

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Histopatologi

a. Definisi

Histopatologi adalah cabang ilmu kedokteran yang mempelajari perubahan struktur jaringan yang disebabkan oleh penyakit, baik itu infeksi, keganasan, atau gangguan lainnya. Dalam histopatologi, pemeriksaan jaringan dilakukan untuk mendiagnosis suatu penyakit dengan menggunakan mikroskop. Perubahan pada jaringan tubuh yang terdeteksi dapat memberikan informasi mengenai jenis dan stadium penyakit yang ada, serta memberikan gambaran tentang bagaimana proses patologi terjadi (Kumar et al., 2015).

b. Tujuan Utama

Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk mengidentifikasi kelainan atau perubahan yang terjadi pada sel dan jaringan, seperti inflamasi, infeksi, degenerasi, atau keganasan (Kumar et al., 2015). Melalui analisis mikroskopis terhadap sampel jaringan, histopatologi memberikan informasi yang sangat berguna bagi dokter dalam menetapkan diagnosis yang tepat.

Selain untuk diagnosis, histopatologi juga digunakan untuk menilai tingkat keparahan suatu penyakit dan merencanakan terapi

lebih lanjut. Misalnya, dalam kasus kanker, histopatologi dapat membantu menentukan tipe kanker, stadium perkembangan tumor, dan respon jaringan terhadap pengobatan (Supriatna, 2016). Dengan informasi ini, dokter dapat merencanakan terapi yang lebih efektif dan tepat sasaran.

Tujuan lainnya adalah untuk melakukan pemantauan terhadap respon tubuh terhadap pengobatan atau terapi tertentu, misalnya pada pasien yang menjalani kemoterapi atau radioterapi. Melalui pemeriksaan jaringan secara berkala, dapat diketahui apakah terapi yang dijalani efektif dalam mengendalikan atau mengurangi pertumbuhan penyakit (Arista & Siregar, 2019).

c. Gambaran Histopatologi

Gambaran histopatologi merujuk pada perubahan morfologi dan struktur jaringan yang terjadi akibat proses penyakit atau cedera. Analisis histopatologi memungkinkan identifikasi dan pemahaman mekanisme penyakit melalui pemeriksaan mikroskopis jaringan tubuh. Pemeriksaan ini esensial dalam diagnosis medis, penentuan prognosis, dan pemilihan terapi yang tepat (Liu *et al.*, 2022).

1) Kriteria Kualitas Gambaran Histopatologi

Kualitas gambaran histopatologi ditentukan oleh beberapa faktor penting:

- a) Kejelasan Struktur Seluler: Struktur sel dan jaringan harus tampak jelas tanpa artefak yang mengganggu.

- b) **Preservasi Morfologi:** Preservasi morfologi jaringan yang baik memastikan bahwa struktur asli jaringan tetap terjaga.
 - c) **Konsistensi Pewarnaan:** Pewarnaan harus merata dan sesuai, memungkinkan identifikasi komponen seluler dengan mudah.
 - d) **Kebersihan Preparat:** Preparat harus bebas dari kontaminasi atau kotoran yang dapat mengganggu interpretasi.
 - e) **Ketebalan Irisan yang Tepat:** Irisan jaringan harus memiliki ketebalan yang sesuai untuk memungkinkan visualisasi detail struktur seluler.
- 2) **Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Gambaran Histopatologi**

Beberapa faktor yang memengaruhi kualitas gambaran histopatologi meliputi:

- a) **Proses Fiksasi:** Fiksasi yang tepat penting untuk mempertahankan struktur jaringan dan mencegah degradasi. Fiksatif seperti NBF 10% sering digunakan untuk tujuan ini.
- b) **Proses Dehidrasi dan Penjernihan:** Proses dehidrasi dan penjernihan yang tepat memastikan bahwa jaringan siap untuk infiltrasi parafin, yang penting untuk pemotongan yang baik.
- c) **Kondisi Mikrotom:** Mikrotom yang tajam dan terkalibrasi dengan baik penting untuk menghasilkan irisan jaringan yang tipis dan konsisten.

- d) Kondisi Pewarnaan: Pewarnaan yang tepat dan konsisten penting untuk visualisasi struktur seluler yang jelas.
- e) Keterampilan Teknis: Keterampilan teknis dari personel yang melakukan preparasi jaringan sangat memengaruhi kualitas akhir preparat.

3) Metode Penilaian Gambaran Histopatologi

Penilaian gambaran histopatologi dilakukan melalui:

- a) Pemeriksaan Mikroskopis: Menggunakan mikroskop cahaya untuk mengamati struktur jaringan pada berbagai perbesaran.
- b) Skoring Histopatologi: Menggunakan sistem skoring untuk menilai derajat perubahan histopatologi, seperti derajat kerusakan jaringan atau tingkat inflamasi.
- c) Analisis Morfometrik: Menggunakan perangkat lunak untuk mengukur parameter morfologi jaringan secara kuantitatif.
- d) Pewarnaan Khusus: Menggunakan teknik pewarnaan khusus untuk menyoroti komponen tertentu dari jaringan, seperti kolagen atau elastin.

2. Histoteknik

Histoteknik merupakan serangkaian prosedur laboratorium yang digunakan untuk mempreparasi spesimen jaringan biologis agar dapat diamati di bawah mikroskop. Teknik ini mencakup berbagai tahapan pengolahan jaringan mulai dari fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi

parafin, pemotongan, hingga pewarnaan. Tujuan utama histoteknik adalah untuk mempertahankan struktur jaringan sedekat mungkin dengan kondisi *in vivo* (hidup), sehingga dapat memberikan gambaran mikroskopis yang akurat tentang kondisi jaringan tersebut. Selain itu, histoteknik bertujuan untuk membuat preparat jaringan yang cukup tipis dan transparan agar dapat menarik cahaya mikroskop, serta memberikan kontras pada berbagai komponen jaringan melalui pewarnaan spesifik sehingga mudah dibedakan satu sama lain (Bancroft, 2019). Berikut rangkaian pembuatan preparat jaringan antara lain:

a. Fiksasi

Fiksasi merupakan tahapan pertama dalam pembuatan preparat histopatologi untuk mencegah autolisis dan degradasi jaringan serta komponen jaringan agar dapat diamati secara mikroskopis. Proses ini menggunakan larutan fiksatif seperti *neutral buffered formalin* (NBF) 10% untuk mempertahankan struktur jaringan dan mencegah autolisis (Kumar et al., 2024).

Fiksasi merupakan tahap penting yang menentukan kualitas akhir preparat. Faktor-faktor yang mempengaruhi meliputi jenis dan konsentrasi fiksatif, volume fiksatif (idealnya 10-20 kali volume jaringan), waktu fiksasi yang tepat (umumnya 12-24 jam untuk NBF 10%), dan pH larutan fiksatif (optimal pada 7.2-7.4). Fiksasi yang tidak adekuat dapat menyebabkan berbagai masalah seperti distorsi

jaringan, pemecahan sel, atau hilangnya komponen seluler yang penting untuk diagnosis (Bancroft, 2019).

b. Dehidrasi

Dehidrasi adalah proses menghilangkan air dan zat fiksatif dari komponen jaringan. Proses ini melibatkan serangkaian konsentrasi alkohol bertingkat untuk mengeluarkan cairan dari jaringan dimulai dari 70% hingga alkohol absolut. Proses ini mempersiapkan spesimen untuk proses *clearing* atau penjernihan. Waktu dehidrasi harus disesuaikan dengan ukuran dan jenis jaringan, jaringan yang lebih tebal atau berlemak memerlukan waktu lebih lama (Werner et al., 2022).

Proses dehidrasi harus dilakukan secara bertahap dan lengkap untuk menghindari pengerutan atau pengerasan jaringan berlebihan. Penggunaan alkohol dengan gradien konsentrasi yang tepat dan waktu yang cukup pada setiap tahap sangat penting. Dehidrasi yang tidak sempurna akan menyebabkan kesulitan dalam proses infiltrasi parafin dan menghasilkan blok jaringan yang sulit dipotong (Kumar et al., 2024).

c. *Clearing*

Clearing atau penjernihan adalah metode untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan. Proses ini menggunakan *xylol* atau substansi sejenis untuk menghilangkan alkohol dan mempersiapkan jaringan agar dapat diinfiltrasi parafin. *Clearing* (penjernihan) yang tidak

optimal dapat menyebabkan jaringan menjadi keras dan rapuh. Suhu yang digunakan selama tahap *clearing* sangat penting karena dapat mempengaruhi efektivitas dan kecepatan proses (Bancroft, 2019).

Suhu selama tahap *clearing* sebaiknya berada dalam kisaran 20-40°C, tergantung pada jenis *clearing* yang digunakan. Suhu ini biasanya disesuaikan dengan jenis bahan pelarut yang digunakan dan dapat bervariasi sedikit sesuai dengan protokol laboratorium. Namun, secara umum, pemanasan tidak boleh berlebihan karena dapat merusak jaringan atau menyebabkan perubahan struktural yang tidak diinginkan. Berikut adalah jenis *clearing* yang digunakan:

- 1) *Xylol* : *Xylol* biasanya digunakan pada *room temperature* (sekitar 20-25°C) atau dapat sedikit dipanaskan untuk mempercepat proses *clearing*. Keunggulannya yaitu *xylol* adalah pelarut yang paling umum digunakan karena efektif dalam menghilangkan alkohol dan memiliki titik didih yang cukup tinggi, yang memungkinkan pemrosesan jaringan yang lebih cepat (Bancroft, 2019).
- 2) Toluena : Toluena juga digunakan pada suhu *room temperature* (sekitar 20-25°C), meskipun beberapa laboratorium mungkin sedikit memanaskan pelarut ini untuk mempercepat proses *clearing*. Keunggulannya yaitu toluena memiliki kemampuan *clearing* yang mirip dengan *xylol*, namun lebih ringan dan sedikit lebih aman dari segi toksisitas (Kiernan, 2015).

d. Infiltrasi parafin

Infiltrasi parafin memerlukan suhu yang tepat ($56-60^{\circ}\text{C}$) dan waktu yang cukup agar parafin dapat menembus seluruh bagian jaringan. Suhu yang terlalu tinggi dapat merusak jaringan, sementara suhu yang terlalu rendah menyebabkan infiltrasi tidak sempurna. Kualitas parafin dan waktu infiltrasi yang tepat juga sangat penting untuk menghasilkan blok yang baik. Infiltrasi parafin merupakan tahap penting, di mana jaringan direndam dan diisi dengan parafin cair pada suhu tertentu. Proses ini memungkinkan jaringan menjadi keras dan dapat dipotong dengan mikrotom (Rosai, 2018).

e. *Embedding*

Embedding merupakan proses memasukkan jaringan yang sudah difiksasi ke dalam media padat, seperti parafin, agar jaringan tersebut menjadi lebih mudah untuk dipotong menjadi irisan tipis. Pada tahap ini, jaringan dicelupkan ke dalam parafin cair dan kemudian didinginkan hingga menjadi padat, menghasilkan blok parafin yang mengandung jaringan. adalah proses memasukkan jaringan yang sudah difiksasi ke dalam media padat, seperti parafin, agar jaringan tersebut menjadi lebih mudah untuk dipotong menjadi irisan tipis (Jones, 2018).

Proses *embedding* dilakukan dengan memperhatikan orientasi jaringan yang tepat, suhu parafin yang konsisten, dan teknik pendinginan yang terkontrol. Penggunaan *cold plate* dengan suhu -5°C hingga -10°C membantu pembentukan blok yang homogen. Ketebalan

dasar blok harus seragam untuk memudahkan pemotongan (Suvarna *et al.*, 2023).

f. Pemotongan Mikros

Pemotongan mikros yaitu tahap di mana sampel jaringan yang telah dilakukan *embedding* dilanjutkan ke tahap pemotongan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-5 mikrometer untuk menghasilkan irisan jaringan yang tipis. Proses ini memerlukan keahlian khusus untuk mendapatkan sayatan yang konsisten dan tipis. Teknik pemotongan yang presisi untuk menghasilkan spesimen berkualitas tinggi. Pemotongan harus menggunakan mikrotom yang terkalibrasi baik, pisau yang tajam, dan suhu ruangan yang terkontrol saat pemotongan mikrotom (Gurkan *et al.*, 2024).

g. Pewarnaan

Pewarnaan yang paling umum digunakan adalah *Hematoxylin-Eosin* (H&E), dimana *hematoxylin* akan mewarnai inti sel menjadi biru-ungu dan eosin akan mewarnai sitoplasma menjadi merah muda. Pewarnaan sebagai tahap akhir juga sangat menentukan kualitas preparat. Faktor-faktor seperti kualitas dan konsentrasi pewarna, pH larutan, waktu pewarnaan, serta proses pencucian mempengaruhi intensitas dan selektivitas pewarnaan (Bancroft, 2019).

h. *Mounting*

Mounting atau perekatan sayatan jaringan pada kaca objek merupakan proses penempelan coverglass pada kaca preparat dengan

menggunakan cairan perekat yang disebut dengan *entellan* tahap akhir yang menentukan kualitas preparat mikroskopis. Proses ini melibatkan pemanasan kaca objek, penempelan sayatan, dan penggunaan media perekat khusus untuk memastikan sayatan menempel dengan baik. (Suvana *et al.*, 2023).

3. Fiksasi

a. Definisi

Fiksasi jaringan adalah cara untuk menjaga bagian-bagian sel atau jaringan agar tidak berubah dan tidak rusak. Tujuannya adalah mempertahankan semua molekul dalam jaringan yang masih hidup tetap berada di tempat asalnya tanpa ada molekul baru yang muncul. Namun dalam kenyataannya, proses ini tidak selalu berjalan sempurna. Jika muncul molekul asing yang tidak seharusnya ada, hal ini disebut artefak. Intinya, fiksasi bertujuan menjaga jaringan tetap utuh dan tidak rusak. Proses fiksasi harus dilakukan secepat mungkin setelah jaringan diambil atau setelah organisme mati, agar tidak terjadi kerusakan alami yang disebut autolisis (Ganjali, 2019).

b. Tujuan

Menurut Howat (2017) ada empat tujuan dari fiksasi jaringan yaitu:

- 1) Menghentikan proses autolisis jaringan dengan cara menonaktifkan enzim hidrolitik dari lisosom, sehingga dapat mempertahankan morfologi sel yang optimal untuk analisis serta

menjaga stabilitas struktur intra- dan antarsel dengan menjadikannya tahan terhadap pelarutan oleh air dan cairan lainnya.

- 2) Menstabilkan jaringan dan antigen seluler, sehingga memudahkan proses imunolabelling terhadap antigen yang ditargetkan.
- 3) Mempermudah pemotongan jaringan dalam histopatologi dengan cara mengeraskan dan memadatkan jaringan untuk menghasilkan irisan yang lebih baik.
- 4) Menghambat pembusukan jaringan, yaitu kerusakan yang disebabkan oleh aktivitas bakteri yang sering disertai dengan pembentukan gas. (Howat, 2017).

c. Mekanisme Fiksasi

Menurut Gamble (2019) secara garis besar terdapat dua mekanisme yang penting dalam fiksasi kompleks protein yaitu denaturasi dan *cross-linking* atau gabungan keduanya.

1) Denaturasi

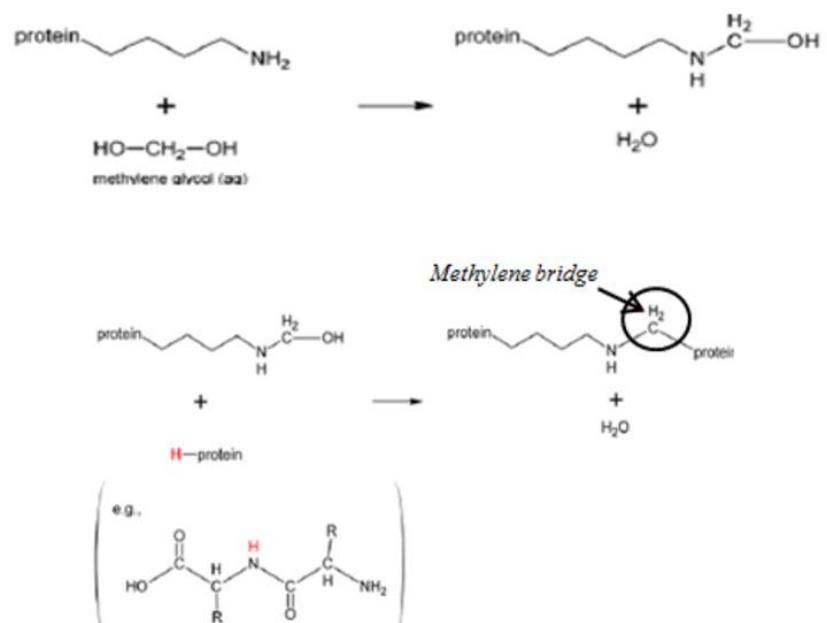
Efek denaturasi yang paling sering terjadi disebabkan oleh agen dehidrasi seperti alkohol dan aseton, contohnya adalah larutan Carnoy's dan Methacarn. Zat-zat ini bekerja dengan mengubah struktur jaringan dan menstabilkannya melalui penghilangan ikatan hidrogen pada kelompok-kelompok tertentu dalam molekul protein, seperti gugus karboksil bebas,

