

NASKAH PUBLIKASI

**PERBANDINGAN EFEK FIKSASI FORMALIN METODE
INTRAVITAL DENGAN METODE KONVENSIONAL
PADA KUALITAS GAMBARAN HISTOLOGIS
HEPAR TIKUS**



ABANG SUPRIANTO

NIM 111109060

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2014

**LEMBAR PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**

**PERBANDINGAN EFEK FIKSASI FORMALIN METODE
INTRAVITAL DENGAN METODE KONVENSIONAL PADA
KUALITAS GAMBARAN HISTOLOGIS HEPAR TIKUS**

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

ABANG SUPRIANTO

NIM 111109060

DISETUJUI OLEH

PEMBIMBING PERTAMA



dr. M. In'am Ilmiawan, M. Biomed
NIP. 19791018 200604 1 002

PEMBIMBING KEDUA



dr. Heru Fajar Trianto, M. Biomed
NIP. 19841013 200912 1 005

PENGUJI PERTAMA



dr. Pandu Indra Bangsawan, M. Kes
NIP. 19821126 201212 1 002

PENGUJI KEDUA



dr. Abror Irsan, MMR
NIP. 19851111 201012 1 004

MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA



dr. Bambang Sri Nugroho, Sp. PD.
NIP. 19511218 197811 1 001

**PERBANDINGAN EFEK FIKSASI FORMALIN METODE INTRAVITAL
DENGAN METODE KONVENSIONAL PADA KUALITAS
GAMBARAN HISTOLOGIS HEPAR TIKUS**

Abang Suprianto¹, Muhammad In'am Ilmiawan², Heru Fajar Trianto³

Intisari

Latar Belakang: Larutan formalin merupakan cairan fiksatif yang paling umum digunakan. Metode fiksasi konvensional yang sering digunakan adalah dengan merendam potongan-potongan kecil jaringan ke dalam cairan fiksatif. Pada metode ini Lapisan luar jaringan cepat terfiksasi sementara bagian dalamnya terlambat dan mungkin mengalami perubahan post mortem. Hal ini harus diperhatikan pada organ yang tebal seperti hati. Terdapat metode lain dalam untuk fiksasi yaitu metode fiksasi intravital yang memfiksasi lebih cepat karena cairan fiksatif masuk ke semua bagian jaringan melalui sistem pembuluh darah. **Tujuan Penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kualitas gambaran histologis jaringan hepar yang difiksasi formalin dengan metode intravital dibanding dengan metode konvensional. **Metodologi:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Total sampel sebanyak 20 ekor tikus. Sampel dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok metode fiksasi intravital dan kelompok metode fiksasi konvensional. Tiap slide diamati pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, kejernihan pewarnaan dan keseragaman pewarnaan. Data dianalisis dengan uji *fisher*. **Hasil:** Hasil pengamatan berbagai kriteria pewarnaan menunjukkan pada metode konvensional terdapat 7 preparat yang pewarnaannya adekuat sedangkan pada metode intravital seluruh preparatnya memiliki pewarnaan yang adekuat. Hasil analisis didapatkan $p= 0,211$ yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara metode fiksasi intravital dengan metode konvensional pada gambaran histologis hepar tikus. **Kesimpulan:** Gambaran histologis hepar tikus yang difiksasi dengan metode intravital lebih baik dibanding dengan metode konvensional walaupun tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik

Kata Kunci: Fiksasi, Fiksasi Intravital, Fiksasi Konvensional, Gambaran Histologis Hepar

-
- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
 - 2) Departemen Biologi dan Patobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.
 - 3) Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

COMPARING FORMALIN FIXATION EFFECT BETWEEN INTRAVITAL METHOD AND CONVENTIONAL METHOD IN RATS LIVER HISTOLOGICAL

Abang Suprianto¹, Muhammad In'am Ilmiawan², Heru Fajar Trianto³

Abstract

Background : Formalin is most commonly used fixative. Conventional fixation method often used which immersed pieces of tissue into a fixative. In this method, Tissue outer layer is fixed rapidly whereas the interior is reached by the fixative with some delay and may undergo postmortal changes. It should be noted in the thick organs such as liver. There is other method for the fixation that intravital fixation method which faster because the fixative fluid entry into all parts of the tissue through the vascular system. **Objective**: This study aimed to know whether there are differences in the quality of histological in formalin fixed liver tissue by intravital method compared and the conventional method. **Methodology**: This Study was designed as an experimental study. The total sample are 20 rats. The samples were divided into 2 groups: intravital fixation method and the conventional fixation method group. Each slide was observed nuclear staining, cytoplasmic staining, clarity staining and uniformity of staining. Data were analyzed with fisher test. **Results**: The result of this study showed that observations of various criteria consist of 7 preparations have adequate staining in the conventional method whereas all of preparations have adequate staining in intravital method. The results of the analysis obtained $p = 0.211$ which showed no significant difference between intravital fixation method and the conventional method in rats liver histological. **Conclusion**: Histological of rats liver fixed by intravital method is better than the conventional method, although there was no significant difference in statistic.

Keywords: Fixation, Intravital Fixation, Conventional Fixation, Rats Liver Histological

-
- 1) Medical Education Program, Medical Faculty, Tanjungpura University, Pontianak, West Borneo
 - 2) Departement of Biology and Pathobiology, Medical Faculty, Tanjungpura University, Pontianak, West Borneo
 - 3) Departement of Histology, Medical Faculty, Tanjungpura University, Pontianak, West Borneo

LATAR BELAKANG

Histoteknik adalah metode, cara atau proses untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisa.¹ Sajian yang baik memberikan hasil yang sangat dibutuhkan oleh para peneliti untuk menjawab permasalahan yang timbul.² Dasar dari pembuatan sajian histologi yang baik adalah melakukan fiksasi yang benar. Kesalahan yang dilakukan pada tahap fiksasi tidak akan pernah dapat diperbaiki lagi pada tahapan selanjutnya. Jadi hasil akhir sajian histologi yang baik sangat tergantung pada cara melakukan fiksasi dengan baik.¹

Fiksasi adalah proses kimia pengawetan jaringan biologis sehingga mencegah autolisis atau proses pembusukan.³ Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan jaringan sehingga jaringan secara permanen mirip sedekat mungkin dengan keadaan saat hidup serta untuk mengeraskan sehingga memudahkan pembuatan jaringan irisan yang tipis.¹ Formalin buffer netral 10% telah digunakan sebagai cairan fiksatif rutin dan menjadi gold standard dalam laboratorium histologi selama beberapa dekade.⁴ Formalin memiliki beberapa kelebihan seperti pH mendekati normal, tidak terbentuknya pigmen formalin di sediaan serta bisa disimpan dalam waktu yang lama. Fiksasi konvensional yang umum digunakan adalah metode konvensional/ imersi yaitu dengan merendam potongan-potongan kecil dalam cairan fiksatif.¹ Pada metode ini, lapisan luarnya cepat terfiksasi namun bagian dalamnya terlambat dan mungkin mengalami perubahan pos mortem.⁵ Salah satu yang mempengaruhi fiksasi adalah waktu. Semakin lama jaringan menunggu untuk diawetkan, semakin banyak kehilangan organel sel dan pengerutan nukleus sehingga banyak artefak terbentuk.²

Terdapat metode lain yaitu metode fiksasi intravital yaitu dengan cara cairan fiksatif dialirkan ke seluruh tubuh melalui perfusi. Pada fiksasi metode konvensional memerlukan waktu sebelum jaringan direndam

dalam cairan fiksatif. Sebaliknya pada fiksasi metode intravital cairan fiksatif mencapai seluruh jaringan dengan lebih cepat karena cairan fiksatif dialirkan ke seluruh tubuh.^{2'}

Salah satu organ yang harus diperhatikan dalam proses fiksasi adalah hepar. Hepar adalah organ intestinal besar dengan berat antara 1,2 – 1,8 kg dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks.⁶ Sebanyak 70% persen dari jumlah sel atau 80% dari volume hepar merupakan sel hepatosit.⁷ Hepar memiliki jaringan yang padat sehingga kurang mendukung difusi cairan fiksatif.⁸ Pemilihan metode fiksasi pada jaringan ini sangat penting untuk mempermudah pengamatan. Perbandingan metode fiksasi formalin intravital dengan metode fiksasi konvensional terhadap gambaran histologis pada hepar tikus belum pernah dilakukan sebelumnya. Oleh karena itu penulis tertarik meneliti mengenai hal ini.

METODE PENELITIAN

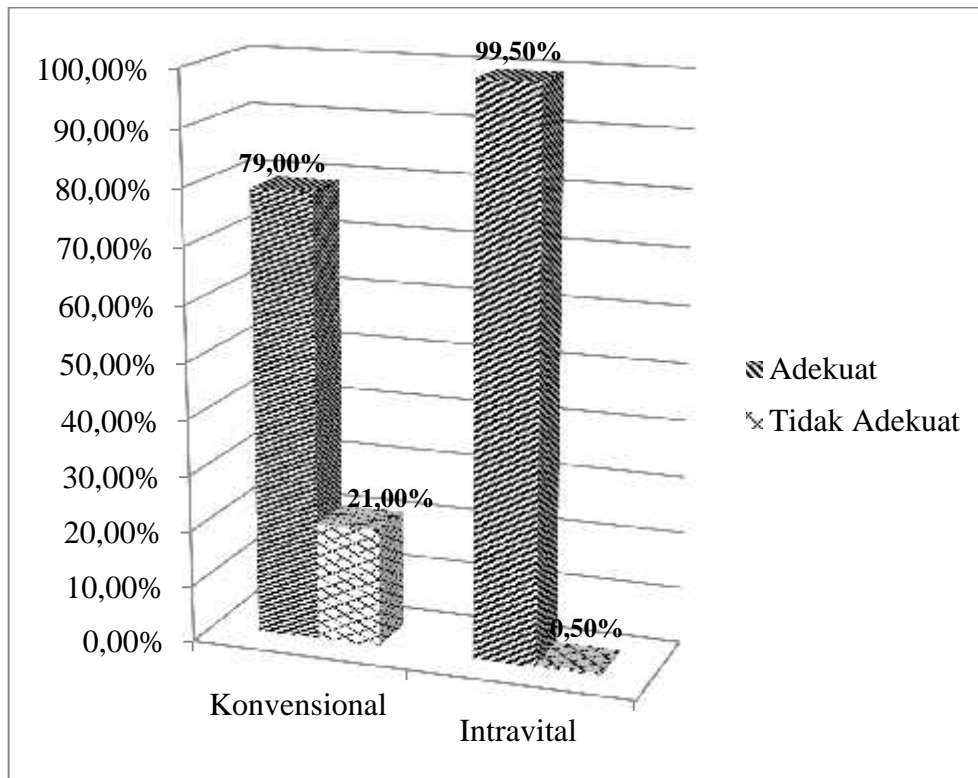
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode analitik dengan penelitian eksperimental. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikroskopis dan Laboratorium Non Mikroskopis Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak serta bagian patologi anatomi RSUD Soedarso. Total sampel pada penelitian ini yaitu sebanyak 20 ekor tikus. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok secara acak yaitu kelompok metode fiksasi intravital dan kelompok fiksasi konvensional. Pada Kelompok metode fiksasi intravital, tikus yang dibius secara inhalan dibedah mulai dari abdomen bawah hingga rongga thoraks. Insisi bagian *costosterno junction* hingga tampak bagian jantung. Perfusi NaCl 0,9% pada ventrikel kiri jantung menggunakan jarum halus dan gunting atrium kanan jantung. Darah hewan coba akan digantikan dengan Nacl yang ditandai dengan perubahan hepar menjadi pucat. Perfusi formalin di tempat yang sama, tanda formalin telah tersebar ke jaringan adalah fasikulasi otot yang dimulai dari kaku ekor dan ekstremitas. Setelah terjadi gejala khas

