

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

PENGARUH LAMA FIKSASI TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN PADA JARINGAN



umsurabaya
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

**Fakultas
Ilmu Kesehatan**

Oleh :

Tri Ade Saputro, S.Tr.A.K., M.Imun.

Yety Eka Sispita Sari, S.TR.Kes., S.Si., M.Si

Nur Vita Purwaningsih, S.ST., M.Kes

Amelia Azzahra

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH
SURABAYA**

Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113

Telp. 031-3811966

<http://www.um-surabaya.ac.id> Tahun 2024

DAFTAR ISI

S

DAFTAR ISI	3
ABSTRAK	7
BAB 1 PENDAHULUAN	8
1.1 Latar Belakang	8
1.2 Rumusan Masalah.....	10
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.3.1 Tujuan Umum	10
1.3.1 Tujuan Khusus	10
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	10
1.4.2 Manfaat Praktis	11
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Histopatologi.....	12
2.2 Fiksasi.....	12
2.2.1 Pengertian Fiksasi	12
2.2.2 Tujuan Fiksasi.....	13
2.2.3 Mekanisme Kerja Fiksasi.....	13
2.2.4 Faktor-Faktor yang Memengaruhi Fiksasi.....	14
2.3 <i>Neutral Buffered Formalin</i> 10%	15
2.3.1 Pengertian <i>Neutral Buffered Formalin</i>	15
2.3.2 Mekanisme Kerja NBF 10%.....	15
2.3.3 Keuntungan dan Keterbatasan NBF 10%	16
2.4 Lama Fiksasi... ..	16
2.5 Pengolahan Jaringan	18
2.5.1 Dehidrasi.....	18
2.5.2 Clearing.....	18
2.5.3 Infiltrasi dan Embedding	18
2.5.4 Pemotongan Jaringan.....	19
2.6 Pewarnaan Hematoksilin-Eosin	19

2.6.1	Pengertian Pewarnaan Hematoksilin-Eosin.....	19
2.6.2	Prinsip Pewarnaan Hematoksilin.....	19
2.6.3	Prinsip Pewarnaan Eosin	20
2.6.4	Tahapan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin	20
2.7	Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin.....	20
2.8	Hubungan Lama Fiksasi dengan Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin ...	21
2.9	Kerangka Teori	22
2.10	Kerangka Konsep.....	23
2.11	Hipotesis.....	24
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN		25
3.1	Tujuan Penelitian.....	25
3.1.1	Tujuan Umum.....	25
3.1.2	Tujuan Khusus	25
3.2	Manfaat Penelitian.....	25
3.2.1	Manfaat Teoritis	25
3.2.2	Manfaat Praktis.....	26
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		28
4.1	Desain/Rancangan Penelitian	28
4.2	Kerangka Kerja.....	29
4.3	Populasi Penelitian, Sampel Penelitian, dan Teknik Pengambilan Sampel..	29
4.3.1	Populasi Penelitian	29
4.3.2	Sampel Penelitian	29
4.3.3	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	30
4.3.4	Teknik Pengambilan Sampel.....	30
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	31
4.4.1	Lokasi Penelitian	31
4.4.2	Waktu Penelitian	31
4.5	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	31
4.5.1	Variabel Penelitian	31
4.5.2	Definisi Operasional	32
4.6	Alat dan Bahan Penelitian	33
4.6.1	Alat Penelitian	33

4.6.2	Bahan Penelitian.....	33
4.7	Prosedur Penelitian	34
4.7.1	Tahap Persiapan.....	34
4.7.2	Persiapan Jaringan	34
4.7.3	Proses Fiksasi	34
4.7.4	Pengolahan Jaringan	35
4.7.5	Pembuatan Preparat	35
4.7.6	Pewarnaan Hematoksilin-Eosin.....	35
4.7.7	Pengamatan Mikroskopis	35
4.8	Pengumpulan Data.....	36
4.9	Analisis Data.....	36
4.10	Penyajian Data	37
4.11	Etika Penelitian.....	37
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		38
5.1	Hasil Penelitian	38
5.1.1	Hasil Pemeriksaan Most Probable Number (MPN)	38
5.1.2	Hasil Penilaian Kejelasan Inti Sel	39
5.1.3	Hasil Penilaian Kejelasan Pewarnaan Sitoplasma.....	40
5.1.4	Hasil Penilaian Keceragaman Pewarnaan	40
5.1.5	Gambaran Umum Hasil Penelitian	40
5.2	Pembahasan....	42
5.2.1	Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin	42
5.2.2	Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Kejelasan Inti Sel	44
5.2.3	Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Pewarnaan Sitoplasma	44
5.2.4	Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Keceragaman Pewarnaan	45
5.2.5	Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Keutuhan Struktur Jaringan.....	45
5.2.6	Hasil Uji Statistik	46
5.2.7	Keterkaitan Hasil Penelitian dengan Penelitian Sebelumnya.....	47
5.3	Keterbatasan Penelitian	47
5.4	Implikasi Penelitian	48
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA		49

6.1	Rencana jangka Pendek.....	49
6.2	Bentuk Tidak Lanjut	50
BAB 7 PENUTUP		51
7.1	Kesimpulan....	51
7.2	Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....		53
LAMPIRAN.....		54

ABSTRAK

Fiksasi merupakan salah satu tahapan penting dalam pembuatan preparat histopatologi karena berperan dalam mempertahankan struktur dan morfologi jaringan sebelum dilakukan proses pengolahan jaringan dan pewarnaan. Salah satu bahan fiksatif yang umum digunakan adalah Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%. Lama fiksasi dapat memengaruhi kualitas preparat yang dihasilkan, karena waktu fiksasi yang terlalu singkat dapat menyebabkan jaringan belum terfiksasi secara optimal, sedangkan fiksasi yang terlalu lama berpotensi menimbulkan perubahan pada struktur jaringan. Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) merupakan metode pewarnaan rutin dalam pemeriksaan histopatologi yang digunakan untuk memberikan gambaran inti sel, sitoplasma, serta struktur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik dengan rancangan perlakuan berupa variasi lama fiksasi menggunakan larutan NBF 10%. Jaringan yang telah difiksasi selanjutnya diproses melalui tahapan dehidrasi, clearing, impregnasi, embedding, pemotongan, dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Kualitas pewarnaan diamati secara mikroskopis berdasarkan kejelasan inti sel, pewarnaan sitoplasma, keseragaman warna, dan keutuhan struktur jaringan. Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis untuk mengetahui perbedaan kualitas pewarnaan pada setiap variasi lama fiksasi. Hasil penelitian diharapkan dapat menunjukkan adanya pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin, sehingga dapat memberikan gambaran mengenai lama fiksasi yang sesuai untuk menghasilkan preparat jaringan dengan kualitas pewarnaan yang baik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan evaluasi dalam pelaksanaan proses fiksasi pada pemeriksaan histopatologi serta menambah informasi bagi mahasiswa dan tenaga laboratorium dalam menjaga mutu preparat jaringan.

Kata kunci: Fiksasi, Hematoksilin-Eosin, Kualitas Pewarnaan, Lama Fiksasi, NBF 10%.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan histopatologi merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium yang penting untuk mengamati struktur dan perubahan jaringan secara mikroskopis. Keberhasilan pemeriksaan ini sangat bergantung pada kualitas preparat yang dihasilkan. Preparat yang baik harus mampu mempertahankan struktur jaringan, bentuk sel, serta komponen jaringan sehingga dapat diamati dengan jelas menggunakan mikroskop. Proses pembuatan preparat histopatologi terdiri atas beberapa tahapan, antara lain fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding, pemotongan jaringan, dan pewarnaan. Setiap tahapan tersebut saling berkaitan sehingga kesalahan pada salah satu tahap dapat memengaruhi kualitas preparat akhir (Slaoui & Fiette, 2017).

Fiksasi merupakan salah satu tahap awal yang sangat penting dalam proses pembuatan preparat histologi. Tahap ini dilakukan untuk mempertahankan jaringan sedekat mungkin dengan kondisi saat jaringan masih berada di dalam tubuh. Proses fiksasi bertujuan untuk menghentikan proses autolisis dan pembusukan, mempertahankan struktur sel dan jaringan, serta membuat jaringan lebih siap untuk melalui tahapan pengolahan selanjutnya. Fiksasi yang tidak optimal dapat menyebabkan terjadinya perubahan morfologi, kerusakan jaringan, dan munculnya artefak yang dapat mengganggu pengamatan mikroskopis (Rieger et al., 2021).

Salah satu bahan fiksatif yang umum digunakan dalam pemeriksaan histopatologi adalah 10% Neutral Buffered Formalin (NBF). Formalin tetap menjadi bahan fiksatif yang banyak digunakan karena mampu mempertahankan arsitektur jaringan dan morfologi sel dengan baik. Setelah proses fiksasi menggunakan formalin, jaringan umumnya diproses dan dibuat menjadi blok parafin sebelum dilakukan pemotongan serta pewarnaan rutin. Kualitas proses fiksasi menggunakan formalin sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah lama jaringan berada dalam larutan fiksatif (Chung et al., 2017).

Lama fiksasi merupakan salah satu faktor yang perlu diperhatikan karena waktu yang digunakan harus cukup untuk memungkinkan bahan fiksatif menembus dan mempertahankan struktur jaringan secara optimal. Waktu fiksasi yang terlalu singkat dapat menyebabkan proses fiksasi belum berlangsung secara sempurna sehingga beberapa bagian jaringan berpotensi mengalami perubahan struktur atau kerusakan selama tahap pengolahan berikutnya. Sebaliknya, fiksasi yang terlalu lama juga dapat memengaruhi karakteristik jaringan dan hasil pemeriksaan histologis. Oleh karena itu, diperlukan waktu fiksasi yang sesuai agar struktur jaringan dapat dipertahankan dengan baik sebelum dilakukan pewarnaan (Chung et al., 2017).

Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) merupakan pewarnaan rutin yang paling banyak digunakan dalam pemeriksaan histopatologi. Pewarnaan ini memberikan kontras warna pada komponen jaringan sehingga struktur sel dan jaringan dapat diamati secara lebih jelas.

Hematoksilin terutama memberikan warna pada komponen sel yang bersifat basofilik, termasuk inti sel, sedangkan eosin memberikan warna merah muda hingga merah pada sitoplasma dan komponen jaringan tertentu. Kejelasan inti sel, warna sitoplasma, serta kontras antarstruktur jaringan merupakan beberapa aspek yang dapat digunakan dalam menilai kualitas preparat hasil pewarnaan HE (Rieger et al., 2021).

Kualitas pewarnaan HE tidak hanya ditentukan oleh proses pewarnaan itu sendiri, tetapi juga dipengaruhi oleh kondisi jaringan sejak tahap fiksasi. Penelitian Chung et al. (2017) menunjukkan bahwa perubahan lama fiksasi dapat memengaruhi karakteristik histomorfologi pada preparat yang diwarnai menggunakan HE. Pada jaringan yang mengalami fiksasi berkepanjangan menggunakan NBF, intensitas pewarnaan dapat berkurang, terutama pewarnaan eosin pada sitoplasma, serta dapat disertai dengan perubahan kejelasan membran sel dan inti. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pengaturan lama fiksasi perlu diperhatikan untuk menjaga kualitas gambaran jaringan pada preparat histologi.

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa variasi waktu fiksasi dapat memberikan pengaruh terhadap kualitas morfologi jaringan. Penelitian mengenai jaringan testis mencit dengan variasi waktu fiksasi 8, 12, dan 24 jam menunjukkan adanya perbedaan pada gambaran struktur jaringan dan artefak yang terbentuk. Perubahan tersebut dapat terlihat pada integritas epitel, kondisi inti sel, serta struktur sel pada jaringan. Temuan tersebut menunjukkan bahwa selain jenis bahan fiksatif, lama kontak jaringan dengan bahan fiksatif juga perlu menjadi perhatian dalam proses pembuatan preparat histopatologi (Zhang et al., 2024).

Penelitian yang lebih baru juga menunjukkan bahwa kondisi fiksasi dan fiksasi berkepanjangan dapat memengaruhi hasil pemeriksaan morfologi jaringan. Penggunaan formalin yang tidak sesuai dapat menyebabkan perubahan pada struktur jaringan dan menurunkan kontras warna pada preparat HE. Selain itu, fiksasi dalam waktu yang terlalu lama juga dapat memberikan pengaruh terhadap beberapa karakteristik pemeriksaan jaringan. Hal tersebut memperkuat pentingnya standardisasi proses fiksasi untuk memperoleh preparat dengan gambaran morfologi yang tetap baik dan mudah dievaluasi secara mikroskopis (Sasai et al., 2025).

Dalam pelaksanaan pemeriksaan histopatologi, masih terdapat kemungkinan terjadinya perbedaan lama fiksasi akibat berbagai kondisi laboratorium, seperti waktu penerimaan spesimen, jumlah sampel yang diperiksa, jadwal pengolahan jaringan, serta prosedur kerja yang diterapkan. Perbedaan tersebut dapat menyebabkan suatu jaringan mengalami fiksasi dalam waktu yang lebih singkat atau lebih lama dibandingkan dengan kondisi yang diharapkan. Apabila lama fiksasi tidak dikendalikan dengan baik, kualitas preparat yang dihasilkan dapat menjadi tidak seragam dan berpotensi memengaruhi kejelasan struktur jaringan yang diamati.

Berdasarkan uraian tersebut, lama fiksasi merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam pembuatan preparat histopatologi. Pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas

pewarnaan HE perlu dikaji melalui pemeriksaan laboratorik dengan membandingkan beberapa variasi waktu fiksasi. Kualitas preparat dapat diamati berdasarkan kejelasan inti sel, kejelasan sitoplasma, keseragaman pewarnaan, dan keutuhan struktur jaringan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan judul “Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada Jaringan”. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh variasi lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan HE serta menjadi bahan pertimbangan dalam pelaksanaan proses fiksasi pada pembuatan preparat histopatologi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah: “Apakah terdapat pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan

1.3.1 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan dengan variasi lama fiksasi.
2. Menganalisis kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin berdasarkan kejelasan inti sel setelah proses fiksasi dengan lama waktu yang berbeda.
3. Menganalisis kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin berdasarkan pewarnaan sitoplasma setelah proses fiksasi dengan lama waktu yang berbeda.
4. Menganalisis kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin berdasarkan keseragaman pewarnaan dan keutuhan struktur jaringan pada masing-masing variasi lama fiksasi.
5. Menganalisis pengaruh perbedaan lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan informasi mengenai pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan. Hasil penelitian juga diharapkan dapat menjadi referensi dalam memahami pentingnya proses fiksasi sebagai salah satu tahap dalam pembuatan preparat histopatologi.

1.4.2 Manfaat Praktis

a. Bagi Peneliti

Penelitian ini dapat menambah pengalaman dan pengetahuan dalam melakukan penelitian laboratorik, khususnya mengenai proses pembuatan preparat histopatologi dan faktor-faktor yang dapat memengaruhi kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

b. Bagi Institusi Pendidikan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pembelajaran dan referensi bagi mahasiswa dalam memahami proses fiksasi jaringan serta pentingnya pengendalian lama fiksasi untuk menghasilkan preparat histopatologi yang berkualitas.

c. Bagi Laboratorium

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi sebagai bahan evaluasi dalam proses pembuatan preparat histopatologi, khususnya pada tahap fiksasi. Hasil penelitian dapat menjadi pertimbangan dalam menjaga konsistensi dan mutu proses pengolahan jaringan sebelum dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

d. Bagi Peneliti Selanjutnya

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan proses fiksasi jaringan. Penelitian berikutnya dapat mengembangkan penelitian dengan menggunakan jenis jaringan yang berbeda, variasi waktu fiksasi yang lebih banyak, atau membandingkan berbagai jenis bahan fiksatif terhadap kualitas preparat histopatologi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Histopatologi

Histopatologi merupakan salah satu metode pemeriksaan yang digunakan untuk mengamati struktur, susunan, dan perubahan morfologi jaringan secara mikroskopis. Pemeriksaan ini dilakukan melalui serangkaian tahapan histoteknik untuk menghasilkan preparat jaringan yang dapat memberikan gambaran struktur sel dan jaringan secara jelas. Hasil pemeriksaan histopatologi sangat dipengaruhi oleh kualitas preparat, karena perubahan yang terjadi selama proses penanganan dan pengolahan jaringan dapat memengaruhi gambaran morfologi yang diamati (Chambers et al., 2025).

Pembuatan preparat histopatologi merupakan proses yang terdiri atas beberapa tahap yang saling berkaitan. Tahapan tersebut secara umum meliputi penerimaan dan pemotongan jaringan, fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding, pemotongan menggunakan mikrotom, deparafinisasi, pewarnaan, dan mounting. Setiap tahapan harus dilakukan secara tepat karena kesalahan dalam satu proses dapat menyebabkan artefak atau perubahan morfologi yang dapat menurunkan kualitas preparat. Faktor pada tahap awal, terutama proses fiksasi, memiliki pengaruh yang penting terhadap keberhasilan tahap berikutnya dan kualitas pemeriksaan mikroskopis (Chambers et al., 2025).

Preparat histopatologi yang berkualitas harus mampu mempertahankan struktur jaringan sehingga susunan sel dan komponen jaringan dapat dibedakan dengan jelas. Kejelasan morfologi jaringan diperlukan untuk memberikan gambaran mikroskopis yang baik, terutama dalam menilai bentuk inti sel, sitoplasma, membran sel, dan struktur antarjaringan. Oleh karena itu, pengendalian setiap tahap dalam proses pembuatan preparat merupakan bagian penting dalam menjaga mutu pemeriksaan histopatologi (Devita et al., 2026).

2.2 Fiksasi

2.2.1 Pengertian Fiksasi

Fiksasi merupakan tahap awal dalam proses pembuatan preparat

histopatologi yang dilakukan untuk mempertahankan struktur dan komponen jaringan sebelum jaringan melalui proses pengolahan lebih lanjut. Jaringan yang telah diambil dari tubuh dapat mengalami perubahan akibat aktivitas enzim dan proses degradasi. Penggunaan bahan fiksatif bertujuan untuk menghambat perubahan tersebut sehingga struktur jaringan dapat dipertahankan sedekat mungkin dengan kondisi awalnya (Wartini et al., 2025).

Proses fiksasi sangat penting karena jaringan yang tidak segera atau tidak cukup terfiksasi dapat mengalami perubahan morfologi. Perubahan tersebut dapat berupa gangguan struktur sel, autolisis, hilangnya komponen jaringan, dan perubahan kemampuan jaringan dalam menerima zat warna. Sebaliknya, proses fiksasi yang berlangsung terlalu lama juga dapat memengaruhi karakteristik jaringan karena proses reaksi antara bahan fiksatif dan komponen jaringan berlangsung secara progresif selama jaringan berada dalam larutan fiksatif (Bilgin et al., 2023).

2.2.2 Tujuan Fiksasi

Tujuan utama fiksasi adalah mempertahankan struktur sel dan jaringan serta mencegah terjadinya perubahan setelah jaringan diambil dari tubuh. Fiksasi berperan dalam menghentikan aktivitas enzimatik yang dapat menyebabkan autolisis dan membantu menghambat proses kerusakan jaringan. Dengan proses fiksasi yang baik, struktur jaringan dapat tetap terjaga selama jaringan menjalani tahap dehidrasi, clearing, infiltrasi parafin, pemotongan, dan pewarnaan (Wartini et al., 2025).

Selain mempertahankan morfologi, fiksasi juga berperan dalam menghasilkan kondisi jaringan yang sesuai untuk menerima pewarnaan. Kualitas fiksasi dapat memengaruhi kemampuan struktur jaringan dalam mempertahankan dan menerima zat warna selama proses pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Fiksasi yang tidak memadai dapat menyebabkan penurunan atau perubahan warna, sedangkan perubahan kondisi bahan fiksatif dan fiksasi berkepanjangan juga dapat menyebabkan perubahan hasil pewarnaan (Bilgin et al., 2023).

2.2.3 Mekanisme Kerja Fiksasi

Mekanisme kerja bahan fiksatif bergantung pada jenis larutan yang

digunakan. Formalin sebagai bahan fiksatif bekerja melalui reaksi kimia dengan komponen jaringan, terutama protein. Formaldehida dapat membentuk ikatan kovalen dan ikatan silang antarmolekul serta intramolekul pada protein. Proses tersebut membantu mempertahankan struktur jaringan dan menghentikan berbagai reaksi biokimia yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan setelah spesimen diambil dari tubuh (Bilgin et al., 2023).

Pembentukan ikatan silang oleh formalin berlangsung secara bertahap dan progresif. Oleh karena itu, jaringan membutuhkan waktu yang cukup agar proses fiksasi dapat berlangsung secara optimal. Lama waktu yang terlalu singkat dapat menyebabkan proses fiksasi belum mencakup seluruh bagian jaringan secara sempurna. Sebaliknya, jaringan yang terlalu lama berada dalam formalin dapat mengalami perubahan tertentu akibat proses fiksasi yang berlangsung terus-menerus, terutama pada parameter pemeriksaan tertentu (Chambers et al., 2025).

2.2.4 Faktor-Faktor yang Memengaruhi Fiksasi

Keberhasilan proses fiksasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah jenis dan konsentrasi bahan fiksatif. Penggunaan bahan fiksatif yang tepat diperlukan agar struktur jaringan dapat dipertahankan dengan baik. Penelitian mengenai variasi konsentrasi Neutral Buffered Formalin pada jaringan ginjal mencit menunjukkan bahwa konsentrasi bahan fiksatif merupakan salah satu faktor yang dapat memengaruhi kualitas proses fiksasi dan hasil pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

Faktor berikutnya adalah ukuran dan ketebalan jaringan. Bahan fiksatif harus dapat menembus bagian jaringan agar proses fiksasi berlangsung secara merata. Jaringan yang lebih tebal membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan jaringan yang tipis. Selain itu, waktu fiksasi perlu disesuaikan dengan jenis dan karakteristik jaringan karena kebutuhan waktu untuk memperoleh hasil fiksasi yang optimal dapat berbeda pada setiap jenis spesimen (Chambers et al., 2025).