hidroksil, amino, amido, dan imino. Proses ini mengganggu struktur tersier protein dengan merusak ikatan hidrofobik, sehingga memengaruhi kelarutan protein. Protein yang sebelumnya larut dalam air menjadi tidak larut dan mengakibatkan koagulasi protein serta penyusutan sel. Pada larutan fiksatif *carnoy's*, tambahan *chloroform* dan asam asetat membantu mengurangi efek penyusutan akibat etanol, serta memungkinkan proses fiksasi jaringan melalui pembentukan ikatan hidrogen. Sedangkan pada methacem, metanol menggantikan etanol dan memberikan efek yang serupa (Howat, 2017).

2) *Cross-linking*

Larutan fiksatif yang digunakan akan bereaksi secara kimia dengan protein serta komponen lain dalam sel dan jaringan, membentuk ikatan kimia yang menyatu dengan jaringan melalui pembentukan *cross-link* antar atau dalam molekul. Fiksatif ini merupakan senyawa reaktif yang mampu berinteraksi dengan berbagai komponen kimiawi dalam jaringan, sehingga dapat memengaruhi struktur di lokasi tempat terjadinya ikatan. Akibatnya, proses ini dapat berdampak pada sifat pewarnaan protein di tahap selanjutnya, karena dapat mengubah susunan molekul dan memengaruhi kelarutannya. (Grizzle, 2019)

Larutan fiksatif menyebabkan perubahan pada komposisi kimia asli jaringan serta menimbulkan modifikasi fisik pada komponen seluler maupun ekstraseluler. Pada kondisi hidup, sel terlindungi oleh membran yang bersifat impermeabel atau tidak dapat ditembus. Proses pembentukan ikatan silang (*cross-linking*) akibat fiksasi mengubah struktur protein dan pada akhirnya menyebabkan inaktivasi enzim (Nowacek, 2020).



Gambar 2. 1 Reaksi utama dari cross-link pada formaldehid

(A: grup aldehyd dapat bereaksi dengan nitrogen dan beberapa atom protein, penambahan formaldehid (*methylene glycol*) pada bagian rantai lisin. B: Bentuk dari *methylene bridge* yang berdekatan dengan atom nitrogen)

d. Macam-macam Larutan Fiksasi

1) Larutan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%

Neutral Buffer Formalin (NBF) 10% adalah larutan fiksatif yang banyak digunakan dalam laboratorium histologi dan patologi untuk menjaga integritas jaringan sebelum analisis mikroskopis. Larutan ini terdiri dari 10% formalin (setara dengan 4% formaldehida murni) yang dicampur dengan larutan penyangga fosfat untuk mempertahankan pH netral, yaitu sekitar 7,0. Komposisi ini memungkinkan NBF 10% untuk menghambat aktivitas enzimatik dan pertumbuhan mikroorganisme yang dapat merusak jaringan, sekaligus mempertahankan struktur morfologi secara detail.

Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% dikenal sebagai larutan standar emas (*gold standard*) dalam fiksasi jaringan untuk pemeriksaan histopatologi rutin. Larutan ini memiliki keunggulan berupa pH netral sekitar 7, penggunaannya praktis, serta mampu mempertahankan jaringan dalam kondisi baik untuk waktu yang relatif lama. Namun, kelemahannya terletak pada kecepatan fiksasi yang lebih lambat dibandingkan dengan larutan fiksatif lainnya. (Risanto, 2018).

2) Larutan Formalin

Formalin atau formaldehida merupakan gas yang termasuk dalam kelompok senyawa aldehida. Dalam proses

fiksasi, formaldehida biasanya digunakan dalam konsentrasi antara 4% hingga 10%. Karena sifatnya yang cukup kuat, formaldehida dapat menimbulkan iritasi. Salah satu alasan penggunaan formaldehida dalam fiksasi jaringan adalah kemampuannya untuk menurunkan tekanan atmosfer dan vakum, sehingga mendukung proses pemrosesan jaringan dengan lebih efektif (Alwi, 2020).

Beberapa penelitian menyarankan penggunaan formaldehida dengan pH netral (sekitar pH 7) yang distabilkan menggunakan penyangga fosfat agar pH tetap terjaga. Keunggulan dari larutan ini antara lain harganya yang ekonomis, mudah dalam persiapan, stabil, serta mampu memfiksasi jaringan tanpa mengubah warna aslinya. Namun, kekurangan formaldehida adalah sifatnya yang toksik dan dapat menimbulkan iritasi pada kulit.

3) Larutan Bouin

Larutan Bouin merupakan larutan fiksatif yang mengandung senyawa asam dan berfungsi sebagai pelunak jaringan keras, seperti tulang (dekalsifikasi). Komposisinya terdiri dari 10% formaldehida (setara dengan 25% formalin), 0,9M asam asetat, dan 0,04M asam pikrat yang dilarutkan dalam air. Asam pikrat memiliki kemampuan penetrasi yang cukup lambat, namun mampu menggumpalkan protein dan dapat

menyebabkan sedikit penyusutan jaringan. Larutan ini memiliki pH rendah, yaitu sekitar 1,5 hingga 2. Dibandingkan dengan NBF, penetrasi jaringan oleh larutan Bouin berlangsung lebih cepat. Namun, penyimpanan jaringan terlalu lama dalam larutan ini dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis dan degradasi DNA maupun RNA. Oleh karena itu, jaringan yang telah difiksasi dengan larutan Bouin perlu dicuci terlebih dahulu sebelum menjalani proses lanjutan (Howat, 2017).

e. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fiksasi

1) Ukuran Jaringan

Ukuran jaringan merupakan aspek penting yang sangat memengaruhi efektivitas proses fiksasi dalam pembuatan preparat histologi. Proses fiksasi bekerja dengan cara menembus jaringan untuk menghentikan aktivitas enzimatis dan mencegah pembusukan. Bila jaringan yang digunakan terlalu besar atau tebal, penetrasi fiksatif menjadi lambat dan tidak merata, sehingga bagian dalam jaringan berisiko mengalami kerusakan sebelum fiksasi sempurna terjadi (Bancroft & Gamble, 2018).

Sebaliknya, jaringan yang lebih kecil dan tipis memungkinkan fiksatif menyebar lebih cepat dan merata ke seluruh bagian, yang berdampak pada kualitas preparat yang lebih baik. Misalnya, membran sel terlihat jelas, sitoplasma tetap jernih, serta struktur inti dan kromatin terjaga dengan baik

(Suvarna et al., 2019). Selain itu, jaringan berukuran besar juga cenderung menimbulkan artefak, seperti sitoplasma yang kosong, kerusakan inti sel, atau kontraksi jaringan akibat fiksasi yang tidak optimal (Kiernan, 2015).

2) Konsentrasi ion hidrogen (pH)

Fiksasi sebaiknya dilakukan pada kondisi pH netral, yaitu sekitar 6 hingga 8. Kondisi hipoksia pada jaringan dapat menyebabkan penurunan pH, sehingga diperlukan sistem penyangga (buffer) dalam larutan fiksatif untuk mencegah peningkatan keasaman. Lingkungan yang asam dapat memicu terbentuknya pigmen formalin-heme, yang tampak sebagai endapan hitam di dalam jaringan. Buffer yang sering digunakan meliputi fosfat, bikarbonat, *cacodylate*, dan veronal. Formalin yang umum dipakai biasanya menggunakan buffer fosfat dengan pH sekitar 7. Selain itu, larutan fiksatif yang bersifat hipertonik dapat menyebabkan penyusutan sel, sedangkan yang bersifat hipotonik dapat menyebabkan sel membengkak (Gamble, 2019).

3) Temperatur fiksasi

Peningkatan suhu akan mempercepat semua reaksi kimia, termasuk proses fiksasi, serta mempercepat penetrasi agen fiksatif ke dalam jaringan. Penggunaan formalin pada suhu tinggi dapat mempercepat proses fiksasi jaringan, dan metode ini sering digunakan sebagai tahap awal dalam proses otomatisasi

jaringan. Namun, hal ini perlu kehati-hatian agar jaringan tidak mengalami “kematangan berlebih” atau overfiksasi. Pada umumnya, fiksasi untuk mikroskop cahaya dilakukan pada suhu ruang, kemudian dilanjutkan dengan fiksasi lanjutan pada suhu hingga 45°C selama tahap pengolahan jaringan (Ganjali, 2019).

