

**PERBANDINGAN FIKSASI MENGGUNAKAN  
*NEUTRAL BUFFER FORMALIN 10%* DAN PEMANIS ALAMI STEVIA  
TERHADAP JARINGAN GINJAL TIKUS PUTIH DENGAN  
PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN**

**Diqqi Pangestu**

Program Studi Diploma 3 Analisis Kesehatan ,Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih

Jl.Padasuka Atas No 233, Bandung, 40192, Indonesia

Email : [pangestudiqqi@gmail.com](mailto:pangestudiqqi@gmail.com)

**ABSTRAK**

Histoteknik adalah serangkaian proses pembuatan sediaan histologi dari spesimen berupa jaringan hewan atau manusia. Tahapan proses pengolahan jaringan yang dibutuhkan dalam pembuatan sediaan histologi yaitu, isolasi jaringan dari organ tubuh, fiksasi, pencucian, dehidrasi, penjernihan dan infiltrasi parafin, penanamam, penyayatan, penempelan, deparafinisasi, pewarnaan (staining). *Neutral Buffer Formalin 10%* merupakan larutan yang menjadi standar utama di laboratorium patologi anatomi karena tingkat derajat keasaman yang mendekati netral (pH). Mekanisme pemanis alami dapat dijadikan sebagai zat fiksasi alternatif pengganti *Neutral Buffer Formalin 10%* karena adanya kandungan sukrosa gugus aldehid akan berikatan silang dengan asam amino yang terdapat pada jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin pada organ ginjal tikus yang di fiksasi menggunakan *Neutral Buffer Formalin 10%* dan pemanis alami Stevia. Metode yang digunakan adalah eksperimen static group comparison yang bertujuan untuk mengetahui perubahan atau pengaruh yang timbul setelah dilakukan perlakuan tertentu. Penelitian ini menggunakan subjek hewan uji tikus wistar sebanyak 16 ekor ginjal tikus. Data diperoleh dari hasil pengamatan mikroskopis. Pengolahan data menggunakan Mann Whithney U. Setelah dilakukan uji statistik menggunakan uji Mann Whithney U maka hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil signifikan yaitu nilai Sig.0.02 < 0.05 yang berarti H1 diterima dan H0 ditolak maka dapat disimpulkan bahwa kualitas fiksasi pada organ ginjal tikus yang difiksasi menggunakan larutan *Neutral Buffer Formalin 10%* lebih baik dibandingkan hasil fiksasi larutan pemanis alami stevia pada jaringan ginjal dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin.

Kata Kunci : fiksasi, *Neutral Buffer Formalin 10%*, Pemanis Alami Stevia, Ginjal.

**ABSTRACT**

*Histotechnics is a series of processes for making histological preparations from specimens in the form of animal or human tissue. The stages of the tissue processing process required in making histological preparations are, tissue isolation from body organs, fixation, washing, dehydration, clarification and paraffin infiltration, embedding, cutting, sticking, deparaffinizing, staining. Neutral Buffer Formalin 10% is a solution that is the main standard in anatomical pathology laboratories because the acidity level is close to neutral (pH). The natural sweetener mechanism can be used as an alternative fixative agent to replace Neutral Buffer Formalin 10% because the sucrose content of the aldehyde group will cross-link with amino acids found in the tissue. The aim of this study was to determine the quality of Hematoxylin Eosin staining on rat kidney organs*

*that were fixed using Neutral Buffer Formalin 10% and Stevia natural sweetener. The method used is a static group comparison experiment which aims to determine the changes or effects that arise after certain treatments are carried out. This research used 16 Wistar rat kidneys as test animal subjects. Data obtained from microscopic observations. Data processing used Mann Whithney U. After statistical tests were carried out using the Mann Whithney U test, the research results showed that the results were significant, namely the value of Sig.  $0.02 < 0.05$ , which means  $H_1$  was accepted and  $H_0$  was rejected, so it can be concluded that the quality of fixation in the rat kidney organs that were fixed using the solution Neutral Buffer Formalin 10% better than the results of stevia solution fixation in kidney tissue with Hematoxylin Eosin staining.*

*Key words: fixation, Neutral Buffer Formalin 10%, Stevia natural sweetener, Kidneys.*

## 1. Pendahuluan

Histoteknik adalah serangkaian proses pembuatan sediaan histologi dari spesimen berupa jaringan hewan atau manusia melalui rangkaian proses tahapan tertentu sehingga sediaan dapat diamati dan dianalisis menggunakan mikroskop (Jusuf, 2009). Proses sediaan jaringan histoteknik sangat penting karena dapat mengetahui struktur sel dan bentuk jaringan, serta berpengaruh pada hasil diagnosis dan hasil akhir sediaan jaringan (Yoon, 2014).

Tahapan proses pengolahan jaringan yang dibutuhkan dalam pembuatan sediaan histologi yaitu, isolasi jaringan dari organ tubuh, fiksasi, pencucian (washing), dehidrasi, penjernihan (clearing) dan infiltrasi parafin, penanaman (embedding), penyayatan (section), penempelan (affixing), deparafinisasi, pewarnaan (staining), mounting dan pembacaan sediaan (Alwi, et.al., 2016). Sebelum dilakukan tahapan utama prosesing jaringan maka perlu adanya proses isolasi organ pada hewan coba (Yoon, 2014).

Fiksasi adalah langkah dasar di balik studi patologi dan sangat penting untuk mencegah autolisis dan degradasi jaringan serta komponen jaringan sehingga mereka dapat diamati baik secara anatomis dan mikroskopis. Sekitar awal 400 tahun sebelum masehi, Hippocrates telah mendiskusikan efek biologik merkuri dan alkohol sebagai cairan fiksatif, meskipun keingintahuan tentang struktur histologik dimulai sejak penemuan mikroskop cahaya (Wahyu Baskoro, 2018). Beberapa studi menyatakan bahwa pemanis alami dapat digunakan sebagai pengganti alternatif dari formalin ini.

Neutral Buffer Formalin merupakan larutan yang menjadi standar utama di laboratorium patologi anatomi karena larutan mudah didapat, sederhana, dan

jaringan tingkat derajat keasaman yang mendekati netral (pH) (Fajrina et Al., 2018). Kelebihan larutan fiksasi ini adalah pH mendekati netral, dapat disimpan dalam jumlah besar dan waktu yang lama (Kristen & India, 2017).

Stevia berisi glycoside yang mempunyai rasa manis tapi tidak menghasilkan kalori. Stevioside dan rebaudioside merupakan konstituen utama dari glycoside dengan gabungan dari molekul gula yang berbeda seperti yang terdapat pada tanaman stevia.

Mekanisme pemanis alami dapat dijadikan sebagai zat fiksasi alternatif pengganti NBF 10% karena adanya kandungan sukrosa. Sukrosa pada pemanis alami pH rendah dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa dengan bantuan  $H_2O$  (air suling). Kemudian fruktosa dalam suasana asam membentuk gugus aldehyd. Gugus aldehyd akan berikatan silang dengan asam amino yang terdapat pada jaringan.

## 2. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, metode eksperimen static group adalah metode yang dilakukan dengan melakukan percobaan pada hewan yang bertujuan untuk mengetahui perubahan atau pengaruh yang timbul setelah dilakukan perlakuan tertentu. Serta untuk mengetahui pengaruh perbandingan fiksasi menggunakan NBF10% dan pemanis alami stevia dengan pewarnaan HE pada organ hati tikus putih.

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah 16 jenis tikus wistar. Dan lokasi penelitian dilakukan Laboratorium Biologi Sekolah Tinggi BaktiAsih Bandung dan Poltekes Analis Kesehatan Bandung. Penelitian dimulai dari perencanaan (Penyusunan Proposal) samapi akhir, dimulai dari bulan januari samapai Juni 2024.

Alat: Microtom, Objek glass, Open, Penggaris, Pensil, Pinset, Pisau, Scalpel, Talenan, Water bath, Based mould, Beker Glass, Cover Glass, Kaset Jaringan, Kertas Label.

Bahan: Alkohol bertingkat : 70%, 80, 95% dan 100%, Asam alkohol, Entellan, Eosin, Ethanol, Hematoxylin, Litium carbonat, NBF 10%, Parafin, Tikus wistar, Xylol, pemanis alami stevia.

**Prosedur Kerja**

1. Persiapan Sampel
  - a) Menyiapkan beker glass yang berisi formalin;
  - b) Memotong organ ginjal dengan ukuran 1x1x0,5cm;
  - c) Jaringan di masukan ke dalam kaset yang sudah diberi nomer pada bagian luar kaset dengan pensil dan di dalam kaset dengan kertas warna kuning.
2. Processing Jaringan
  - a) Fiksasi;
  - b) Dehidrasi;
  - c) *Clearing*;
  - d) *Embedding*;
  - e) Penanaman (*Blocking*);
  - f) Pemotongan (*Sectioning*);
  - g) Pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

**3. Hasil dan Pembahasan**

Hasil Penelitian  
 Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin pada organ hati tikus yang di fiksasi menggunakan NBF 10% dan stevia. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, kualitas fiksasi jaringan dikelompokkan dengan skala ordinal dan skor yang ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 4. 1 Kriteria Penilaian Sediaan jaringan

Deskripsi	Kualitas	
	Skala Ordinal	Skor
- Inti sel berwarna biru, Sitoplasma berwarna merah, Tidak terdapat artefak.	Sangat Baik	1
- Inti sel kurang berwarna biru, Sitoplasma berwarna merah, Adapun kelainan seperti glomelurus hilang (jadi merah), Tubulus sedikit berwarna biru, Terdapat sedikit artefak,	Baik	2
- Inti sel tidak berwarna biru, Sitoplasma tidak berwarna merah, Adapun kelainan seperti glomelurus hilang, tubulus seluruhnya berwarna biru. Terdapat banyak artefak.	Kurang Baik	3

(Fitria Nuroini dkk,2022)

Berdasarkan kriteria penilaian kualitas fiksasi jaringan pada tabel di peroleh data hasil penelitian sebagai berikut.

Tabel 4. 2 Hasil Penilaian Preparat Jaringan Ginjal

No Sampel	Validator 1	Validator 2	Validator 3
NBF 10%			
1.	1	1	1
2.	2	2	2
3.	2	2	2
4.	1	1	1
5.	2	2	2
6.	2	2	2
7.	1	1	1
8.	1	1	1
9.	1	1	1
10.	1	1	1
11.	1	1	1
12.	1	1	1
13.	1	1	1
14.	1	1	1
15.	1	1	1
16.	1	1	1
Stevia			
1.	2	2	2
2.	2	2	2
3.	2	2	2
4.	2	2	2
5.	1	1	1
6.	2	2	2
7.	2	2	2
8.	2	2	2
9.	3	3	3
10.	2	2	2
11.	2	2	2
12.	1	1	1
13.	2	2	2
14.	2	2	2
15.	1	1	1
16.	2	2	2
	Diqqi Panges tu	Dani Mahmud, S.Pd., S.ST., M.Kes	dr. Komala, Sp.PA

Uji Normalitas

Tests of Normality							
	kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Skor	NBF	.462	16	.000	.546	16	.000
	Stevia	.411	16	.000	.676	16	.000

a. Lilliefors Significance Correction  
 Interpretasi hasil uji Normalitas dimana jika nilai signifikan (sig) > 0,05, maka data dapat dikatakan berdistribusi normal dan jika nilai signifikan (sig) < 0,05, maka data dikatakan tidak berdistribusi normal. Berdasarkan hasil data tidak berdistribusi normal karena nilai signifikan < 0,05.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas Meskipun data hasil penelitian menunjukkan data tidak homogen dan tidak terdistribusi normal, uji beda signifikan tetap bisa dilakukan dengan uji Mann Whitney U karena data penelitian ini merupakan data ordinal juga sebagai alternatif uji beda signifikan untuk data yang tidak terdistribusi normal tidak homogen. Hipotesis untuk pengujian ini yaitu  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak jika nilai Sig. > 0.05 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada penggunaan larutan fiksatif NBF 10% dan stevia terhadap kualitas pewarnaan jaringan. Sedangkan  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima jika nilai Sig. < 0.05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada penggunaan larutan fiksatif NBF 10% dan stevia terhadap kualitas pewarnaan jaringan.

Untuk mengetahui perbedaan kualitas hasil pemeriksaan, dilakukan pengujian secara statistic untuk data non parametrik menggunakan uji beda signifikan untuk dua variabel yaitu uji Mann Whitney U dimana  $H_0$ : larutan NBF 10% dan stevia menghasilkan kualitas fiksasi yang sama sedangkan  $H_1$ : larutan NBF 10% dan stevia menghasilkan kualitas fiksasi jaringan yang berbeda.

#### Uji Mann Whitney

	skor
Mann-Whitney U	54.000
Wilcoxon W	190.000
Z	-3.173
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.004 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Jika nilai asymp Sig. (2-tailed) < 0.05 berkesimpulan ada perbedaan secara signifikan dan jika nilai asymp Sig. (2-tailed) > 0.05 berkesimpulan tidak ada perbedaan secara signifikan. Berdasarkan uji mann-Wihtney didapat hasil 0.02 maka dapat disimpulkan ada perbedaan secara signifikan antara NBF dan Stevia.

#### Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada pengamatan mikroskopis sediaan jaringan ginjal tikus wistar yang difiksasi dengan larutan *Neutral Buffer Formalin 10%* dengan kriteria nilai meliputi warna pada inti sel, sitoplasma, glomelurus, dan tubulus. Hasil yang didapatkan sangat baik, sedangkan pada pengamatan mikroskopis sediaan jaringan ginjal yang difiksasi

dengan larutan stevia didapatkan hasil kurang baik. Data tersebut diperoleh dari pengamatan langsung sediaan preparat ginjal yang telah diamati dibawah mikroskop data tersebut dapat dilihat dibagian lampiran.

Pada jaringan yang difiksasi dengan *buffer formalin* selama 24 jam menunjukkan hasil yang sangat baik Warna biru pada inti sel terlihat jelas dan warna merah pada sitoplasma terlihat jelas tidak terdapat pelebaran pada glomerulus, tubulus dan ruang kapsul bowman.

Pada jaringan yang difiksasi dengan pemanis alami stevia selama 24 jam menunjukkan hasil yang kurang baik. Inti sel kurang berwarna biru, Sitoplasma berwarna merah, Adapun kelainan seperti glomelurus hilang (jadi merah), Tubulus sedikit berwarna biru, Terdapat sedikit artefak,

Pemanis alami Stevia tidak dapat dijadikan bahan pengganti *Neutral Buffer Formalin 10%* sebagai zat fiksasi karena kesalahan yang dilakukan pada saat penelitian, yaitu tidak memperhatikan pH yang terkandung dalam pemanis alami stevia. Karena pH yang terkandung dalam pemanis alami stevia 6,5-7,5 yang menunjukkan pH netral. Seharusnya pH yang terkandung dalam pemanis alami stevia dibuat asam terlebih dahulu berkisar pH 3-6

Menurut Suprianto (2014) kerusakan yang terjadi dapat dipengaruhi oleh fiksasi, hal ini misalnya yang diutarakan oleh Fajrina dan Al (tahun 2018) bahwa teknik fiksasi merupakan tahap awal pada proses histoteknik. Kesalahan yang dilakukan pada tahap fiksasi tidak akan pernah dapat diperbaiki kembali, meskipun proses selanjutnya telah dilakukan dengan benar.

Berdasarkan uji yang telah dilakukan diperoleh nilai berdasarkan hasil uji statistic uji Mann Whitney U pada Tabel 4.3 diketahui menunjukkan nilai Sig. 0.002 < 0.005 sehingga H1 diterima dan H0 ditolak maka dapat disimpulkan larutan fiksasi yang menggunakan larutan stevia belum bisa menggantikan larutan NBF 10% terhadap kualitas fiksasi jaringan ginjal tikus wistar dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin. Berdasarkan penelitian ini, pengaplikasian larutan stevia untuk bahan alternatif pengganti larutan NBF 10% belum bisa dipakai untuk fiksasi jaringan.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil dari pengamatan mikroskopis sediaan jaringan ginjal tikus wistar yang di fiksasi dengan larutan *Neutral Buffer Formalin 10%* dan Pemanis alami stevia dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin dapat disimpulkan, Pada jaringan yang difiksasi dengan *Neutral buffer formalin 10%* selama 24 jam menunjukkan hasil yang sangat baik Warna biru pada inti sel terlihat jelas dan warna merah pada sitoplasma terlihat jelas tidak terdapat pelebaran pada glomerulus, tubulus dan ruang kapsul bowman. Sedangkan kualitas jaringan yang di fiksasi menggunakan Pemanis Alami Stevia menunjukkan hasil yang kurang baik. Inti sel kurang berwarna biru, Sitoplasma berwarna merah, Adapun kelainan seperti glomelurus hilang (jadi merah), Tubulus sedikit berwarna biru, Terdapat sedikit artefak,

#### Daftar Pustaka

- A. Sriwahyunizah. (2018). Perbandingan Fiksasi Neutral Buffer Formalin 10% dan Alkohol 70% Pada Jaringan Dengan Pewarnaan He (Hematoxilin Eosin). *Jurnal Analis Kesehatan*, 2(4), 1–8.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal*

*Kesehatan Andalas*, 7(3), 443.  
<https://doi.org/10.25077/jka.v7.i3.p443-453.2018>

- Niswatin, R. K. (2021). Literature Review : Perbandingan Kualitas Sediaan Jaringan Menggunakan Larutan Fiksatif NBF 10% dan Madu dengan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin. *Unisa*.
- 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>
- Pustaka, B. A. B. T. (2013). *Tikus Putih ( Rattus norvegicus )*. 19.  
[http://repository.ub.ac.id/id/eprint/5571/5/135130101111029\\_BAB 2.pdf](http://repository.ub.ac.id/id/eprint/5571/5/135130101111029_BAB%202.pdf)
- Raini, Mariana., A. I. (2012). Kajian: Khasiat Dan Keamanan Stevia Sebagai Pemanis Pengganti Gula. *Media of Health Research and Development*, 21(4 Des), 145–156.  
<https://doi.org/10.22435/mpk.v21i4Des.50>
- Wahyu Baskoro. (2018). BAB II Tinjauan Pustaka BAB II TINJAUAN PUSTAKA 2.1. 1–64. *Gastronomia Ecuatoriana y Turismo Local*, 1(69), 5–24.
- Jusuf, A . A. (2009). Histoteknik Dasar. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1–33.
- Khristian, Erick; Inderiati, D. (2017). Sitohistoteknologi (Jakarta). Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Wardani, Y., & Rahmawati, Y. (2020). *SYSTEMATIC REVIEW : PENGKAJIAN ZAT FIKSASI ALTERNATIF PENGGANTI NBF ( Neutral Buffer Formaline ) 10 % DALAM BIDANG SYSTEMATIC REVIEW : PENGKAJIAN ZAT FIKSASI ALTERNATIF PENGGANTI NBF ( Neutral Buffer*. 4–13.