tersebut, tikus kembali dibedah dan diambil bagian hati. Organ yang diambil direndam pada cairan fiksatif formalin. Pada metode konvensional. Tikus yang terbius secara inhalan dibedah pada abdomen bawah dan langsung diambil bagian hepar. Organ hati yang diperoleh langsung direndam dalam cairan fiksatif formalin. Kemudian dilakukan pembuatan preparat yang diwarnai dengan pewarnaan HE. Tiap preparat dilakukan pengamatan pewarnaan inti sel, sitoplasma, kejernihan dan keseragaman. Data yang didapatkan dianalisis secara univariat dengan menampilkan grafik dan perbandingan kualitas gambaran histologis dari kedua metode dan secara bivariat dengan uji *Chi Square* serta uji *Fisher* sebagai alternatif. Seluruh perlakuan terhadap hewan coba telah mendapat persetujuan oleh divisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Dengan nomor : 1759/UN22.9/DT/2014.

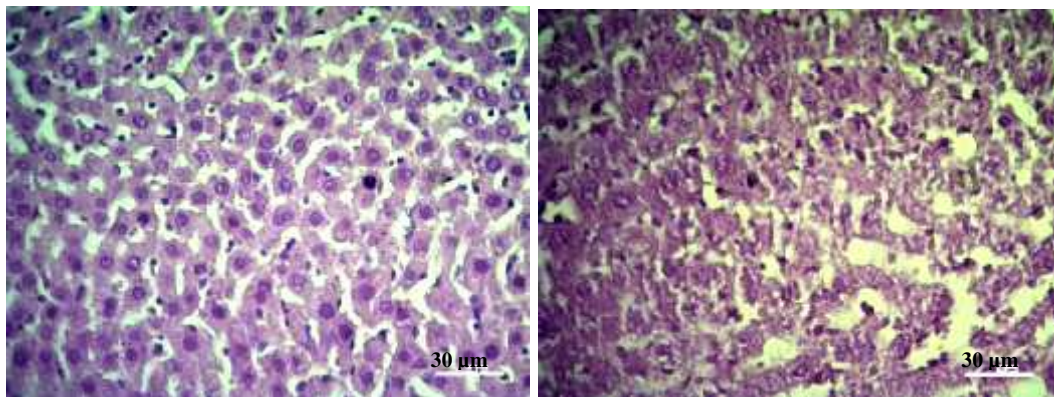
HASIL PENELITIAN

Pewarnaan Inti Sel

Hasil pengamatan pewarnaan inti sel didapatkan gambaran histologis hepar metode intravital memiliki pewarnaan yang lebih adekuat dibanding metode konvensional. Namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=1,000$). Grafik pengamatan pewarnaan inti sel bisa dilihat pada gambar 1. Perbandingan kualitas gambaran histologi pengamatan pewarnaan inti sel bisa dilihat pada gambar 2.



Gambar 1. Grafik Persentase Hasil Pengamatan Pewarnaan Inti Sel



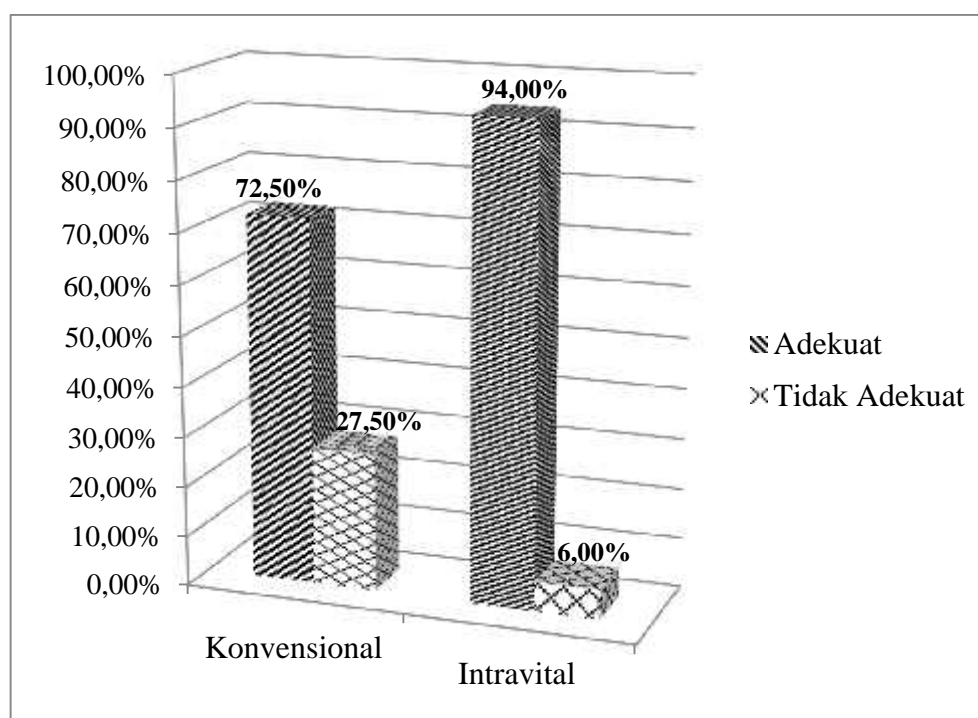
(a)

(b)

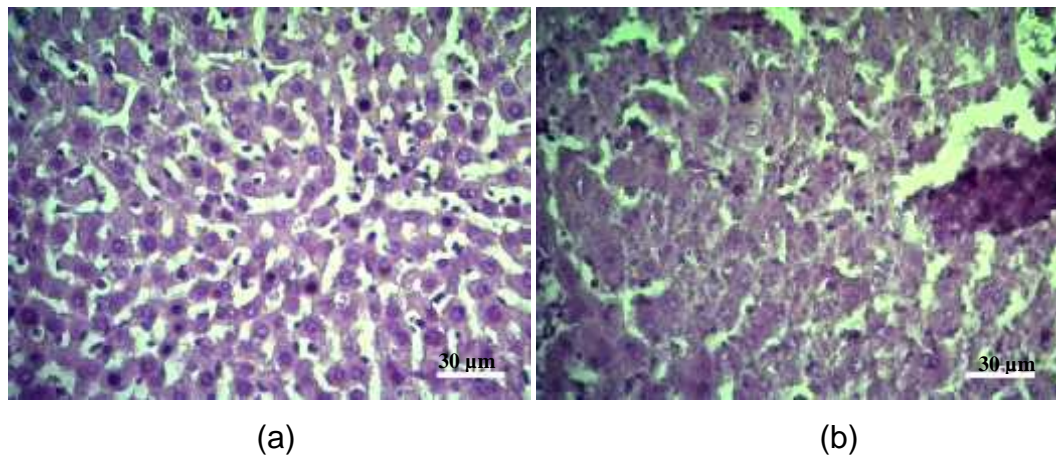
Gambar 2. Perbandingan Kualitas Gambaran Histologi Pewarnaan Inti Sel pada Metode Intravital (a) dan Metode Konvensional (b) dengan Pewarnaan HE (perbesaran objektif 40x)

Pewarnaan Sitoplasma

Pada pengamatan pewarnaan sitoplasma menunjukkan gambaran histologis hepar metode intravital memiliki pewarnaan yang lebih adekuat dibanding metode konvensional. Namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0,211$). Grafik pengamatan pewarnaan sitoplasma bisa dilihat pada gambar 3. Perbandingan kualitas gambaran histologi pengamatan pewarnaan sitoplasma metode konvensional dengan metode intravital bisa dilihat pada gambar 4.



Gambar 3. Grafik Persentase Hasil Pengamatan Pewarnaan Sitoplasma

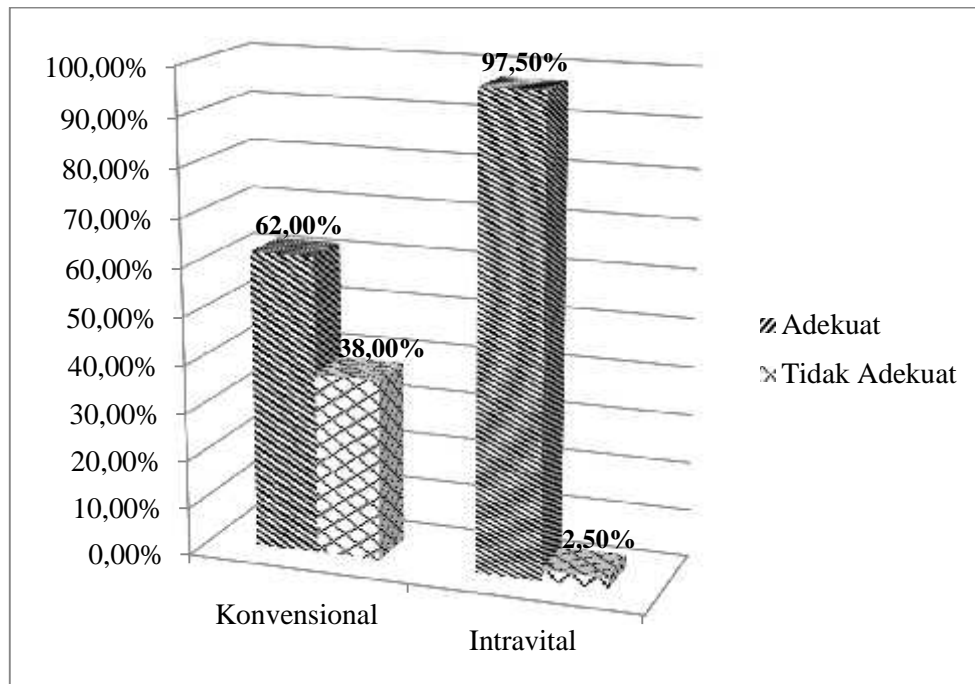


(a) (b)

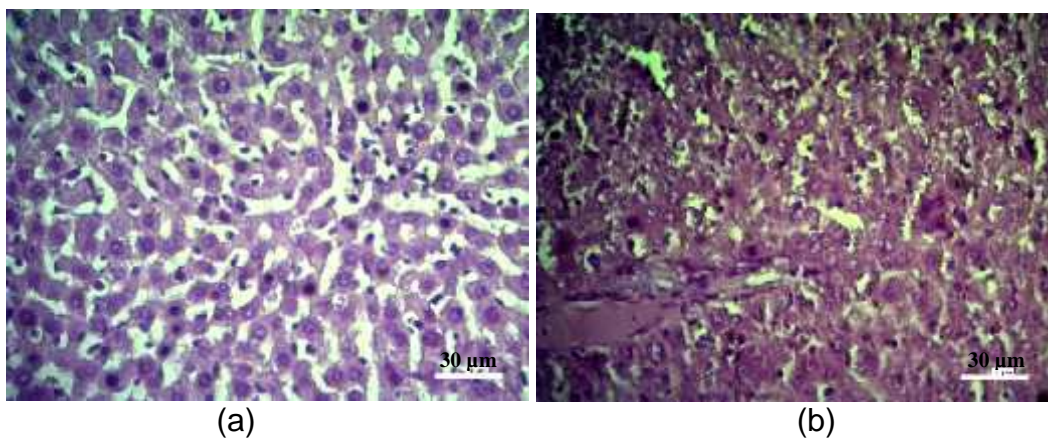
Gambar 4. Perbandingan Kualitas Gambaran Histologi Pewarnaan Sitoplasma pada Metode Intravital (a) dan Metode Konvensional (b) dengan Pewarnaan HE (perbesaran objektif 40x)

Kejernihan Pewarnaan

Hasil pengamatan kejernihan pewarnaan menunjukkan gambaran histologis hepar metode intravital memiliki pewarnaan yang lebih adekuat dibanding metode konvensional. Hasil analisis menunjukkan pula terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0,033$). Grafik pengamatan kejernihan pewarnaan bisa dilihat pada gambar 5. Perbandingan kualitas gambaran histologi pengamatan kejernihan pewarnaan bisa dilihat pada gambar 6.



Gambar 5. Grafik Persentase Hasil Pengamatan Kejernihan Pewarnaan

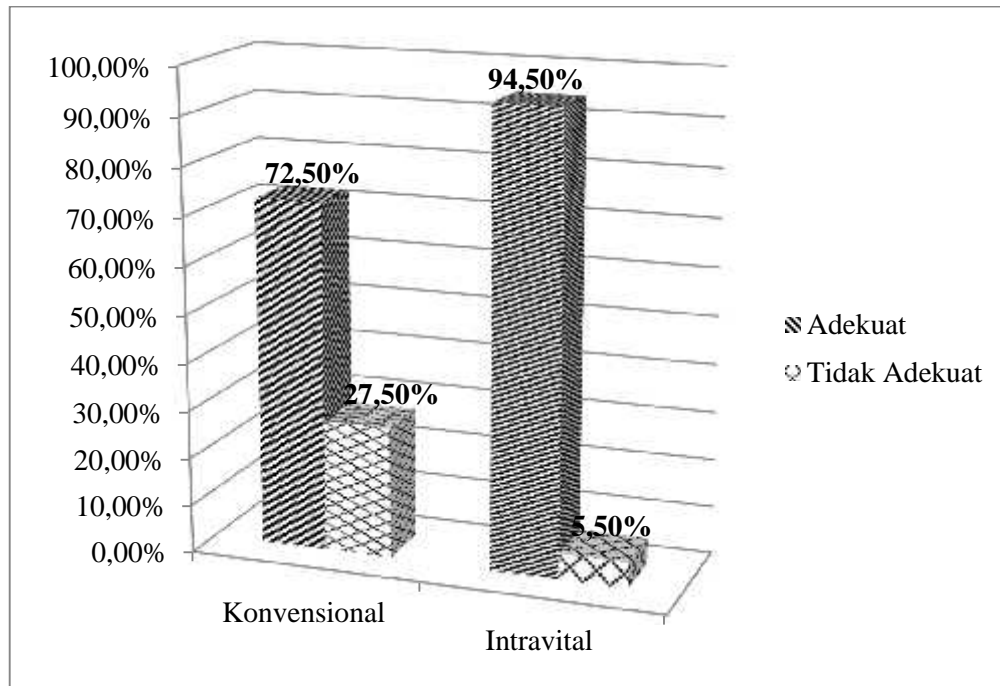


Gambar 6. Perbandingan Kualitas Gambaran Histologi Kejernihan Pewarnaan pada Metode Intravital (a) dan Metode Konvensional (b) dengan Pewarnaan HE (perbesaran objektif 40x)

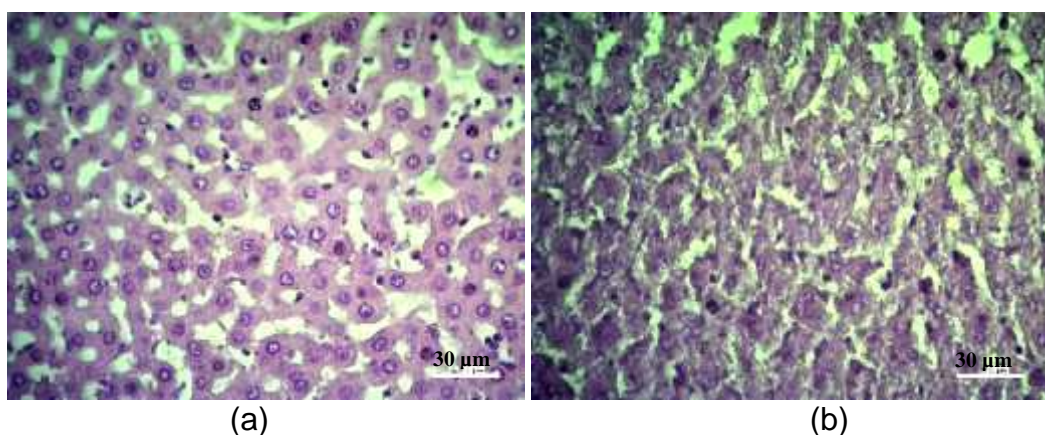
Keseragaman Pewarnaan

Hasil pengamatan keseragaman pewarnaan didapatkan gambaran histologis hepar metode intravital memiliki pewarnaan yang lebih adekuat dibanding metode konvensional. Namun tidak terdapat perbedaan yang

bermakna ($p= (0,474)$). Grafik pengamatan keseragaman pewarnaan bisa dilihat pada gambar 7. Perbandingan kualitas gambaran histologi pengamatan keseragaman pewarnaan pada metode konvensional dengan metode intravital bisa dilihat pada gambar 8.



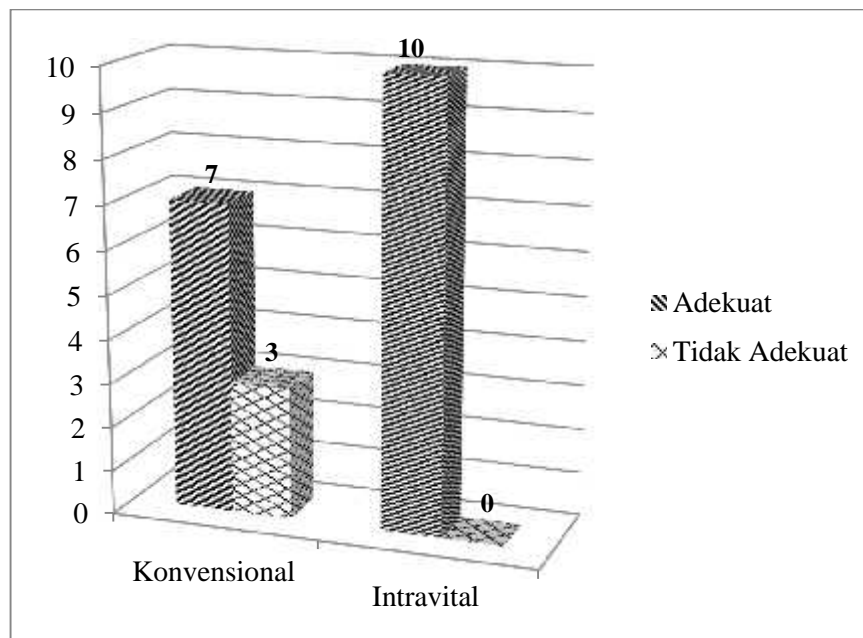
Gambar 7. Grafik Persentase Hasil Pengamatan Keseragaman Pewarnaan



Gambar 8. Perbandingan Kualitas Gambaran Histologi Keseragaman Pewarnaan pada Metode Intravital (a) dan Metode Konvensional (b) dengan Pewarnaan HE (perbesaran objektif 40x)

Hasil Pengamatan Berbagai Kriteria Pewarnaan

Hasil tiap kriteria yang diamati dijumlahkan dan dibagi menjadi 2 yaitu bila jumlahnya ≤ 2 maka pewarnaan tidak adekuat, sedangkan bila jumlahnya > 2 maka pewarnaan adekuat. Interpretasi hasil pengamatan berbagai kriteria pewarnaan menunjukkan bahwa metode fiksasi intravital lebih adekuat dibanding metode konvensional. Namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0,211$). Perbandingan grafik hasil pengamatan berbagai kriteria pewarnaan bisa dilihat pada gambar 9.



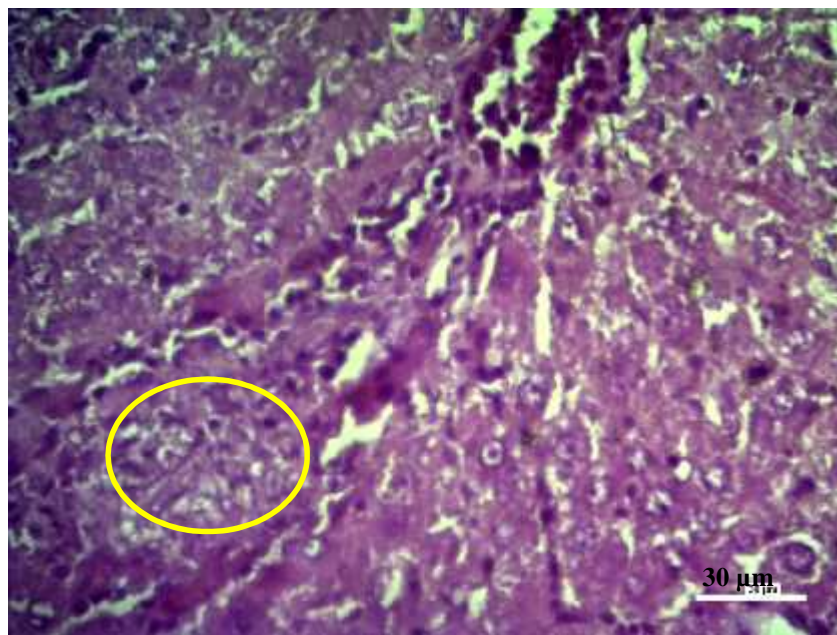
Gambar 9. Grafik Persentase Hasil Pengamatan Berbagai Kriteria Pewarnaan

Perhitungan Sel Lisis

Pada pengamatan perhitungan sel lisis didapatkan sel lisis hanya ada pada metode fiksasi konvensional, sedangkan pada semua preparat metode fiksasi intravital tidak ditemukan adanya sel lisis. Hasil pengamatan sel lisis bisa dilihat pada tabel 1. Sel lisis bisa dilihat pada gambar 10.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Perhitungan Sel Lisis

Metode Fiksasi	Preparat									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Konvensional	0.9	0	0.1	0.4	0	0	0.2	0.1	0.1	0.3
Intravital	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Gambar 10. Sel Lisis yang Ditunjukkan pada Daerah yang Dilingkari pada Preparat Konvensional Pewarnaan HE (perbesaran objektif 100x)

PEMBAHASAN

Pewarnaan Inti Sel

Pada pengamatan pewarnaan inti sel menunjukkan bahwa kualitas gambaran histologis dengan metode fiksasi intravital lebih baik dibandingkan dengan metode fiksasi konvensional walaupun pada analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=1.000$). Pada pewarnaan Haematoxylin dan Eosin, hematoxylin berperan sebagai pewarna dasar. Setiap komponen yang terwarnai oleh zat ini dianggap

basofilik. Struktur basofilik biasanya mengandung asam nukleat, seperti ribosom dan inti sel yang kaya kromatin, dan daerah sitoplasma yang kaya RNA. Struktur basofilik dalam jaringan tampak berwarna ungu kebiruan.⁹ Pewarnaan inti yang tidak adekuat artinya kurang adekuatnya hematoxylin yang mewarnai bagian inti seluler, Hal ini bisa disebabkan oleh fiksasi yang tidak adekuat atau terjadinya autolisis. Penyebab lainnya adalah proses penghilangan parafin yang tidak sempurna, waktu pewarnaan tidak adekuat, proses penghilangan warna terlalu kuat atau berlebihan, pemotongan yang tipis dan pH nya yang salah.¹⁰

Pewarnaan Sitoplasma

Pada pengamatan pewarnaan sitoplasma menunjukkan bahwa kualitas gambaran histologis dengan metode fiksasi intravital lebih baik dibandingkan dengan metode fiksasi konvensional. Namun pada analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0.211$). Pada Pewarnaan Haematoxylin dan Eosin, pada pewarnaan ini eosin berperan sebagai pewarna asam yang mewarnai komponen jaringan yang tidak berinti sehingga berwarna merah sampai merah muda. Sebagian besar sitoplasma bersifat asidofilik baik intraseluler ataupun ekstraseluler.⁹ Pada pewarnaan Sitoplasma, fiksasi yang tidak adekuat juga mempengaruhi sitoplasma. Akibat fiksasi yang buruk sitoplasma menjadi lebih pucat dan samar. Batas antar sel kabur dan sulit untuk diamati.¹¹ Sitoplasma yang tidak adekuat terwarnai oleh eosin bisa juga disebabkan oleh pH terlalu tinggi, dehidrasi dengan alkohol terlalu lama, kontaminan ketika dehidrasi dengan alkohol, pemotongan yang terlalu tipis, waktu pewarnaan yang tidak adekuat.¹⁰

Kejernihan Pewarnaan

Pada pengamatan kejernihan pewarnaan menunjukkan bahwa kualitas gambaran histologis dengan metode fiksasi intravital lebih baik

dibandingkan dengan metode fiksasi konvensional. Hal ini ditunjukkan pula dengan hasil analisis statistik yang terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0.033$). Fiksasi juga membuat kejernihan detail struktur.¹² Pada jaringan yang kejernihannya kurang mungkin bisa disebabkan oleh fiksasi juga yang tidak adekuat, selain itu hal ini juga bisa disebabkan kesalahan pada pengolahan jaringan. Kesalahan-kesalahan itu seperti terlalu singkat dalam proses pengolahan khususnya pada waktu pencetakan. Pilihan reagen yang kurang tepat, penggunaan reagen yang kurang, kesalahan mekanik pada alat, atau kesalahan pada penggantian pelarut pada mesin.¹³ Hasil pengamatan kejernihan pewarnaan menunjukkan bahwa metode fiksasi intravital lebih baik dibanding metode konvensional yang ditunjukkan pula dengan hasil analisis statistik yang terdapat perbedaan yang bermakna. Semakin cepat cairan fiksatif masuk ke jaringan maka semakin tinggi kejernihan pewarnaan yang terlihat.

Keseragaman Pewarnaan

Pada pengamatan kejernihan pewarnaan menunjukkan bahwa kualitas gambaran histologis dengan metode fiksasi intravital lebih baik dibandingkan dengan metode fiksasi konvensional. Hal ini ditunjukkan pula dengan hasil analisis statistik yang terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0.474$). Ketika jaringan direndam dalam cairan fiksasi, lapisan luarnya cepat terfiksasi, namun bagian dalamnya mengalami keterlambatan dan mungkin saja mengalami perubahan post-mortem, sehingga ketika diamati sel-sel yang berada di dalam mengalami perubahan dibandingkan dengan sel-sel permukaannya, sehingga bisa membuat kesalahan pada pengamat. Hasil fiksasi yang ideal diperlihatkan dengan semua sel yang seragam. Hal ini lebih khusus ditunjukkan dengan cara fiksasi intravital karena menggunakan sistem vaskuler. Karena teknik ini memungkinkan cairan fiksasi mencapai seluruh jaringan dengan lebih cepat karena cairan fiksasi dialirkan ke seluruh tubuh melalui perfusi.⁵

Hasil Pengamatan Berbagai Kriteria Pewarnaan

Pada hasil pengamatan berbagai kriteria pewarnaan menunjukkan bahwa kualitas gambaran histologis dengan metode fiksasi intravital lebih baik dibandingkan dengan metode fiksasi konvensional. Walaupun pada analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0.211$). Hal ini menunjukkan kedua metode sama-sama bisa digunakan, hanya saja untuk hasil yang optimal ditunjukkan pada metode fiksasi intravital. Kualitas preparat jaringan yang baik memungkinkan ahli patologi untuk mendiagnosa apakah terdapat penyakit atau tidak. Langkah pertama dan paling kritis dalam histoteknologi adalah fiksasi. Jika fiksasi tidak adekuat maka proses selanjutnya yaitu dehidrasi, pembedahan, pencetakan, pemotongan dan proses akhirnya yaitu pewarnaan pun akan tidak adekuat pula. Fiksasi yang buruk atau tidak adekuat akan mengakibatkan jaringan yang diproses menjadi kurang baik sehingga membuat sulit ahli patologi untuk mendiagnosis.¹⁴