4) Konsentrasi larutan

Konsentrasi larutan fiksatif sebaiknya disesuaikan serendah mungkin agar lebih efisien dan menghemat dalam pembuatannya. Formalin paling efektif digunakan pada konsentrasi 10%, glutaraldehid umumnya antara 0,25% hingga 4%, dan etanol optimal pada 70%. Jika konsentrasi terlalu tinggi, hal ini dapat merusak jaringan dan menimbulkan artefak yang mirip dengan efek dari suhu yang terlalu tinggi (Woods, 2017).

5) Volume Fiksasi

Rasio yang besar antara volume larutan fiksatif dan jaringan sangat penting untuk menjamin fiksasi yang efektif. Rasio idealnya adalah 20 banding 1 antara larutan fiksatif dan volume jaringan. Namun, dalam praktik sehari-hari, sering kali digunakan rasio yang lebih rendah dari standar tersebut. Untuk mengatasi hal ini, disarankan agar larutan fiksatif diganti secara berkala selama proses fiksasi berlangsung (Ganjali, 2019).

6) Durasi Fiksasi

Fiksasi harus dilakukan sesegera mungkin setelah jaringan diangkat. Durasi fiksasi yang ideal dipengaruhi oleh berbagai faktor dan dapat berbeda-beda tergantung pada jenis fiksatif yang digunakan, seperti ketebalan jaringan serta elemen-elemen penting lainnya dalam proses fiksasi, termasuk suhu, kemampuan buffer, daya penetrasi fiksatif, dan rasio volume larutan terhadap jaringan. Fiksasi yang berlangsung terlalu lama dapat menyebabkan hilangnya reaktivitas antigen, serta menimbulkan penyusutan dan pengerasan pada spesimen. (Goldstein, 2019).

f. Akibat Kesalahan Proses Fiksasi

Berikut merupakan akibat kesalahan dari proses fiksasi:

1) Pengaruh terhadap Struktur Sel dan Jaringan

Kesalahan fiksasi dapat menyebabkan hilangnya detail struktural yang penting. Misalnya, penggunaan fiksatif yang tidak cocok atau terlalu lama dapat menyebabkan degradasi protein dan komponen seluler lainnya, membuat jaringan kehilangan bentuk aslinya. Kesalahan fiksasi dapat mengakibatkan perubahan yang mengurangi kualitas pewarnaan histologis dan membuat deteksi kelainan seluler lebih sulit (Bates *et al.*, 2023).

2) Dampak pada Pewarnaan dan Interpretasi Mikroskopis

Fiksasi yang tidak tepat juga berdampak pada kualitas pewarnaan, yang sangat penting dalam analisis histopatologis. Sebagai contoh, fiksasi yang terlalu cepat atau terlalu lama dapat menyebabkan distribusi pewarna yang tidak merata, mengaburkan detail mikroanatomi yang penting. Kesalahan dalam teknik fiksasi dapat mengurangi kejelasan hasil pewarnaan, terutama pada pewarnaan hematoksilin-eosin (H&E), yang umum digunakan dalam diagnostik patologi (Liu *et al.*, 2022).