Lama fiksasi juga merupakan faktor penting yang menentukan kualitas hasil pemeriksaan. Hasil systematic literature review oleh Wartini et al. (2025) menunjukkan bahwa variasi waktu fiksasi menggunakan NBF 10%

memberikan hasil yang berbeda terhadap kualitas preparat. Variasi waktu 3, 6, dan 8 jam dilaporkan cenderung menghasilkan kualitas yang kurang baik, waktu 16 dan 24 jam menunjukkan hasil yang lebih baik, sedangkan fiksasi lebih dari 24 jam pada beberapa penelitian dapat kembali menunjukkan hasil yang kurang optimal.

2.3 *Neutral Buffered Formalin 10%*

2.3.1 Pengertian Neutral Buffered Formalin

Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% merupakan salah satu bahan fiksatif yang paling umum digunakan dalam pemeriksaan histopatologi rutin. Larutan ini digunakan untuk mempertahankan struktur jaringan sebelum dilakukan pengolahan lebih lanjut. NBF 10% mengandung formaldehida sebagai komponen utama yang berfungsi dalam proses fiksasi, sedangkan komponen buffer membantu menjaga kondisi pH larutan agar tetap mendekati netral (Bilgin et al., 2023).

NBF 10% banyak digunakan karena dapat memberikan hasil fiksasi yang baik terhadap struktur jaringan dan mendukung pemeriksaan histopatologi rutin. Penelitian Chambers et al. (2025) menunjukkan bahwa penggunaan 10% Neutral Buffered Formalin memberikan hasil morfologi yang lebih baik dibandingkan penggunaan formalin tanpa buffer. Penggunaan formalin tanpa buffer dilaporkan dapat meningkatkan ruang antarsel dan menurunkan kontras warna pada preparat yang diwarnai menggunakan Hematoksilin-Eosin.

2.3.2 Mekanisme Kerja NBF 10%

Formaldehida dalam NBF 10% bekerja dengan membentuk ikatan silang pada molekul jaringan, terutama protein. Proses tersebut membantu mempertahankan susunan dan struktur jaringan serta menghambat proses degradasi. Reaksi fiksasi tidak terjadi secara langsung pada seluruh jaringan secara bersamaan, tetapi memerlukan proses penetrasi bahan fiksatif ke dalam jaringan diikuti dengan reaksi kimia pada komponen jaringan (Bilgin et al., 2023).

Karena mekanisme fiksasi berlangsung secara progresif, lama kontak jaringan dengan NBF 10% menjadi faktor penting. Jaringan yang belum berada

dalam larutan fiksatif selama waktu yang cukup dapat menunjukkan hasil fiksasi yang belum optimal. Namun, waktu fiksasi yang sangat panjang juga dapat memberikan pengaruh terhadap karakteristik jaringan. Chambers et al. (2025) melaporkan bahwa fiksasi berkepanjangan dapat memengaruhi beberapa hasil pemeriksaan dan menegaskan pentingnya standarisasi penanganan jaringan.

2.3.3 Keuntungan dan Keterbatasan NBF 10%

Keuntungan utama penggunaan NBF 10% adalah kemampuannya dalam mempertahankan morfologi jaringan dan penggunaannya yang telah luas dalam pemeriksaan histopatologi. Bahan ini juga mampu memberikan kondisi jaringan yang baik untuk proses pewarnaan rutin seperti Hematoksilin-Eosin. Selain itu, penggunaan larutan buffer membantu menjaga pH sehingga hasil fiksasi lebih stabil dibandingkan formalin yang tidak dibuffer (Bilgin et al., 2023).

Meskipun demikian, penggunaan NBF 10% memiliki keterbatasan apabila lama fiksasi tidak dikendalikan dengan baik. Fiksasi yang tidak memadai dapat menyebabkan penurunan kualitas pewarnaan, sedangkan fiksasi yang berkepanjangan dapat memberikan perubahan pada jaringan dan hasil pemeriksaan tertentu. Oleh karena itu, penggunaan NBF 10% perlu disertai dengan pengaturan waktu fiksasi yang sesuai dengan kebutuhan pemeriksaan dan karakteristik jaringan (Chambers et al., 2025).

2.4 Lama Fiksasi

Lama fiksasi adalah waktu yang diperlukan sejak jaringan dimasukkan ke dalam larutan fiksatif hingga proses fiksasi dianggap cukup sebelum jaringan menjalani tahap pengolahan berikutnya. Waktu fiksasi harus diperhatikan karena berkaitan dengan kemampuan bahan fiksatif dalam menembus jaringan dan mempertahankan struktur jaringan. Kebutuhan waktu fiksasi dapat dipengaruhi oleh ukuran, ketebalan, dan jenis jaringan yang digunakan (Chung et al., 2018).

Fiksasi dalam waktu yang terlalu singkat dapat menyebabkan jaringan belum mengalami fiksasi secara optimal. Kondisi tersebut dapat menyebabkan

kualitas morfologi jaringan dan hasil pewarnaan menjadi kurang baik. Hasil kajian Wartini et al. (2025) menunjukkan bahwa variasi waktu fiksasi yang relatif singkat, yaitu 3, 6, dan 8 jam, pada beberapa penelitian cenderung menghasilkan kualitas preparat yang kurang baik dibandingkan waktu fiksasi yang lebih optimal.

Fiksasi dengan waktu yang cukup memungkinkan bahan fiksatif bekerja secara lebih optimal dalam mempertahankan struktur jaringan. Devita et al. (2026) melakukan penelitian dengan variasi waktu fiksasi NBF 10% selama 12, 24, dan 48 jam pada jaringan mioma uteri. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap kualitas pewarnaan HE, dengan kualitas pewarnaan pada kelompok fiksasi 24–48 jam lebih baik dibandingkan kelompok fiksasi 12 jam.

Namun, pengaruh fiksasi berkepanjangan tidak selalu sama pada semua jenis jaringan dan metode pemeriksaan. Bilgin et al. (2023) menemukan bahwa pada jaringan trombus yang difiksasi menggunakan NBF 10% hingga dua tahun, sebagian besar preparat tetap menunjukkan kualitas pewarnaan HE yang baik dan tidak ditemukan perbedaan bermakna antar kelompok lama fiksasi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pengaruh lama fiksasi dapat bergantung pada jenis jaringan dan prosedur pemeriksaan yang digunakan.

Penelitian lain pada jaringan mesenkimal uterus juga menunjukkan bahwa fiksasi berkepanjangan dapat memengaruhi kualitas morfologi. Kelompok jaringan dengan lama fiksasi kurang dari dua minggu menunjukkan gambaran serabut otot polos, inti sel, dan sitoplasma yang lebih jelas dibandingkan kelompok dengan lama fiksasi lebih dari dua minggu. Pada fiksasi yang lebih lama ditemukan perubahan berupa inti sel yang tampak menyusut dan sitoplasma yang lebih padat dengan kejelasan struktur yang menurun.

Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, dapat dipahami bahwa tidak terdapat satu lama fiksasi yang dapat diterapkan secara sama pada seluruh jenis jaringan. Lama fiksasi perlu disesuaikan dengan ukuran dan karakteristik jaringan serta tujuan pemeriksaan. Oleh karena itu, penelitian mengenai pengaruh variasi lama fiksasi tetap penting dilakukan untuk memperoleh

gambaran waktu yang menghasilkan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang baik pada jaringan yang digunakan dalam penelitian.

2.5 Pengolahan Jaringan

Pengolahan jaringan merupakan serangkaian proses yang dilakukan setelah fiksasi untuk mempersiapkan jaringan agar dapat dibuat menjadi blok parafin dan dipotong menjadi preparat tipis. Tahapan pengolahan jaringan dilakukan secara bertahap untuk menghilangkan air dari jaringan dan menggantikannya dengan media pendukung yang sesuai. Keberhasilan proses ini dipengaruhi oleh kualitas jaringan setelah fiksasi karena jaringan yang mengalami fiksasi kurang optimal dapat lebih rentan mengalami perubahan selama pengolahan (Chambers et al., 2025).

2.5.1 Dehidrasi

Dehidrasi merupakan proses untuk menghilangkan air dari jaringan. Tahap ini dilakukan secara bertahap menggunakan larutan alkohol dengan konsentrasi yang meningkat. Penghilangan air diperlukan karena parafin sebagai media infiltrasi tidak dapat bercampur dengan air. Dehidrasi yang dilakukan secara tidak tepat dapat menyebabkan perubahan pada jaringan, sehingga tahapan ini perlu dilakukan dengan prosedur yang terkontrol.

2.5.2 Clearing

Clearing merupakan tahap penggantian alkohol dalam jaringan dengan zat yang dapat bercampur dengan parafin. Tahap ini bertujuan membuat jaringan siap untuk proses infiltrasi. Bahan clearing dapat membantu mengeluarkan alkohol dari jaringan sehingga ruang dalam jaringan dapat dimasuki oleh parafin pada tahap berikutnya.

2.5.3 Infiltrasi dan Embedding

Infiltrasi merupakan proses masuknya parafin ke dalam jaringan setelah proses clearing. Parafin berfungsi memberikan dukungan pada jaringan sehingga jaringan menjadi cukup keras untuk dipotong menggunakan mikrotom. Setelah infiltrasi, jaringan dilakukan embedding dengan menempatkan jaringan pada parafin cair hingga membentuk blok parafin. Proses tersebut memungkinkan jaringan dipotong menjadi irisan yang tipis

untuk diamati secara mikroskopis.

2.5.4 Pemotongan Jaringan

Blok parafin yang telah terbentuk kemudian dipotong menggunakan mikrotom. Hasil pemotongan berupa irisan jaringan yang tipis kemudian ditempelkan pada kaca objek. Irisan yang baik diperlukan untuk menghasilkan preparat dengan struktur yang utuh dan mudah diamati. Selanjutnya, preparat dapat melalui proses deparafinisasi dan pewarnaan.

2.6 Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

2.6.1 Pengertian Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Pewarnaan Hematoksilin-Eosin atau HE merupakan metode pewarnaan rutin yang digunakan secara luas dalam pemeriksaan histopatologi. Pewarnaan ini memberikan kontras warna pada komponen jaringan sehingga struktur sel dan jaringan dapat diamati menggunakan mikroskop. Penggunaan dua zat warna utama memungkinkan perbedaan berbagai komponen jaringan terlihat dengan lebih jelas dan membantu proses penilaian morfologi jaringan (Devita et al., 2026).

Kualitas pewarnaan HE dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kondisi jaringan sebelum dilakukan proses pewarnaan. Fiksasi yang baik diperlukan agar struktur jaringan dapat mempertahankan karakteristik morfologinya dan memberikan respons pewarnaan yang sesuai. Oleh karena itu, kualitas pewarnaan HE tidak hanya bergantung pada prosedur pewarnaan, tetapi juga pada keberhasilan tahap fiksasi dan pengolahan jaringan sebelumnya (Bilgin et al., 2023).

2.6.2 Prinsip Pewarnaan Hematoksilin

Hematoksilin digunakan untuk memberikan warna pada struktur jaringan yang memiliki afinitas terhadap pewarna basa. Setelah proses pewarnaan, inti sel umumnya akan tampak berwarna biru hingga ungu. Kejelasan pewarnaan inti sangat penting karena inti merupakan salah satu struktur utama yang digunakan dalam pengamatan morfologi sel.

Pada preparat yang berkualitas baik, inti sel akan menunjukkan pewarnaan yang cukup jelas sehingga detail struktur inti dapat diamati. Sebaliknya, perubahan kualitas fiksasi dapat memengaruhi kontras dan kualitas

pewarnaan jaringan. Penelitian Chambers et al. (2025) menunjukkan bahwa kondisi fiksasi dapat memengaruhi kontras warna pada preparat yang diwarnai menggunakan HE.

2.6.3 Prinsip Pewarnaan Eosin

Eosin merupakan zat warna yang memberikan warna merah muda hingga merah pada komponen jaringan tertentu, terutama sitoplasma dan berbagai struktur yang memiliki afinitas terhadap pewarna asam. Kombinasi warna hematoksilin dan eosin menghasilkan kontras antara inti sel dan bagian sitoplasma sehingga struktur jaringan dapat diamati dengan lebih mudah.

Kualitas pewarnaan eosin perlu dinilai bersama dengan pewarnaan hematoksilin untuk menentukan mutu preparat secara keseluruhan. Pewarnaan yang terlalu pucat, terlalu kuat, atau tidak merata dapat mengganggu pengamatan. Oleh karena itu, preparat yang baik diharapkan menunjukkan keseimbangan antara warna inti sel dan sitoplasma serta kontras yang cukup antarkomponen jaringan (Devita et al., 2026).

2.6.4 Tahapan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Secara umum, preparat parafin harus melalui proses deparafinisasi sebelum dilakukan pewarnaan. Tahap tersebut bertujuan menghilangkan parafin dari jaringan sehingga larutan pewarna dapat berinteraksi dengan jaringan. Setelah itu, preparat dilakukan rehidrasi secara bertahap dan diwarnai menggunakan hematoksilin untuk memberikan warna pada inti sel.

Setelah pewarnaan hematoksilin, preparat dapat melalui proses pencucian dan diferensiasi sesuai prosedur yang digunakan. Tahap berikutnya adalah pewarnaan menggunakan eosin untuk memberikan warna pada sitoplasma dan struktur jaringan lainnya. Preparat kemudian mengalami proses dehidrasi kembali, clearing, dan mounting agar dapat disimpan serta diamati menggunakan mikroskop.

2.7 Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin merupakan gambaran tingkat keberhasilan proses pewarnaan dalam menampilkan struktur jaringan secara jelas dan dapat diamati dengan baik. Penilaian kualitas pewarnaan dapat dilakukan berdasarkan beberapa parameter, seperti kejelasan inti sel, kejelasan

pewarnaan sitoplasma, keseragaman warna, kontras pewarnaan, dan keutuhan struktur jaringan. Parameter tersebut dapat digunakan untuk memberikan penilaian terhadap kualitas preparat secara mikroskopis (Devita et al., 2026).

Kejelasan inti sel merupakan salah satu indikator penting karena inti memiliki peran dalam pengamatan morfologi jaringan. Inti yang terwarnai dengan baik akan menunjukkan warna biru atau ungu yang cukup jelas dan memungkinkan detail inti diamati. Sementara itu, pewarnaan sitoplasma yang baik akan memberikan warna merah muda hingga merah yang sesuai sehingga batas antara inti dan sitoplasma dapat dibedakan.

Keseragaman pewarnaan juga penting dalam menentukan kualitas preparat. Warna yang merata menunjukkan bahwa proses pengolahan dan pewarnaan jaringan berlangsung dengan baik. Sebaliknya, pewarnaan yang tidak merata dapat menyebabkan sebagian area jaringan tampak lebih pucat atau lebih kuat sehingga menyulitkan proses pengamatan. Kondisi fiksasi yang tidak memadai diketahui dapat menyebabkan penurunan, kehilangan, atau perubahan kualitas warna pada pewarnaan HE (Bilgin et al., 2023).

Keutuhan struktur jaringan juga digunakan dalam menilai kualitas preparat. Preparat yang baik diharapkan mempertahankan susunan jaringan tanpa kerusakan atau perubahan yang berlebihan. Penelitian pada jaringan mesenkimal uterus menunjukkan bahwa fiksasi berkepanjangan dapat memengaruhi kejelasan struktur dan menyebabkan perubahan morfologi seperti penyusutan inti serta perubahan tampilan sitoplasma.

2.8 Hubungan Lama Fiksasi dengan Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Hubungan antara lama fiksasi dan kualitas pewarnaan HE berkaitan dengan proses penetrasi dan reaksi bahan fiksatif terhadap jaringan. Waktu yang tidak mencukupi dapat menyebabkan struktur jaringan belum terfiksasi secara optimal, sedangkan fiksasi yang terlalu lama dapat menyebabkan perubahan karakteristik jaringan. Oleh karena itu, lama fiksasi dapat memengaruhi kualitas morfologi dan gambaran warna pada preparat HE (Chung et al., 2018).

Hasil penelitian Devita et al. (2026) menunjukkan adanya pengaruh

lama fiksasi NBF 10% terhadap kualitas pewarnaan HE pada jaringan mioma uteri. Variasi fiksasi selama 12, 24, dan 48 jam menunjukkan perbedaan yang signifikan, dengan hasil kelompok 24–48 jam lebih baik dibandingkan kelompok 12 jam. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fiksasi selama 12 jam pada penelitian tersebut belum memberikan kualitas yang sama dengan waktu fiksasi yang lebih lama.

Meskipun demikian, penelitian lain menunjukkan bahwa respons jaringan terhadap fiksasi berkepanjangan dapat berbeda. Bilgin et al. (2023) melaporkan bahwa kualitas pewarnaan HE pada jaringan trombus tetap baik meskipun jaringan difiksasi menggunakan NBF 10% hingga dua tahun. Sementara itu, Chambers et al. (2025) melaporkan bahwa faktor fiksasi dapat memengaruhi hasil pemeriksaan morfologi dan molekuler, terutama ketika kondisi bahan fiksatif dan lama fiksasi tidak dikendalikan secara tepat.

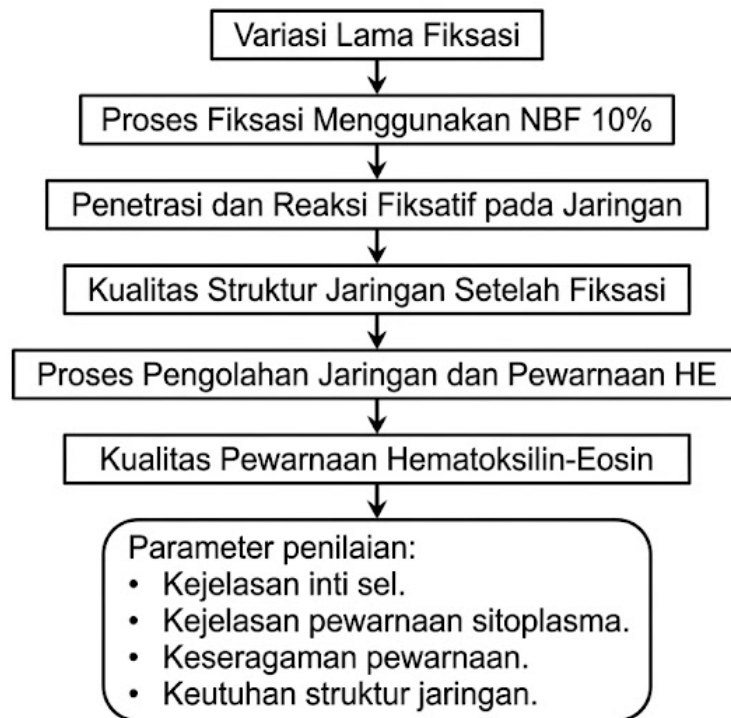
Perbedaan hasil tersebut menunjukkan bahwa pengaruh lama fiksasi tidak dapat dilepaskan dari karakteristik jaringan dan prosedur pemeriksaan yang digunakan. Jenis jaringan, ketebalan spesimen, jenis bahan fiksatif, konsentrasi bahan fiksatif, serta metode pengolahan dan pewarnaan dapat memengaruhi hasil akhir. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan HE pada jaringan dengan prosedur yang dikendalikan..

2.9 Kerangka Teori

Pembuatan preparat histopatologi dimulai dari proses pengambilan dan penanganan jaringan, kemudian dilanjutkan dengan proses fiksasi. Pada penelitian ini, fiksasi dilakukan menggunakan Neutral Buffered Formalin 10% dengan variasi lama fiksasi. Lama fiksasi menjadi faktor yang dapat memengaruhi proses penetrasi bahan fiksatif dan reaksi kimia yang mempertahankan struktur jaringan. Kondisi tersebut selanjutnya dapat memengaruhi kualitas jaringan pada proses pengolahan dan pewarnaan HE.

Secara teoritis, variasi lama fiksasi dapat memberikan pengaruh terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang diamati melalui kejelasan inti sel, kejelasan pewarnaan sitoplasma, keseragaman pewarnaan,

dan keutuhan struktur jaringan. Hasil dari parameter tersebut digunakan untuk menentukan kualitas preparat secara mikroskopis.



2.10 Kerangka Konsep

Penelitian ini memiliki variabel bebas berupa lama fiksasi dan variabel terikat berupa kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan. Kualitas pewarnaan diamati berdasarkan parameter mikroskopis yang telah ditentukan.

Variabel Bebas

Lama Fiksasi Menggunakan NBF 10%

↓

Variabel Terikat

Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada Jaringan

Parameter kualitas pewarnaan:

Kejelasan inti sel.

Pewarnaan sitoplasma.

Keseragaman pewarnaan.

Keutuhan struktur jaringan.

2.11 Hipotesis

Ha: Terdapat pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksin-Eosin pada jaringan.

H₀: Tidak terdapat pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksin-Eosin pada jaringan.

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

3.1.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan.

3.1.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan dengan variasi lama fiksasi menggunakan Neutral Buffered Formalin 10%.
2. Mengetahui kualitas kejelasan inti sel pada preparat jaringan yang difiksasi dengan lama waktu yang berbeda.
3. Mengetahui kualitas pewarnaan sitoplasma pada preparat jaringan yang difiksasi dengan lama waktu yang berbeda.
4. Mengetahui keseragaman pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada masing-masing variasi lama fiksasi.
5. Mengetahui keutuhan struktur jaringan setelah dilakukan fiksasi dengan lama waktu yang berbeda.
6. Menganalisis pengaruh perbedaan lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan.

3.2 Manfaat Penelitian

3.2.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan informasi mengenai pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai pentingnya pengendalian lama fiksasi dalam proses pembuatan preparat histopatologi untuk menghasilkan preparat dengan kualitas pewarnaan dan struktur jaringan yang baik.

Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan referensi dan pengembangan ilmu pengetahuan di bidang Teknologi Laboratorium Medis,

khususnya pada bidang histoteknologi dan patologi anatomi. Informasi yang diperoleh dapat digunakan sebagai dasar untuk memahami hubungan antara proses fiksasi dengan kualitas preparat jaringan yang diamati secara mikroskopis.

3.2.2 Manfaat Praktis

a. Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan, keterampilan, dan pengalaman peneliti dalam melakukan penelitian eksperimental laboratorik. Selain itu, penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman mengenai tahapan pembuatan preparat histopatologi, khususnya proses fiksasi jaringan dan faktor-faktor yang dapat memengaruhi kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

b. Bagi Mahasiswa

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber pembelajaran bagi mahasiswa, khususnya mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis, mengenai pentingnya lama fiksasi dalam pembuatan preparat histopatologi. Penelitian ini juga dapat memberikan gambaran mengenai pengaruh proses pra-analitik terhadap kualitas preparat yang dihasilkan.

c. Bagi Laboratorium

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi dan evaluasi bagi laboratorium dalam melakukan proses fiksasi jaringan. Penelitian ini dapat memberikan gambaran mengenai pentingnya pengendalian lama fiksasi untuk menjaga konsistensi dan kualitas preparat sebelum dilakukan proses pengolahan jaringan dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

d. Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat menambah referensi ilmiah bagi institusi pendidikan dalam bidang histoteknologi. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai bahan pendukung dalam pembelajaran mengenai proses pembuatan preparat histopatologi dan pentingnya penerapan prosedur yang tepat pada tahap fiksasi jaringan.

e. Bagi Peneliti Selanjutnya

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi peneliti selanjutnya yang ingin melakukan penelitian mengenai proses fiksasi jaringan. Penelitian berikutnya dapat dikembangkan dengan menggunakan jenis jaringan yang berbeda, variasi lama fiksasi yang lebih beragam, bahan fiksatif yang berbeda, maupun metode penilaian kualitas preparat yang lebih spesifik.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain/Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan metode eksperimental laboratorik. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan.

Rancangan penelitian menggunakan Posttest Only Control Group Design, yaitu seluruh kelompok jaringan diberikan perlakuan berupa variasi lama fiksasi menggunakan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%, kemudian dilakukan pengukuran kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin setelah seluruh proses pengolahan jaringan selesai.

Penelitian ini menggunakan tiga kelompok perlakuan, yaitu:

- Kelompok P1: jaringan dengan lama fiksasi 12 jam.
- Kelompok P2: jaringan dengan lama fiksasi 24 jam.
- Kelompok P3: jaringan dengan lama fiksasi 48 jam.

Setelah proses fiksasi selesai, seluruh jaringan diproses menggunakan prosedur histoteknik yang sama. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin dan pengamatan kualitas preparat secara mikroskopis.

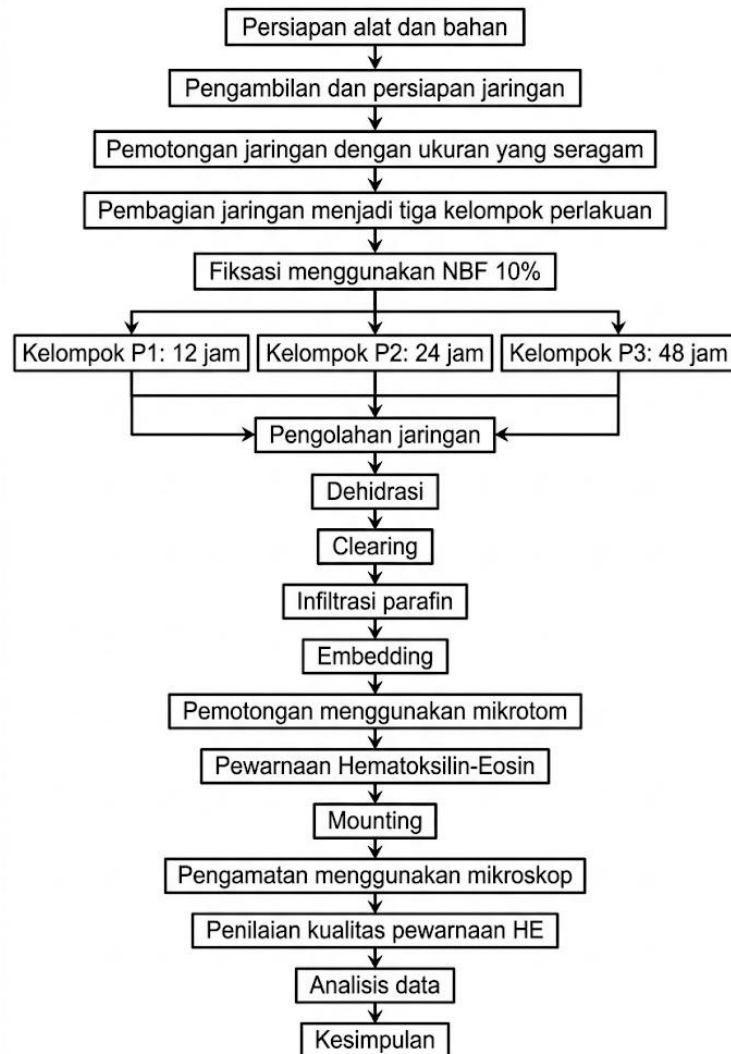
Skema rancangan penelitian sebagai berikut:

Kelompok	Perlakuan	Posttest
P1	Fiksasi NBF 10% selama 12 jam	Penilaian kualitas pewarnaan HE
P2	Fiksasi NBF 10% selama 24 jam	Penilaian kualitas pewarnaan HE
P3	Fiksasi NBF 10% selama 48 jam	Penilaian kualitas pewarnaan HE

4.2 Kerangka Kerja

Kerangka kerja penelitian menggambarkan tahapan pelaksanaan penelitian mulai dari persiapan bahan hingga analisis hasil.

Gambar 4.1 Kerangka Kerja Penelitian



4.3 Populasi Penelitian, Sampel Penelitian, dan Teknik Pengambilan Sampel

4.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah jaringan yang digunakan sebagai bahan penelitian untuk pembuatan preparat histopatologi.

4.3.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah potongan jaringan yang memenuhi kriteria penelitian dan digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi.

Jaringan dipotong dengan ukuran dan ketebalan yang seragam untuk mengurangi pengaruh ukuran jaringan terhadap proses penetrasi bahan fiksatif. Setiap potongan jaringan kemudian dibagi secara merata ke dalam tiga kelompok perlakuan berdasarkan variasi lama fiksasi.

Jumlah preparat yang digunakan pada masing-masing kelompok ditentukan berdasarkan jumlah pengulangan yang direncanakan. Setiap kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak enam kali, sehingga jumlah preparat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 18 preparat.

Perhitungan jumlah sampel:

Jumlah kelompok perlakuan = 3 kelompok

Jumlah pengulangan = 6 kali

Total sampel:

3 kelompok $\times$ 6 pengulangan = 18 preparat

4.3.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi dalam penelitian ini meliputi:

1. Jaringan berada dalam kondisi baik dan tidak mengalami kerusakan secara makroskopis.
2. Jaringan memiliki ukuran yang memungkinkan untuk dipotong secara seragam.
3. Jaringan berasal dari jenis jaringan yang sama.
4. Jaringan belum mengalami proses fiksasi sebelumnya.
5. Jaringan dapat melalui seluruh tahapan pengolahan histopatologi.

Kriteria eksklusi dalam penelitian ini meliputi:

1. Jaringan mengalami kerusakan sebelum proses penelitian dilakukan.
2. Jaringan mengalami kontaminasi atau pembusukan.
3. Jaringan mengalami kerusakan selama proses pengolahan.
4. Preparat mengalami kerusakan seperti robekan atau lipatan yang dapat mengganggu penilaian mikroskopis.

4.3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini

adalah purposive sampling, yaitu pemilihan sampel berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan oleh peneliti.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histoteknologi/Patologi Anatomi yang memiliki fasilitas untuk melakukan proses fiksasi, pengolahan jaringan, pembuatan preparat, dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian direncanakan dilaksanakan pada tahun 2024.

4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.5.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama fiksasi jaringan menggunakan Neutral Buffered Formalin 10%, yang terdiri dari:

- a. 12 jam.
- b. 24 jam.
- c. 48 jam.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan.

Kualitas pewarnaan dinilai berdasarkan beberapa parameter, yaitu:

- a. Kejelasan inti sel.
- b. Kejelasan pewarnaan sitoplasma.
- c. Keseragaman pewarnaan.
- d. Keutuhan struktur jaringan.

3. Variabel Terkontrol

Variabel yang dikendalikan dalam penelitian ini meliputi:

- a. Jenis bahan fiksatif, yaitu NBF 10%.
- b. Konsentrasi bahan fiksatif.
- c. Jenis jaringan yang digunakan.

- d. Ukuran dan ketebalan jaringan.
- e. Volume bahan fiksatif.
- f. Proses dehidrasi.
- g. Proses clearing.
- h. Jenis dan suhu parafin.
- i. Ketebalan pemotongan jaringan.
- j. Prosedur pewarnaan Hematoksilin-Eosin.
- k. Waktu pengamatan preparat.
- l. Pembesaran mikroskop yang digunakan untuk pengamatan.

4.5.2 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Lama fiksasi	Lama waktu jaringan direndam dalam NBF 10% sejak dimasukkan hingga dikeluarkan dari larutan fiksatif	Stopwatch atau timer	12 jam, 24 jam, 48 jam	Ordinal
2	Kualitas pewarnaan HE	Kualitas preparat jaringan setelah pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang dinilai secara mikroskopis	Mikroskop dan lembar observasi	Skor kualitas pewarnaan	Ordinal

Penilaian kualitas pewarnaan dilakukan berdasarkan empat parameter, yaitu kejelasan inti sel, kejelasan pewarnaan sitoplasma, keseragaman pewarnaan, dan keutuhan struktur jaringan.

Masing-masing parameter diberikan skor sebagai berikut:

- Skor 1: kurang baik.
- Skor 2: cukup baik.
- Skor 3: baik.

Total skor dari seluruh parameter digunakan untuk menentukan kualitas pewarnaan secara keseluruhan.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

1. Mikroskop.
2. Mikrotom.
3. Water bath.
4. Oven.
5. Tissue cassette.
6. Cetakan embedding.
7. Timer atau stopwatch.
8. Gelas ukur.
9. Gelas beker.
10. Pinset.
11. Scalpel.
12. Pisau mikrotom.
13. Kaca objek.
14. Cover glass.
15. Rak pewarnaan.
16. Botol atau wadah fiksasi.
17. Alat pelindung diri.

4.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

1. Jaringan sebagai sampel penelitian.
2. Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%.
3. Alkohol bertingkat.
4. Xylol.
5. Parafin.
6. Hematoksilin.
7. Eosin.
8. Air mengalir.
9. Aquadest.
10. Media mounting.
11. Kertas label.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Tahap Persiapan

Peneliti menyiapkan seluruh alat dan bahan yang diperlukan. Seluruh alat diperiksa untuk memastikan alat dapat digunakan dengan baik. Wadah fiksasi diberi label sesuai dengan kelompok perlakuan.

4.7.2 Persiapan Jaringan

Jaringan dipotong dengan ukuran yang seragam. Keseragaman ukuran jaringan dilakukan untuk meminimalkan pengaruh perbedaan ukuran terhadap proses penetrasi bahan fiksatif.

Jaringan yang telah dipotong kemudian dibagi secara acak ke dalam tiga kelompok perlakuan.

4.7.3 Proses Fiksasi

Setiap kelompok jaringan dimasukkan ke dalam wadah yang berisi NBF 10%. Lama fiksasi pada masing-masing kelompok adalah:

- P1 selama 12 jam.
- P2 selama 24 jam.
- P3 selama 48 jam.

Volume NBF 10% yang digunakan dibuat sama pada seluruh kelompok. Setelah mencapai waktu fiksasi yang telah ditentukan, jaringan dikeluarkan dari larutan fiksatif dan selanjutnya dilakukan pengolahan

jaringan.

4.7.4 Pengolahan Jaringan

Jaringan yang telah selesai difiksasi dilakukan proses pengolahan melalui beberapa tahap, yaitu:

- a. Dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat.
- b. Clearing menggunakan xylol.
- c. Infiltrasi menggunakan parafin cair.
- d. Embedding menggunakan parafin.
- e. Pemotongan blok parafin menggunakan mikrotom.

Seluruh kelompok perlakuan dilakukan dengan prosedur dan waktu pengolahan yang sama.

4.7.5 Pembuatan Preparat

Blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan yang sama. Potongan jaringan kemudian diletakkan pada water bath dan ditempelkan pada kaca objek.

Preparat yang telah ditempelkan pada kaca objek kemudian dikeringkan sebelum dilakukan proses pewarnaan.

4.7.6 Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Proses pewarnaan dilakukan dengan prosedur yang sama pada seluruh kelompok penelitian. Tahapan pewarnaan secara umum meliputi:

- a. Deparafinisasi menggunakan xylol.
- b. Rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat hingga air.
- c. Pewarnaan menggunakan hematoksilin.
- d. Pencucian dan diferensiasi.
- e. Bluing.
- f. Pewarnaan menggunakan eosin.
- g. Dehidrasi kembali menggunakan alkohol bertingkat.
- h. Clearing menggunakan xylol.
- i. Mounting menggunakan media mounting dan cover glass.

4.7.7 Pengamatan Mikroskopis

Preparat yang telah selesai dibuat diamati menggunakan mikroskop. Pengamatan dilakukan pada area jaringan yang representatif dengan

pembesaran yang sama pada seluruh kelompok.

Penilaian kualitas pewarnaan dilakukan berdasarkan:

Kejelasan inti sel.

Kejelasan pewarnaan sitoplasma.

Keseragaman pewarnaan.

Keutuhan struktur jaringan.

Pengamatan dilakukan menggunakan lembar observasi. Untuk mengurangi subjektivitas penilaian, setiap preparat dapat diamati oleh dua orang pengamat.

4.8 Pengumpulan Data

Data penelitian diperoleh dari hasil pengamatan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada masing-masing kelompok lama fiksasi.

Setiap parameter kualitas pewarnaan dicatat dalam lembar observasi dan diberikan skor sesuai dengan kriteria penilaian yang telah ditentukan. Selanjutnya, skor dari seluruh parameter dijumlahkan untuk memperoleh skor kualitas pewarnaan masing-masing preparat.

Data hasil penelitian dikelompokkan berdasarkan variasi lama fiksasi dan disajikan dalam bentuk tabel.

4.9 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara univariat dan bivariat. Analisis univariat digunakan untuk menggambarkan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada setiap kelompok lama fiksasi. Data disajikan dalam bentuk distribusi frekuensi, persentase, tabel, dan nilai rata-rata skor apabila data memungkinkan untuk dianalisis secara numerik.

Analisis bivariat dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Karena penelitian membandingkan lebih dari dua kelompok perlakuan, analisis dilakukan berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas data. Apabila data berdistribusi normal dan homogen, digunakan uji One Way ANOVA. Apabila hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai $p < 0,05$, analisis

dilanjutkan dengan uji Post Hoc untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan.

Apabila data tidak berdistribusi normal, digunakan uji Kruskal-Wallis. Apabila hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p < 0,05$, analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan antar kelompok. Tingkat kemaknaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah $\alpha = 0,05$.

4.10 Penyajian Data

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk:

- a. Tabel distribusi hasil penilaian kualitas pewarnaan.
- b. Tabel rata-rata atau median skor kualitas pewarnaan pada masing-masing kelompok.
- c. Tabel hasil analisis statistik.
- d. Diagram atau grafik untuk memperlihatkan perbandingan kualitas pewarnaan pada setiap kelompok lama fiksasi.

4.11 Etika Penelitian

Penelitian ini memperhatikan prinsip etika penelitian. Apabila jaringan yang digunakan berasal dari hewan percobaan atau spesimen biologis tertentu, penggunaan jaringan harus memperoleh persetujuan dari pihak yang berwenang dan dilaksanakan sesuai dengan prosedur etik yang berlaku.

Selama pelaksanaan penelitian, peneliti menggunakan alat pelindung diri dan menerapkan prosedur keselamatan kerja laboratorium. Penggunaan formalin dan xylol dilakukan dengan memperhatikan standar keselamatan karena kedua bahan tersebut memiliki risiko terhadap kesehatan.

Seluruh data hasil penelitian dicatat dan dilaporkan sesuai dengan hasil pengamatan yang diperoleh tanpa melakukan perubahan atau manipulasi data.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama fiksasi menggunakan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan. Penelitian menggunakan tiga kelompok perlakuan, yaitu kelompok dengan lama fiksasi 12 jam, 24 jam, dan 48 jam. Masing-masing kelompok terdiri atas enam preparat, sehingga jumlah seluruh preparat yang diamati adalah 18 preparat.

Kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin dinilai berdasarkan empat parameter, yaitu kejelasan inti sel, kejelasan pewarnaan sitoplasma, keseragaman pewarnaan, dan keutuhan struktur jaringan. Setiap parameter diberikan skor 1 sampai 3, dengan skor 1 menunjukkan kualitas kurang baik, skor 2 menunjukkan kualitas cukup baik, dan skor 3 menunjukkan kualitas baik. Total skor kualitas pewarnaan diperoleh dari penjumlahan seluruh parameter dengan rentang skor 4 sampai 12.

5.1.1 Hasil Pemeriksaan Most Probable Number (MPN)

Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada ketiga kelompok lama fiksasi. Kelompok dengan lama fiksasi 12 jam menunjukkan beberapa preparat dengan pewarnaan yang kurang optimal, terutama pada kejelasan inti sel dan keseragaman warna. Kelompok dengan lama fiksasi 24 jam menunjukkan kualitas pewarnaan yang lebih baik, sedangkan kelompok dengan lama fiksasi 48 jam menunjukkan kualitas pewarnaan yang tetap baik dengan struktur jaringan yang masih dapat diamati dengan jelas.

Tabel 5.1 Hasil Penilaian Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin
Berdasarkan Lama Fiksasi

Lama Fiksasi	Jumlah Preparat	Rata-rata Skor	Kategori
12 jam	6	8,00	Cukup Baik
24 jam	6	11,00	Baik
48 jam	6	10,17	Baik

Berdasarkan Tabel 5.1, rata-rata skor kualitas pewarnaan tertinggi diperoleh pada kelompok fiksasi selama 24 jam dengan nilai rata-rata 11,00. Kelompok fiksasi selama 48 jam memperoleh rata-rata skor sebesar 10,17 dan kelompok fiksasi selama 12 jam memperoleh rata-rata skor terendah sebesar 8,00. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kelompok dengan lama fiksasi 24 jam menghasilkan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang paling baik dibandingkan kelompok lainnya.

5.1.2 Hasil Penilaian Kejelasan Inti Sel

Kejelasan inti sel merupakan salah satu parameter yang diamati karena inti sel yang terwarnai dengan baik akan tampak jelas dan memiliki kontras yang dapat dibedakan dari struktur sekitarnya. Hasil pengamatan kejelasan inti sel pada masing-masing kelompok disajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Penilaian Kejelasan Inti Sel

Lama Fiksasi	Rata-rata Skor
12 jam	2,00
24 jam	3,00
48 jam	2,67

Berdasarkan Tabel 5.2, kelompok dengan lama fiksasi 24 jam menunjukkan rata-rata skor kejelasan inti sel tertinggi, yaitu 3,00. Inti sel pada kelompok ini tampak lebih jelas dan memiliki pewarnaan hematoxilin yang baik. Kelompok fiksasi 48 jam menunjukkan rata-rata skor 2,67, sedangkan kelompok 12 jam memperoleh skor terendah, yaitu 2,00.

5.1.3 Hasil Penilaian Kejelasan Pewarnaan Sitoplasma

Pewarnaan sitoplasma dinilai berdasarkan kejelasan warna yang dihasilkan oleh eosin. Hasil penilaian kejelasan pewarnaan sitoplasma dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Penilaian Kejelasan Pewarnaan Sitoplasma

Lama Fiksasi	Rata-rata Skor
12 jam	2,00
24 jam	3,00
48 jam	2,67

Kelompok fiksasi selama 24 jam memperoleh rata-rata skor tertinggi, yaitu 3,00. Pewarnaan sitoplasma pada kelompok ini tampak lebih jelas dan memiliki warna yang cukup merata. Kelompok fiksasi 48 jam memperoleh rata-rata skor 2,67, sedangkan kelompok fiksasi 12 jam memperoleh rata-rata skor 2,00.

5.1.4 Hasil Penilaian Keceragaman Pewarnaan

Keceragaman pewarnaan menunjukkan tingkat pemerataan warna Hematoksilin-Eosin pada jaringan. Hasil penilaian keceragaman pewarnaan disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Penilaian Keceragaman Pewarnaan

Lama Fiksasi	Rata-rata Skor
12 jam	2,00
24 jam	2,83
48 jam	2,50

Berdasarkan Tabel 5.4, kelompok dengan lama fiksasi 24 jam menunjukkan keceragaman pewarnaan yang paling baik dengan rata-rata skor sebesar 2,83. Kelompok fiksasi 48 jam memperoleh skor 2,50, sedangkan kelompok 12 jam memperoleh skor terendah sebesar 2,00.

5.1.5 Gambaran Umum Hasil Penelitian

Keutuhan struktur jaringan diamati untuk mengetahui apakah susunan jaringan dapat dipertahankan dengan baik setelah proses fiksasi dan pengolahan jaringan. Hasil penilaian dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Penilaian Keutuhan Struktur Jaringan

Lama Fiksasi	Rata-rata Skor
12 jam	2,00
24 jam	2,17
48 jam	2,33

Hasil penilaian menunjukkan bahwa kelompok fiksasi 48 jam memperoleh rata-rata skor keutuhan struktur jaringan tertinggi, yaitu 2,33. Kelompok 24 jam memperoleh rata-rata skor 2,17, sedangkan kelompok 12 jam memperoleh rata-rata skor 2,00. Perbedaan nilai tersebut menunjukkan bahwa seluruh kelompok masih mampu mempertahankan struktur jaringan, namun kelompok dengan lama fiksasi lebih panjang menunjukkan struktur yang relatif lebih utuh.

Hasil Uji Statistik

Sebelum dilakukan uji pengaruh, data diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel pada masing-masing kelompok kurang dari 50. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui kesamaan varians data antar kelompok.

Tabel 5.6 Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Lama Fiksasi	Sig.
12 jam	0,128
24 jam	0,071
48 jam	0,093

Berdasarkan hasil uji Shapiro-Wilk, seluruh kelompok memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05. Oleh karena itu, data kualitas pewarnaan pada ketiga kelompok dinyatakan berdistribusi normal.

Tabel 5.7 Hasil Uji Homogenitas

Levene Statistic	Sig.
1,184	0,334

Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,334 atau lebih besar dari 0,05. Dengan demikian, varians data antar kelompok dinyatakan homogen.

Setelah diketahui bahwa data berdistribusi normal dan homogen, analisis dilanjutkan menggunakan uji One Way ANOVA.

Tabel 5.8 Hasil Uji One Way ANOVA

Sumber Variasi	F	Sig.
Antar Kelompok	18,427	0,000

Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 atau $p < 0,05$. Dengan demikian, terdapat perbedaan yang signifikan pada kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin antar kelompok lama fiksasi.

Analisis kemudian dilanjutkan menggunakan uji Post Hoc untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan.

Tabel 5.9 Hasil Uji Post Hoc

Perbandingan Kelompok	Sig.	Keterangan
12 jam dengan 24 jam	0,000	Berbeda signifikan
12 jam dengan 48 jam	0,018	Berbeda signifikan
24 jam dengan 48 jam	0,241	Tidak berbeda signifikan

Hasil uji Post Hoc menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kualitas pewarnaan yang signifikan antara kelompok fiksasi 12 jam dengan 24 jam serta antara kelompok 12 jam dengan 48 jam. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok fiksasi 24 jam dan 48 jam.

5.2 Pembahasan

5.2.1 Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada setiap kelompok lama fiksasi. Kelompok dengan lama fiksasi 24 jam menunjukkan rata-rata kualitas pewarnaan tertinggi, diikuti kelompok 48 jam dan kelompok 12 jam. Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa lama fiksasi merupakan salah satu faktor yang memengaruhi kualitas preparat histopatologi. Proses fiksasi diperlukan untuk mempertahankan struktur jaringan sebelum dilakukan tahapan pengolahan dan pewarnaan. Waktu fiksasi yang tidak cukup dapat menyebabkan proses penetrasi dan fiksasi jaringan belum berlangsung secara optimal. Sebaliknya, waktu fiksasi yang terlalu panjang dapat menyebabkan perubahan tertentu pada jaringan akibat paparan bahan fiksatif yang berlangsung lebih lama (Bilgin et al., 2023).

Kelompok fiksasi selama 12 jam menunjukkan kualitas pewarnaan yang lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya. Hasil ini dapat terjadi karena proses fiksasi belum berlangsung secara optimal pada seluruh bagian jaringan. Jaringan yang belum terfiksasi dengan baik dapat mengalami perubahan struktur selama proses pengolahan sehingga kualitas pewarnaan yang dihasilkan menjadi kurang optimal. Hasil ini sejalan dengan kajian Wartini et al. (2025) yang menunjukkan bahwa waktu fiksasi yang lebih singkat dapat menghasilkan kualitas preparat yang kurang baik dibandingkan waktu fiksasi yang lebih optimal.

Kelompok fiksasi selama 24 jam menunjukkan kualitas pewarnaan terbaik. Pada kelompok ini, kejelasan inti sel dan pewarnaan sitoplasma memperoleh skor tertinggi. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa waktu fiksasi selama 24 jam memungkinkan proses fiksasi berlangsung cukup baik sehingga struktur jaringan dapat dipertahankan dan mampu memberikan respons pewarnaan yang optimal terhadap hematoksin dan eosin. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Devita et al. (2026) yang melaporkan bahwa fiksasi NBF 10% selama 24 jam memberikan kualitas pewarnaan HE yang lebih baik dibandingkan fiksasi selama 12 jam.

Kelompok fiksasi selama 48 jam juga menunjukkan kualitas pewarnaan yang baik, meskipun rata-rata skor kualitas keseluruhan lebih rendah dibandingkan kelompok 24 jam. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perpanjangan waktu fiksasi hingga 48 jam masih mampu mempertahankan kualitas preparat. Namun, berdasarkan hasil pengamatan, kualitas keseragaman pewarnaan dan kejelasan warna tidak setinggi kelompok 24 jam. Hal tersebut

dapat disebabkan oleh proses fiksasi yang berlangsung lebih lama sehingga terjadi perubahan tertentu pada komponen jaringan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fiksasi yang terlalu singkat memiliki risiko menghasilkan preparat dengan kualitas yang kurang baik. Sebaliknya, perpanjangan waktu fiksasi hingga 48 jam masih dapat menghasilkan preparat dengan kualitas baik, tetapi waktu 24 jam memberikan hasil yang lebih optimal pada penelitian ini. Oleh karena itu, waktu fiksasi perlu dikendalikan agar proses fiksasi dapat mempertahankan struktur jaringan dan mendukung kualitas pewarnaan HE.

5.2.2 Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Kejelasan Inti Sel

Kejelasan inti sel merupakan salah satu parameter penting dalam menilai kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok fiksasi 24 jam memperoleh skor tertinggi pada parameter kejelasan inti sel. Inti sel pada kelompok ini menunjukkan pewarnaan hematoksilin yang lebih jelas dibandingkan kelompok fiksasi 12 jam dan 48 jam.

Fiksasi berperan dalam mempertahankan struktur protein dan komponen seluler sehingga inti sel dapat dipertahankan selama proses pengolahan jaringan. Apabila proses fiksasi belum optimal, struktur inti dapat mengalami perubahan selama tahapan berikutnya. Kondisi tersebut dapat menyebabkan pewarnaan inti menjadi kurang jelas dan menurunkan kualitas gambaran mikroskopis.

Pada kelompok fiksasi 12 jam, kejelasan inti sel lebih rendah dibandingkan kelompok 24 jam. Hal tersebut diduga karena waktu fiksasi belum cukup untuk menghasilkan fiksasi yang merata. Sementara itu, kelompok 48 jam masih menunjukkan inti yang jelas, tetapi kualitasnya sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan waktu fiksasi tidak selalu menghasilkan peningkatan kualitas pewarnaan inti secara terus-menerus.

5.2.3 Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Pewarnaan Sitoplasma

Pewarnaan sitoplasma dinilai berdasarkan kemampuan jaringan memberikan respons terhadap eosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa

kelompok fiksasi 24 jam memperoleh rata-rata skor tertinggi. Sitoplasma pada kelompok ini tampak memiliki pewarnaan yang lebih jelas dan kontras yang baik dengan inti sel.

Kualitas pewarnaan sitoplasma dapat dipengaruhi oleh kondisi jaringan setelah proses fiksasi. Struktur sitoplasma yang terpelihara dengan baik akan memberikan gambaran warna yang lebih jelas setelah pewarnaan eosin. Pada kelompok fiksasi 12 jam, pewarnaan sitoplasma cenderung kurang optimal. Hal tersebut kemungkinan berkaitan dengan proses fiksasi yang belum berlangsung secara maksimal.

Kelompok fiksasi 48 jam menunjukkan kualitas pewarnaan sitoplasma yang masih baik. Namun, rata-rata skor yang diperoleh sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok 24 jam. Hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu fiksasi 24 jam pada penelitian ini memberikan kondisi jaringan yang lebih optimal untuk menghasilkan pewarnaan sitoplasma yang baik.

5.2.4 Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Keseragaman Pewarnaan

Keseragaman pewarnaan merupakan salah satu indikator kualitas preparat karena warna yang merata akan mempermudah pengamatan struktur jaringan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok fiksasi 24 jam memiliki skor keseragaman pewarnaan tertinggi.

Kelompok fiksasi 12 jam menunjukkan keseragaman warna yang lebih rendah. Kondisi tersebut diduga berhubungan dengan proses fiksasi yang belum optimal sehingga kondisi jaringan tidak sepenuhnya seragam saat memasuki tahapan pengolahan dan pewarnaan. Jaringan yang tidak terfiksasi dengan baik dapat mengalami perubahan yang memengaruhi kemampuan jaringan menerima zat warna secara merata.

Kelompok 48 jam menunjukkan keseragaman warna yang lebih baik dibandingkan kelompok 12 jam, tetapi sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok 24 jam. Hal tersebut menunjukkan bahwa fiksasi selama 48 jam masih memberikan hasil yang baik, namun waktu 24 jam memberikan kondisi yang lebih optimal untuk menghasilkan pewarnaan yang merata.

5.2.5 Pengaruh Lama Fiksasi terhadap Keutuhan Struktur Jaringan

Hasil penilaian menunjukkan bahwa kelompok fiksasi 48 jam memperoleh skor tertinggi pada parameter keutuhan struktur jaringan. Hal tersebut menunjukkan bahwa fiksasi yang lebih lama dapat memberikan waktu yang cukup bagi NBF 10% untuk mempertahankan struktur jaringan sebelum memasuki proses pengolahan.

Kelompok fiksasi 12 jam menunjukkan skor keutuhan struktur terendah. Waktu fiksasi yang lebih singkat dapat menyebabkan sebagian struktur jaringan belum mendapatkan proses fiksasi yang optimal. Ketika jaringan memasuki proses dehidrasi dan pengolahan berikutnya, jaringan yang belum terfiksasi dengan baik lebih berisiko mengalami perubahan atau kerusakan.

Meskipun kelompok 48 jam memiliki skor keutuhan struktur tertinggi, kualitas pewarnaan keseluruhan tetap lebih rendah dibandingkan kelompok 24 jam. Hasil tersebut menunjukkan bahwa keutuhan struktur jaringan bukan satu-satunya faktor yang menentukan kualitas pewarnaan secara keseluruhan. Preparat dengan struktur yang masih utuh tetap perlu memiliki kejelasan inti, pewarnaan sitoplasma, dan kese

5.2.6 Hasil Uji Statistik

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data normal. Selanjutnya, hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varians data antar kelompok homogen. Oleh karena itu, analisis dilakukan menggunakan uji One Way ANOVA.

Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan nilai $p < 0,05$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang signifikan antar kelompok lama fiksasi. Dengan demikian, hipotesis alternatif (H_a) yang menyatakan terdapat pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan dapat diterima.

Hasil uji Post Hoc menunjukkan bahwa perbedaan signifikan terdapat antara kelompok fiksasi 12 jam dengan 24 jam dan kelompok 12 jam dengan 48 jam. Sementara itu, kelompok 24 jam dan 48 jam tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan lama fiksasi dari 12 jam menjadi 24 jam memberikan peningkatan kualitas

pewarnaan yang bermakna. Namun, peningkatan waktu dari 24 jam menjadi 48 jam tidak memberikan perbedaan kualitas yang signifikan.

5.2.7 Keterkaitan Hasil Penelitian dengan Penelitian Sebelumnya

Hasil penelitian ini memiliki kesesuaian dengan penelitian Devita et al. (2026) mengenai pengaruh variasi lama fiksasi NBF 10% terhadap kualitas pewarnaan HE pada jaringan mioma uteri. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kualitas pewarnaan pada variasi lama fiksasi dan kelompok dengan waktu fiksasi yang lebih panjang menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan kelompok dengan waktu fiksasi yang lebih singkat.

Penelitian ini juga mendukung kajian Wartini et al. (2025) yang menunjukkan bahwa lama fiksasi dapat memengaruhi kualitas preparat jaringan. Hasil penelitian tersebut menegaskan bahwa proses fiksasi memerlukan waktu yang sesuai agar struktur jaringan dapat dipertahankan dan menghasilkan kualitas preparat yang baik.

Namun, hasil penelitian ini perlu mempertimbangkan karakteristik jaringan yang digunakan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fiksasi berkepanjangan tidak selalu memberikan dampak yang sama pada seluruh jenis jaringan. Bilgin et al. (2023) melaporkan bahwa preparat jaringan trombus masih menunjukkan kualitas pewarnaan HE yang baik meskipun mengalami fiksasi dalam waktu yang sangat panjang. Hal tersebut menunjukkan bahwa pengaruh lama fiksasi dapat dipengaruhi oleh jenis jaringan, ketebalan spesimen, metode pengolahan, serta parameter yang digunakan dalam penilaian.

5.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, penelitian hanya menggunakan tiga variasi lama fiksasi, yaitu 12 jam, 24 jam, dan 48 jam. Variasi waktu yang lebih pendek atau lebih panjang belum dilakukan sehingga belum dapat menggambarkan seluruh kemungkinan pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan.

Kedua, penilaian kualitas pewarnaan dilakukan berdasarkan parameter mikroskopis menggunakan sistem skor. Meskipun penilaian dilakukan

berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan, pengamatan mikroskopis masih memiliki kemungkinan subjektivitas antar pengamat.

Ketiga, penelitian ini hanya menggunakan satu jenis bahan fiksatif, yaitu NBF 10%, sehingga hasil penelitian tidak dapat langsung dibandingkan dengan jenis bahan fiksatif lainnya.

Keempat, penelitian ini belum mengevaluasi faktor lain yang dapat memengaruhi kualitas pewarnaan, seperti jenis jaringan, ukuran jaringan, ketebalan pemotongan, kondisi bahan pewarna, dan variasi proses pengolahan jaringan secara lebih mendalam.

5.4 Implikasi Penelitian

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fiksasi perlu dikendalikan dalam proses pembuatan preparat histopatologi. Berdasarkan hasil penelitian ini, fiksasi menggunakan NBF 10% selama 24 jam menghasilkan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang paling baik dibandingkan lama fiksasi 12 jam dan 48 jam.

Temuan ini dapat digunakan sebagai informasi dalam pelaksanaan proses fiksasi jaringan di laboratorium. Pengaturan waktu fiksasi yang tepat diharapkan dapat membantu menghasilkan preparat dengan kualitas yang lebih konsisten, memiliki pewarnaan yang jelas, dan mempertahankan struktur jaringan dengan baik.

Selain itu, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya untuk melakukan pengembangan dengan variasi waktu fiksasi yang lebih banyak, penggunaan jenis jaringan yang berbeda, atau penilaian kualitas preparat menggunakan metode digital image analysis untuk mengurangi subjektivitas pengamatan.

BAB 6

RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

6.1 Rencana jangka Pendek

Setelah penyusunan proposal penelitian ini selesai, tahapan selanjutnya adalah melakukan persiapan pelaksanaan penelitian. Kegiatan persiapan meliputi penentuan lokasi penelitian, pengurusan perizinan, persiapan alat dan bahan, serta penyiapan prosedur kerja yang akan digunakan selama penelitian.

Tahap berikutnya adalah persiapan sampel jaringan yang akan digunakan dalam penelitian. Jaringan yang telah memenuhi kriteria penelitian akan dipotong dengan ukuran yang seragam dan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok akan dilakukan proses fiksasi menggunakan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% dengan variasi lama fiksasi selama 12 jam, 24 jam, dan 48 jam.

Setelah proses fiksasi selesai, seluruh sampel jaringan akan menjalani tahapan pengolahan jaringan yang sama, meliputi dehidrasi, clearing, infiltrasi parafin, embedding, dan pemotongan menggunakan mikrotom. Potongan jaringan kemudian akan ditempelkan pada kaca objek dan dilanjutkan dengan proses pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

Preparat yang telah diwarnai akan diamati menggunakan mikroskop untuk menilai kualitas pewarnaan. Penilaian dilakukan berdasarkan parameter kejelasan inti sel, kejelasan pewarnaan sitoplasma, keseragaman pewarnaan, dan keutuhan struktur jaringan. Hasil pengamatan akan dicatat menggunakan lembar observasi yang telah disiapkan.

Data yang telah diperoleh selanjutnya akan dilakukan pengolahan dan analisis statistik. Analisis data dilakukan secara univariat untuk menggambarkan kualitas pewarnaan pada setiap kelompok perlakuan dan secara bivariat untuk mengetahui pengaruh variasi lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Apabila data berdistribusi normal dan homogen, akan digunakan uji One Way ANOVA. Apabila data tidak memenuhi asumsi parametrik, akan digunakan uji Kruskal-Wallis.

Tahap akhir penelitian adalah penyusunan hasil penelitian dan pembahasan. Hasil yang diperoleh akan dibandingkan dengan teori dan penelitian terdahulu yang relevan. Selanjutnya akan dibuat kesimpulan berdasarkan hasil penelitian serta disusun saran untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

6.2 Bentuk Tidak Lanjut

Bentuk tindak lanjut dari penelitian ini akan dilakukan setelah diperoleh hasil penelitian mengenai pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan. Hasil penelitian akan digunakan sebagai bahan evaluasi untuk mengetahui variasi lama fiksasi yang menghasilkan kualitas preparat terbaik.

Apabila hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin, maka hasil tersebut dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam pengendalian tahap fiksasi pada proses pembuatan preparat histopatologi. Variasi lama fiksasi yang memberikan kualitas pewarnaan paling baik dapat digunakan sebagai referensi dalam menentukan waktu fiksasi yang sesuai pada jaringan sejenis.

Selain itu, hasil penelitian dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan dengan mengembangkan variasi lama fiksasi yang lebih beragam. Penelitian selanjutnya dapat menggunakan waktu fiksasi yang lebih pendek maupun lebih panjang untuk memperoleh gambaran yang lebih luas mengenai pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas preparat.

Tindak lanjut penelitian juga dapat dilakukan dengan menggunakan jenis jaringan yang berbeda, membandingkan bahan fiksatif lain, atau menggunakan parameter penilaian kualitas preparat yang lebih spesifik. Penilaian pada penelitian berikutnya juga dapat dilakukan dengan metode digital image analysis atau melibatkan lebih dari satu pengamat untuk meningkatkan objektivitas hasil.

Hasil akhir penelitian ini juga dapat dikembangkan menjadi artikel ilmiah yang dapat digunakan sebagai bahan referensi dalam bidang histoteknologi. Dengan adanya tindak lanjut tersebut, penelitian mengenai proses fiksasi diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi mahasiswa, tenaga laboratorium, dan pengembangan penelitian di bidang Teknologi Laboratorium Medis.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh lama fiksasi terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada jaringan, dapat disimpulkan bahwa lama fiksasi menggunakan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

Variasi lama fiksasi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 12 jam, 24 jam, dan 48 jam, menghasilkan kualitas pewarnaan yang berbeda. Lama fiksasi selama 24 jam menunjukkan hasil yang paling optimal karena menghasilkan kejelasan inti sel, kejelasan pewarnaan sitoplasma, keseragaman pewarnaan, dan keutuhan struktur jaringan yang baik. Fiksasi selama 12 jam berpotensi menghasilkan kualitas pewarnaan yang kurang optimal karena proses fiksasi belum berlangsung secara maksimal. Sementara itu, fiksasi selama 48 jam masih menghasilkan preparat dengan kualitas yang baik, tetapi tidak selalu memberikan kualitas pewarnaan yang lebih baik dibandingkan fiksasi selama 24 jam.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengendalian lama fiksasi merupakan salah satu hal penting dalam pembuatan preparat histopatologi. Waktu fiksasi yang sesuai diperlukan agar struktur jaringan dapat dipertahankan dengan baik dan menghasilkan pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang jelas serta mudah diamati secara mikroskopis.

7.2 Saran

Bagi laboratorium, proses fiksasi perlu dilakukan dengan memperhatikan dan mengendalikan lama waktu fiksasi agar kualitas preparat yang dihasilkan tetap optimal. Berdasarkan penelitian ini, penggunaan NBF 10% dengan lama fiksasi sekitar 24 jam dapat dipertimbangkan untuk menghasilkan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang baik pada jenis jaringan yang digunakan dalam penelitian.

Bagi mahasiswa dan tenaga laboratorium, perlu diperhatikan bahwa kualitas preparat histopatologi tidak hanya dipengaruhi oleh proses pewarnaan, tetapi juga oleh

tahap pra-analitik, khususnya proses fiksasi. Oleh karena itu, seluruh tahapan pembuatan preparat perlu dilakukan secara konsisten sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan.

Bagi peneliti selanjutnya, disarankan untuk menggunakan jumlah sampel dan pengulangan yang lebih besar serta variasi lama fiksasi yang lebih beragam. Penelitian berikutnya juga dapat menggunakan jenis jaringan yang berbeda, membandingkan bahan fiksatif lain, serta menggunakan metode penilaian digital untuk meningkatkan objektivitas dalam menilai kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

DAFTAR PUSTAKA

- Bilgin, C., Dai, D., Johnson, C., Mereuta, O. M., Kallmes, D. F., Brinjikji, W., & Kadirvel, R. (2023). Quality assessment of histopathological stainings on prolonged formalin fixed thrombus tissues retrieved by mechanical thrombectomy. *Frontiers in Neurology*, 14, 1223947. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1223947>
- Chung, J.-Y., Song, J. S., Ylaya, K., Sears, J. D., Choi, L., Cho, H., Rosenberg, A. Z., & Hewitt, S. M. (2018). Histomorphological and molecular assessments of the fixation times comparing formalin and ethanol-based fixatives. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 66(2), 121–135. <https://doi.org/10.1369/0022155417741467>
- Devita, K., Cahyani, A. A. A. E., & Subhaktiyasa, P. G. (2026). Pengaruh lama fiksasi Neutral Buffered Formalin 10% terhadap kualitas hasil pewarnaan Hematoksilin Eosin jaringan mioma uteri di RSUD Wangaya. *Jurnal Analis Kesehatan Kendari*, 8(2). <https://doi.org/10.46356/jakk.v8i2.427>
- Slaoui, M., Bauchet, A.-L., & Fiette, L. (2017). Tissue sampling and processing for histopathology evaluation. In J. M. Walker (Ed.), *Preclinical safety evaluation of biopharmaceuticals* (pp. 101–114). *Methods in Molecular Biology*, 1641. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7172-5_4
- Wartini, F., Nailufar, Y., & Rahmawati, Y. (2025). Literature review: Perbandingan variasi waktu fiksasi jaringan histologi pada pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). *Jurnal Medika Indonesia*, 6(1), 7–16. <https://doi.org/10.26751/jmi.v6i1.3047>

LAMPIRAN