Pada proses fiksasi terdapat faktor faktor yang mempengaruhi kualitas hasil fiksasi tersebut yaitu dapar, penetrasi, volume pengawet, konsentrasi, interval waktu, suhu dan jenis larutan fiksasi.¹ Fiksasi yang buruk bisa disebabkan oleh pemotongan spesimen yang tebal, waktu fiksasi yang kurang, tingkat penetrasi yang rendah karena ketebalan seperti adanya fascia atau kapsul, temperature yang terlalu tinggi yang mempercepat autolisis, ditempatkan pada cairan hipotonis sehingga menyebabkan autolisis, adanya darah sehingga menyebabkan terbentuknya pigmen formalin.¹⁵ Hepar memiliki jaringan yang padat sehingga kurang mendukung difusi cairan fiksatif. Pemilihan metode fiksasi pada jaringan ini sangat penting untuk mempermudah pengamatan. Hal ini dikarenakan fiksasi juga diperlambat oleh ukuran dan ketebalan spesimen jaringan. Pada penelitian ini yang paling berpengaruh adalah interval waktu. Hal ini dikarenakan Semakin lama jaringan menunggu untuk diawetkan, semakin banyak kehilangan organel sel dan pengerutan nukleus sehingga banyak artefak terbentuk. Pada fiksasi

metode konvensional memerlukan waktu sebelum jaringan direndam dalam cairan fiksatif. Sebaliknya pada fiksasi metode intravital cairan fiksatif mencapai seluruh jaringan dengan lebih cepat karena cairan fiksatif dialirkan ke seluruh tubuh.

Sel Lisis

Pada penelitian ini hanya didapatkan sel lisis pada metode konvensional sedangkan metode intravital tidak ditemukan. Fiksasi mengawetkan jaringan dengan cara menghentikan semua aktivitas seluler sehingga sel-sel bisa diamati di bawah mikroskop seperti sel-sel itu hidup. Jaringan harus ditempatkan pada cairan fiksatif sesegera mungkin ketika diambil dari organisme. Spesimen jaringan yang berada lama di luar menyebabkan perubahan morfologi. Sel-sel tersebut bisa hancur oleh enzim hidrolisis yang dikeluarkan oleh lisosom. Gambaran nekrosis akibat proses digesti enzimatis memerlukan waktu berjam-jam untuk timbul setelah jejas irreversibel yang terjadi. Namun perubahan yang tidak signifikan bisa terlihat dalam 20 sampai 40 menit setelah kematian sel.¹⁶ Pada fiksasi konvensional terdapat jeda antara spesimen jaringan yang akan diambil dengan ketika dilakukan fiksasi, sedangkan pada fiksasi intravital, organ spesimen tersebut langsung terfiksasi karena dilakukan ketika organisme masih hidup. Namun pada penelitian ini organ yang digunakan adalah hati yang bukan organ yang cepat lisis seperti otak sehingga sel-sel lisis tidak banyak terbentuk.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jusuf AA. Histoteknik dasar. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. [Tesis]. Jakarta, Universitas Indonesia; 2009
2. Zulham. Penuntun praktikum histoteknik Biomedik. Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. Medan. 2009; 1-25
3. Ganjali H, Ganjali M. Fixation in tissue processing. International Journal of Farming and Allied Sciences Vol., 2 (18); 2013; 686-9
4. Tanya E, Finchem. Effects of Fixation and Decalcification on Kappa and Lambda Staining by Immunohistochemistry. Histologic. Technical bulletin for Histotechnology Vol. XLI, No. 1. Torrance USA. 2007; 1-16.
5. Arvid BM, Bjorn AA. Biomedical Electron Microscopy Illustrated Methods and Interpretations. Academic Press. San Diego, California USA. 1999; 80-100
6. Amirudin R. Hepatobilier. Dalam : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Sudoyo, Aru W., dkk. Interna Publishing. Jakarta. 2009; 927-9
7. Gao B, Jeong W, Tian Z. Reviews liver: an organ with predominant innate immunity. hepatology, Vol. 47, No. 2, 2008; 729-36
8. Kilicoglu S, Erdemli E. Comparing the different fixatives for examination of liver tissue ultrastructure. Journal of Ankara University Faculty of Medicine. 2011; 64;76
9. Markus AR, Sarina M. Histopathology in Hematoxylin and Eosin stained muscle sections. Biozentrum, University of Basel, Basel, Switzerland. 2014; 1-9.
10. National Society for Histotechnology. Guidelines for Hematoxylin and Eosin Staining. Maryland. 2001; 1-11
11. Wolfgang L, Reinhard N. Artefacts. Atlas of Prostatic Cytology Techniques and Diagnosis. Springer Berlin Heidelberg. 1985; 65-71

12. Hayat MA. Microscopy, Immunohistochemistry and Antigen Retrieval Methods for Light and Electron Microscopy. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. 2002; 53-69
13. Rolls OG, Farmer JN, Hall BJ. Artifacts in Histological and Cytological Preparation. Scientia Leica Microsystems Education Series. April 2008; 27-30
14. Jocelyn HB, Gregorios, Bonnie Cohen. Fixation. Histopathologic Techniques Second Edition. Philippine. Goodwill Trading. 2006; 17-52.
15. Kiran Q, Michelle A, Christina ED. Histopathology: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1180, The Pathologist's Guide to Fixatives. 2014; 24-30
16. Richard NM, Ramzi SC. Jejas, Adaptasi dan Kematian Sel dalam Buku Ajar Patologi Edisi 7 vol. 1 Kumar dkk. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2007; 3-34.