

PERBANDINGAN FIKSASI LARUTAN BOUIN DAN FORMALIN PADA SEDIAAN PREPARAT HISTOLOGI TESTIS MARMUT

Rusmiatik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Al-Azhar
Jl. Unizar No. 20 Turida Mataram
Email: atikbunda89@gmail.com

ABSTRAK

Fiksasi merupakan salah satu bagian dari beberapa tahapan dalam pembuatan sediaan histologi. Maksud dari dilakukannya fiksasi adalah untuk membuat struktur unsur-unsur jaringan menjadi stabil, tidak mengalami perubahan (*post-mortem*) pasca kematian. Apabila individu mati maka ada dua hal yang bisa merusak struktur jaringan yaitu pengaruh enzim proteolitik dan pengaruh bakteri pembusuk. Larutan fiksatif yang sering digunakan adalah larutan bouin dan formalin. Dalam proses fiksasi dengan larutan bouin yang terdiri dari picrid acid 75 ml, formaldehid 25 ml, acetic acid 5ml, sedangkan untuk formalin digunakan dengan konsentrasi 40%. Dalam proses fiksatif dengan formalin, tidak mengerutkan jaringan tetapi jaringan mengerut karena pengaruh alkohol pada waktu proses dehidrasi. Jaringan yang difiksasi dengan formalin dapat langsung dipindahkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, dan alkohol absolut.

Kata Kunci : Fiksasi, Bouin, Formalin.

PENDAHULUAN

Pembuatan sediaan histologi merupakan pekerjaan rutin yang harus dilakukan oleh para peneliti dan praktisi di bidang biologi, histologi, maupun histokimia. Oleh karena itu alangkah baiknya kalau setiap orang yang bekerja di bidang itu mengenali sifat-sifat dari setiap bagian sel dan setiap macam bahan fiksatif yang akan digunakan. Dalam pembuatan sediaan histologi, sehingga hasilnya menjadi lebih baik.

Fiksasi merupakan salah satu bagian dari beberapa tahapan dalam pembuatan sediaan histologi. Maksud dari dilakukannya fiksasi adalah untuk membuat struktur unsur-unsur jaringan menjadi stabil, tidak mengalami perubahan (*post-mortem*) pasca kematian. Apabila individu mati maka ada dua hal yang bisa merusak struktur jaringan yaitu

pengaruh enzim proteolitik dan pengaruh bakteri pembusuk.

Dengan fiksasi, jaringan lebih tahan terhadap perlakuan dan dapat menaikkan indeks bias jaringan. Jenis bahan fiksatif yang digunakan biasanya tergantung pada jenis pewarnaan yang akan dipakai nantinya (Anonim, 2000).

Ada dua macam jenis bahan fiksatif :

- Sederhana, terdiri dari satu macam zat seperti formalin, etanol, asam cuka, bekromat dan sublimat.
- Campuran, mengandung lebih dari satu macam zat misalnya larutan bouin, zenker, hely, larutan carnoy.

Larutan fiksatif yang sering digunakan adalah larutan bouin dan formalin. Dalam proses fiksasi dengan larutan bouin yang terdiri dari picrid acid 75 ml, formaldehid 25 ml, acetic acid 5ml, sedangkan untuk formalin di

gunakan dengan konsentrasi 40%.

Dalam proses fiksatif dengan formalin, tidak mengkerutkan jaringan tetapi jaringan mengkerut karena pengaruh alkohol pada waktu proses dehidrasi. Jaringan yang di fiksasi dengan formalin dapat langsung di pindahkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, dan alkohol absolut.

Formalin dapat membuat protein dalam jaringan menjadi lebih asam dari pada menggunakan fiksatif alkohol, oleh karena itu protein yang difiksasi dengan formalin akan mempunyai afinitas yang lebih baik terhadap zat-zat warna basa. Sedangkan dalam proses fiksasi dengan larutan bouin, mempunyai kemampuan untuk penetrasi ke dalam jaringan lebih cepat pada nukleus dan jaringan ikat akan terpulas dengan baik, tetapi jika waktu fiksasi yang di gunakan terlalu lama, jaringan menjadi rapuh dan sukar untuk di iris. Larutan bouin dapat di simpan dalam jangka waktu yang cukup lama dan digunakan sewaktu-waktu (Suntoro.S.H, 1983).

Berdasarkan informasi inilah penyusun ingin mencoba melakukan studi tentang perbandingan hasil fiksasi dengan larutan bouin dan formalin dalam pembuatan preparat testis marmut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *true* experimental yaitu melalui

experimen di laboratorium. Metode ini dipilih untuk memecahkan masalah yang ada melakukan beberapa percobaan, mengumpulkan data, menganalisa, dan menarik kesimpulan.

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium terpadu 1 fakultas kedokteran, Universitas Islam Al-Azhar Mataram. Penelitian dilakukan selama 30 hari. Sampel penelitian berupa organ testis dari 12 ekor marmut jantan dengan melakukan pembedahan (Seksio). Data yang dikumpulkan berupa hasil pengamatan mikroskopis dengan membandingkan ciri-ciri morfologi yang baik untuk hasil fiksasi dari masing-masing sample yang mendapat perlakuan dengan menggunakan bahan fiksatif yang berbeda. Sebelum dilakukan pembedahan untuk mengambil jaringan yang diperlukan, hewan percobaan di bius dengan menggunakan kloroform atau ether (Narkose)

- Organ yang akan dipakai dikeluarkan dengan hati-hati selanjutnya dicuci dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9 %)
- Jaringan yang diambil sesedikit mungkin dan seperlunya untuk memudahkan pekerjaan berikutnya
- Pengambilan sampel jaringan dikerjakan dengan pisau tajam (Skalpel) sehingga tidak merusak sel-sel dan susunan jaringan itu sendiri.

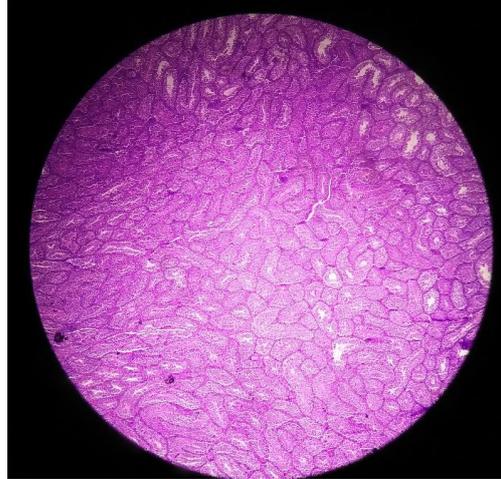
Tehnik Fiksasi

- Tuangkan larutan fiksatif pada botol fiksasi yang sudah disediakan
- Masukkan sampel organ testis kedalam botol fiksasi, kemudian tutup dengan aluminium foil, bila larutan fiksatif belum menutupi seluruh permukaan organ perlu dituangkan kembali sampai seluruh permukaan sampel tertutup
- Beri label dan catat waktu dimulainya fiksasi, atau pasang timer bel. Waktu untuk fiksasi dengan larutan bouin selama 2 – 10 jam tergantung jaringan apa yang di fiksasi.
- Bila waktu fiksasi sudah cukup, angkat sampel dan bilas dengan alkohol 70% terutama yang di fiksasi dengan larutan bouin karena jaringan berwarna kekuningan.

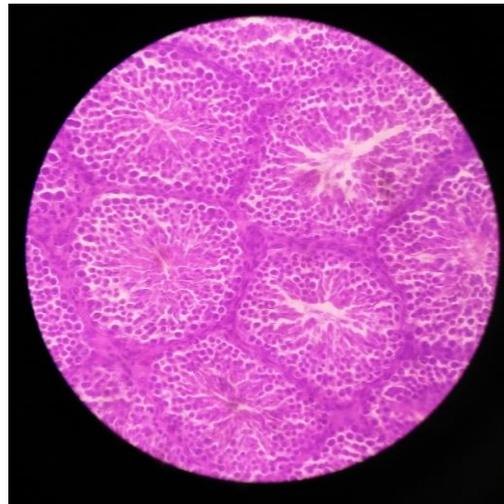
HASIL PENELITIAN

Dari data yang diperoleh dilihat perbedaan hasil fiksasi setelah proses pewarnaan selesai, maka dalam satu lapang pandang dapat diketahui bagian-bagian yang terlihat dari masing-masing sediaan preparat :

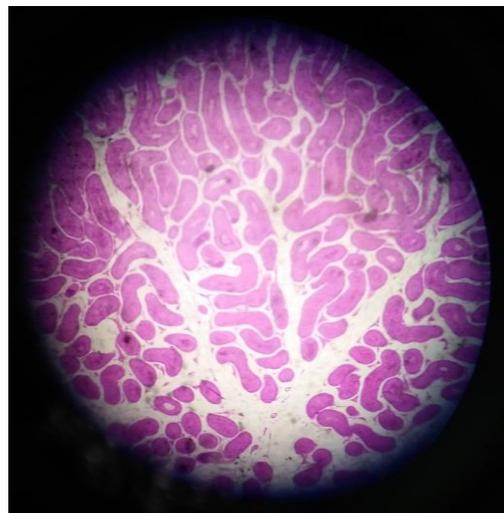
Gambar 1.1 Fiksasi Bouin: Perbesaran : 10x



Gambar 1.2 Fiksasi Bouin: Perbesaran : 400x



Gambar 1.3 Fiksasi Formalin: Perbesaran : 10x



Gambar 1.4 Fiksasi Formalin:
Perbesaran 400X



Tabel 1.1. Kenampakan sediaan dengan perbesaran 400x:

No	Gambaran Histologi	Fiksasi	
		Bouin	Formalin
1	Tubulus	Sangat terang	Kurang
2	Spermatogonium	Sangat jelas	terang
3	Spermatosit primer	Sangat jelas	Kurang jelas
4	Spermatosit sekunder	Sangat jelas	jelas
5	spermatid	Sangat jelas	jelas

Tabel 1.2. Kenampakan sediaan dengan perbesaran 400x:

No	Kenampakan	Fiksasi	
		Bouin	Formalin
1	Resolusi	Tinggi	sedang
2	kenampakan	sangat jelas	jelas
3	warna	merah	Merah terang
4	kontras	kontras	Kurang

PEMBAHASAN

Berdasarkan **Tabel 1.1** di atas dapat di lihat perbandingan hasil fiksasi dari preparat testis marmut bahwa, pada fiksasi dengan larutan bouin, gambaran

histologis dari tubulus seminiferus, spermatogonium, spermatosit, dan spermatidnya tampak sangat jelas bila di amati secara mikroskopis. menurut pendapat Suntoro S. Handani (1983) larutan bouin mampu mengendapkan nukleoprotein dan nukleolus di dalam testis marmut, serta memiliki daya penetrasi yang cepat ke dalam jaringan testis, sehingga jaringan terpulas dengan baik. Selain itu batas-batas antara tubulus dengan bagian-bagian sel lain di dalamnya juga tampak jelas, sedangkan bila menggunakan formalin sebagai bahan fiksatifnya, gambaran histologis dari tubulus seminiferus, spermatogonium, spermatid dan spermatosit tampak kurang jelas, hal ini disebabkan karena infiltrasi kedalam jaringan kurang cepat dan tidak mampu memfiksasi protein didalam jaringan dengan baik.

Dari **Tabel 1.2** mengenai perbandingan kenampakan pada sediaan yang di fiksasi dengan larutan bouin dan formalin yang diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 x menunjukkan perbedaan kenampakan yang cukup jelas. Fiksasi dengan larutan bouin menyebabkan kenampakan sediaan dengan resolusi tinggi, bagian-bagian dari tubulus seminiferus tampak sangat jelas, dengan latar sediaan berwarna merah gelap yang kontras dengan bagian-bagian lain dari jaringan testis. Sedangkan fiksasi dengan formalin menunjukkan

kenampakan dengan resolusi sedang, warna latar sediaan merah terang yang kurang kontras. Hal ini disebabkan karena formalin hanya akan memberikan afinitas yang lebih baik pada zat warna basa.

SIMPULAN

- Perbedaan komposisi bahan fiksatif berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan sediaan dan hasil pengirisan sampel sediaan
- Lamanya fiksasi memberi pengaruh terhadap kualitas jaringan karena masing-masing organ memiliki tingkat infiltrasi dan ketahanan yang berbeda-beda terhadap bahan fiksatif yang digunakan dalam proses fiksasi

SARAN

- Sebelum melakukan fiksasi perlu dipertimbangkan bahan fiksatif mana yang akan digunakan, karena setiap bahan fiksatif memiliki kelebihan dan kekurangan yang memberi pengaruh nyata terhadap sampel sediaan dan hasil akhir setelah pewarnaan.
- Mengingat pentingnya proses fiksasi dalam pembuatan preparat, lama fiksasi perlu diperhatikan, pertimbangkan sifat dan volume organ yang akan di fiksasi, serta macam zat fiksatif yang akan digunakan.
- Perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk menentukan metode fiksasi terbaik dan jenis bahan fiksatif yang

sesuai dengan jenis organ yang akan di fiksasi sehingga memberikan hasil terbaik pada proses selanjutnya dalam pembuatan preparat

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Laboratorium Biologi F.K.UGM.
- Bloom dan Fawcett, 2002. *Buku Ajar Histologi Edisi 12*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Ganda Soebrata R. 1985. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat. Jakarta.
- Gunarso Wisnu, 1988, *Dasar-dasar Histologi*. Erlangga. Jakarta.
- Oentoeng Soeradi, dkk 1985. *Penuntun Praktikum Anatomi Mikroskopik : Bagian Lab. Biologi Kedokteran Jurusan Ilmu Alam Dasar Kedokteran*. F.K. UI. Jakarta.
- Sudikdo, S.A, dan Ismael Sofian. 1995, *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Suntoro S. Handari, 1983. *Metode Pewarnaan Histologi dan Histokimia*. Bharatara Karya Aksara. Jakarta.
- Subowo, 2002. *Histologi Umum*. Bumi Aksara. Jakarta.