3) Pengaruh terhadap Diagnosa Patologis

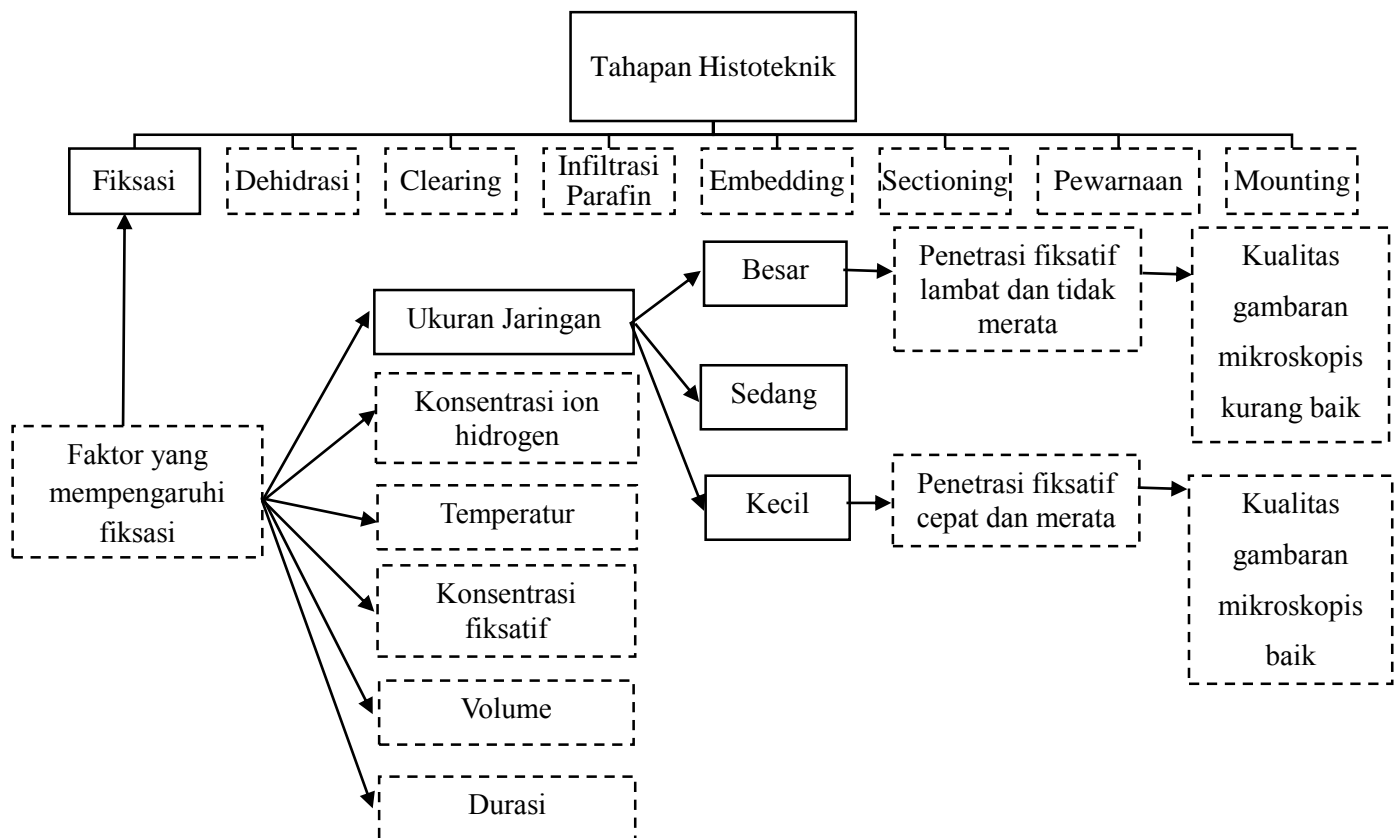
Fiksasi yang tidak tepat dapat mengarah pada kesalahan diagnosis, karena perubahan struktural pada jaringan atau sel dapat mempengaruhi tampilan mikroskopis, misalnya, dengan merusak inti sel atau merubah morfologi sel. Kesalahan dalam teknik fiksasi dapat menyebabkan kesulitan dalam membedakan jenis kanker tertentu, karena kerusakan yang terjadi pada sel atau jaringan kanker yang dapat merubah karakteristik histologisnya (Wang *et al.*, 2023).

4) Kerusakan pada Komponen Molekuler

Selain struktur sel, kesalahan fiksasi juga dapat mempengaruhi komponen molekuler dalam jaringan, seperti asam nukleat atau protein. Jika proses fiksasi tidak dilakukan

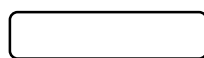
dengan benar, pengikatan bahan genetik atau antigen dapat terganggu, yang berdampak pada teknik-teknik lanjut seperti PCR atau imunohistokimia. Kesalahan fiksasi dapat mengurangi sensitivitas dan spesifisitas dalam deteksi biomarker molekuler yang digunakan dalam pengujian patologi (Tan *et al.*, 2023).

B. Kerangka Pikir



Gambar 2. 2 Kerangka Pikir

Keterangan :



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti