap utuh. Fiksasi NBF 10% menghasilkan pewarnaan yang konsisten dan stabilitas jangka panjang pada penyimpanan blok parafin (Oтали *et al.*, 2013). Bouin menyebabkan inti sel menghitam dan sel membengkak. Asam pikrat di dalam larutan bouin yang digunakan untuk fiksasi dalam waktu lama akan bereaksi dengan asam nukleat pada inti sel sehingga menyebabkan inti sel berwarna hitam (Allimi dkk., 2023). Etanol 50% akan menyebabkan sel penyusun glomerulus menjadi menyusut, hancur, dan nekrosis sel. Alkohol dapat menyebabkan cairan di dalam sel keluar sehingga sel mengalami penyusutan yang signifikan (Putri dkk., 2023).

Fiksasi sebagai suatu langkah penting dalam menghasilkan preparat mikroteknik sehingga perlu pertimbangan lebih lanjut karena potensi kerusakan akibat durasi perlakuan dan jenis larutan fiksatif. Fiksasi adalah faktor penting dalam memastikan kualitas sediaan preparat histologi sehingga dapat diamati dengan jelas di bawah mikroskop (Musyarifah & Agus, 2018). Kendala peneliti dalam memfiksasi organ menyebabkan durasi fiksasi lebih dari 24 jam sehingga terjadi *over* fiksasi yang berpotensi merusak preparate. Kerusakan preparat akibat fiksasi lebih dari 24 jam dengan larutan fiksatif yang berbeda akan menunjukkan gambaran jenis kerusakan preparat yang berbeda sehingga durasi fiksasi yang terlalu lama dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam kegiatan mikroteknik untuk dapat mengetahui efektivitas durasi pada setiap jenis larutan fiksatif.

Pembuatan preparat mikroteknik 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 yang tidak dilakukan akan menyebabkan adanya residu larutan fiksatif di dalam jaringan yang dapat mengganggu proses pengamatan sehingga perlu dilakukan pengembangan penelitian melalui proses pencucian jaringan organ (*washing*) 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 dengan menggunakan NBF 10% dicuci dengan menggunakan akuades, preparat yang difiksasi dengan bouin akan dicuci dengan menggunakan alkohol 70% dan preparat yang difiksasi dengan etanol 50% akan dicuci dengan menggunakan alkohol 50%.

Preparat yang dibuat dengan larutan fiksatif yang berbeda pada durasi yang lama akan menghasilkan beberapa kerusakan yang berbeda-beda, sehingga dapat dilakukan analisis untuk menentukan perbedaan gambaran sel glomerulus pada setiap preparat. Kerusakan pada preparat dapat diminimalisirkan dengan proses pencucian preparat setelah difiksasi karena tahap pencucian dapat membersihkan sisa fiksatif di dalam jaringan (Daningsih & Mardiyyaningsih, 2021). Kondisi ini memerlukan pengembangan penelitian untuk membuktikan pengaruh proses pencucian (*washing*) terhadap sel penyusun glomerulus *Rattus norvegicus* yang difiksasi dengan fiksatif berbeda selama satu minggu. Penelitian ini dilakukan melalui variabel keutuhan

preparat, bentuk sel, ukuran sel, bentuk inti sel, ukuran inti sel, warna inti sel dan warna sitoplasma (Mahendra & Fitria, 2024).

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana gambaran sel glomerulus *Rattus norvegicus* melalui proses pencucian (*washing*) setelah fiksasi dengan NBF 10%, Bouin, dan Etanol 50% selama satu minggu?

1.3 Tujuan Penelitian

Menganalisis gambaran sel glomerulus *Rattus norvegicus* melalui proses pencucian (*washing*) setelah fiksasi 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 sel glomerulus yang dibuat melalui proses pencucian (*washing*) setelah difiksasi dengan menggunakan fiksatif NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu.