



**IDENTIFIKASI PENGARUH LAMA WAKTU PERENDAMAN FIKSASI
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PANKREAS
PADA MENCIT (*Mus musculus*) SETELAH INDUKSI
ALOKSAN**

**,Sri Anggarini Rasyid¹, Elsa Sapitri³, Marsidin³
D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Mandala Waluya
Email: anggarini.09@gmail.com**

ABSTRAK

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan model hiperglikemik. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental(hiperglikemik) pada hewan percobaan.. Fiksasi merupakan suatu perlakuan tertentu terhadap elemen-elemen jaringan, terutama inti sel atau nukleusnya, sehingga dapat di awetkan dalam kondisi aslinya. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui apakah pengaruh pewarnaan pada sediaan morfologi histologi pankreas pada sitoplasma akibat lama waktu perendaman fiksasi 5 jam dan 9 jam pada mencit setelah induksi aloksan.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen. Populasi yang digunakan adalah 3 ekor mencit, 1 ekor sebagai kontrol negatif dan 2 ekor yang telah induksi Aloksan

Hasil penelitian idenfikasi gambaran histopatologi pankreas mencit dilakukan dengan menggunakan metode histoteknik dan pewarnaan *hematoxyline eosin*. dari 3 sampel pankreas mencit, 1 mencit yang tanpa perlakuan dan 2 mencit yang telah diberikan perlakuan menunjukkan gambaran sitoplasma, inti sel, dan sel asinar tampak normal. Hal ini menunjukkan bahwa fiksasi selama 5 jam dan 9 jam masih masuk kedalam waktu yang direkomendasikan untuk dipakai dalam melakukan fiksasi untuk histoteknik.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil gambaran histopatologi pankreas mencit (*Mus musculus*) pasca induksi Aloksan adalah jaringan pankreas yang diamati di labolatorium klinik Universitas Mandala Waluya tidak mengalami kerusakan setelah fiksasi 5 jam dan 9 jam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan waktu fiksasi 5 jam dan 9 jam masih masuk kedalam waktu yang direkomendasikan untuk dipakai dalam melakukan fiksasi untuk histoteknik.

Kata Kunci : Fiksasi, Aloksan, Histipatologi Pankreas, *Hematoxyline Eosin*



PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. Gejala umum dari diabetes melitus adalah poliuria, polifagia, polidipsia. Klasifikasi dari diabetes melitus Tipe 1, Diabetes Melitus Tipe 2, diabetes melitus Gestasional, dan diabetes melitus tipe lainnya (Chaidir,dkk,2017).

Dasar dari pembuatan sediaan histologi yang baik adalah melakukan fiksasi yang baik. Kesalahan yang dilakukan pada awal fiksasi akan membuat fiksasi sampe akhir mengalami pembusukkan jaringan dan tidak akan mempertahankan struktur jaringannya. Jenis larutan fiksasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah fiksasi sitoplasma (larutan Muller, formol salin, formol calsium, zenker formol). Dimana larutan ini digunakan ketika jaringan akan diwarnai dengan pewarnaan histokimia.

Fiksasi merupakan suatu perlakuan tertentu terhadap elemen-elemen jaringan,

terutama inti sel atau nukleusnya, sehingga dapat diawetkan dalam kondisi aslinya. Secara umum fiksasi dilakukan selama 12-24 jam. tergantung dari jenis fiksatifnya. Fiksasi sitoplasma larutan formalin harus membutuhkan waktu minimal 24 jam baru bisa dilakukan dehidrasi. Jika jaringan difiksasi dengan formalin selama 24 jam maka sebagian besar dari formalin tersebut akan luruh, tetapi formaldehida bereaksi sangat cepat dengan komponen jaringan dan sebagian reaksi bersifat reversible. Semakin lama fiksasi dengan formalin dapat menyebabkan penyusutan dan pengerasan dari jaringan (Rahmadani,2018).

Aloksan adalah salah satu agen diabetogenik umum yang sering digunakan untuk menilai potensi antidiabetes dari senyawa murni dan ekstrak tumbuhan dalam studi yang melibatkan diabetes. Pemberiaan aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada

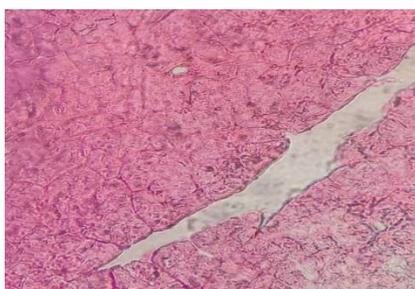


binatang perobaan . aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal atau subkutan. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2. Penginduksiaan hewan uji melalui rute intraperitoneal yaitu posisi kepala mencit lebih rendah dari abdomen. Jarum disuntikkan dengan sudut sekitar 100 dari abdomen pada daerah yang sedikit menepi dari garis tengah, agar jarum suntik tidak mengenai kandung kemih. (Nifadila dkk., 2022).

METODE PENELITIAN

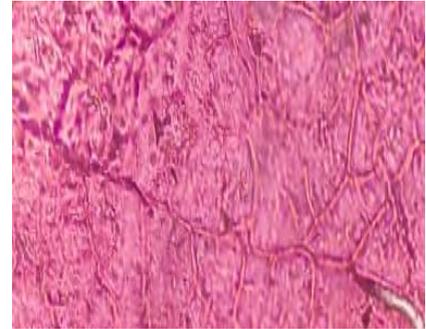
Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen. Untuk mengetahui pengaruh lama perendaman fiksasi terhadap gambaran histopatologi pankreas pada mencit setelah induksi aloksan.

a. Kelompok 1 (Kontrol)

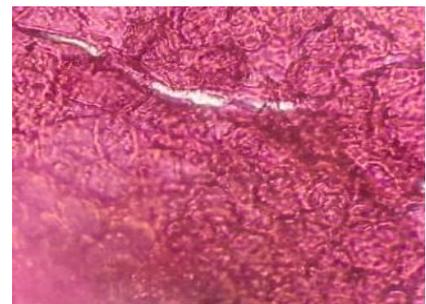


Gambar 5.3 Histologi hasil pankreas mencit kontrol negatif menggunakan pewarnaan HE (perbesaran 40×)

b. kelompok 2 (pasca induksi Aloksan)



Gambar 5.4 Histologi pankreas mencit fiksasi 5 jam (P1) menggunakan pewarnaan HE (perbesaran 40×)

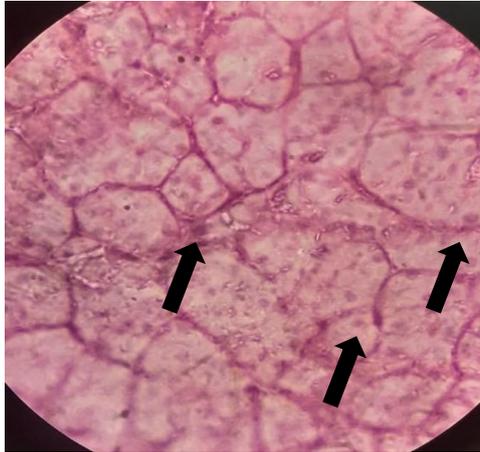


Gambar 5.5 Histologi pankreas mencit fiksasi 9 jam (P2) menggunakan pewarnaan HE (perbesaran 40×)

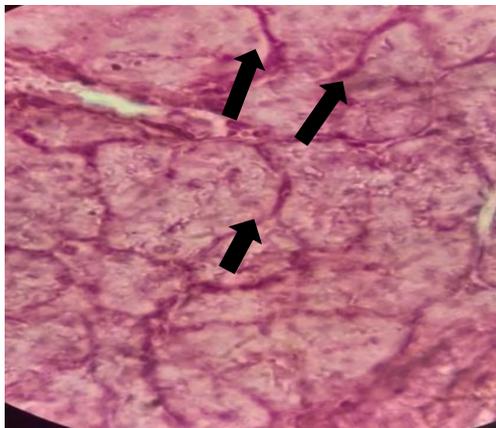
Keterangan : Dari hasil pewarnaan antara mencit kontrol pada gambar 5.3 dan mencit yang telah di induksi aloksan (P1 dan P2) terdapat perbedaan, dimana jaringan pankreas mencit kelompok kontrol dan jaringan kelompok pankreas mencit fiksasi 5 jam (P1) menyerap zat warna HE dengan baik dimana terlihat gradasi warna yang merata. Sedangkan pada jaringan kelompok pankreas mencit yang di fiksasi 9 jam (P2) pada gambar 5.5 terlihat warna yang agak pekat pada preparat jaringan saat di amati



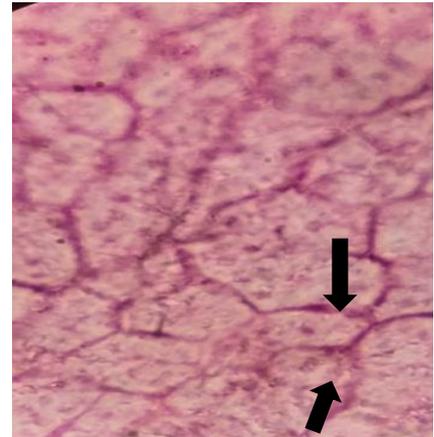
dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x. sehingga dapat disimpulkan pada perbesaran 40xb belum terlalu nampak sitiplasma dan inti sel.



Gambar 5.6. histologi pankreas mencit kontrol pewarnaan HE (perbesaran 100x). keterangan : a. sel asinar, b. inti sel, c. sitoplasma



Gambar 5.7. histologi pankreas mencit fiksasi 5 jam (P1) pewarnaan HE (perbesaran 100x). keterangan : a. sitoplasma, b. sel asinar normal, c. inti sel normal



Gambar 5.8. histologi pankreas mencit fiksasi 9 jam pewarnaan HE (perbesaran 100x). keterangan : a. inti sel normal, b. sitoplasma

Keterangan : dari gambar perbesaran 100x nampak jelas sitoplasma, inti sel dan sel asinar dari kelompok kontrol negatif pada gambar 5.3 dan kelompok perlakuan induksi aaloksan pada gambar 5.4 dan 5.5 terlihat sitoplasma yang berwarna kemerahana yang menyerap hematoxyline dan kelompok yang diberikan perlakuan aloksa terlihat warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat ada preparat yang seragam.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di Labolatorium Klinik Universitas Mandala Waluya Kendari, dengan menggunakan sampel organ pankreas mencit (*Mus musculus*). Dimana penelitian ini dilakukan untuk mengindetifikasi gambaran histopatologi pankreas mencit setelah induksi aloksan. Untuk mengetahui gambaran histopatologi



pankreas mencit dapat dilakukan dengan menggunakan metode histoteknik yang merupakan proses untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisa

Pengamatan histologi pankreas mencit dilakukan karena organ ini menjadi penyebab utama rusaknya insulin pada organ pankreas . Pankreas adalah suatu organ yang terdiri dari jaringan endokrin dan eksokrin. Jaringan endokrin pankreas mengontrol hormon insulin dan glukagon yang berperan penting dalam mengatur metabolisme glukosa, lipid, dan protein secara normal. Jaringan eksokrin pankreas menghasilkan getah pankreas yang mengandung enzim pencernaan yang disekresikan ke usus halus. Hiperglikemia disebabkan karena kelainan sekresi insulin, atau gangguan kerja dari insulin. Keadaan hiperglikemia pada diabetes menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas dan penurunan sejumlah anti oksidan dan akhirnya terjadi peristiwa yang disebut stres oksidatif. (Gustap, dkk 2019)

Pengamatan secara makroskopis dilakukan pada mencit tanpa perlakuan dan mencit yang sebelumnya telah diberikan atau di induksi Aloksan dengan tingkatan dosis yang sama. Mencit pada kelompok 2 yaitu yang diberikan perlakuan dengan menginduksi Aloksan melalui rute *intraeritoneal*. Injeksi *intraperitoneal* adalah penyuntikkan suatu zat ke dalam *peritoneum* (rongga tubuh). Ruang *intraperitoneal* terletak di dalam rongga perut tetapi dibungkus peritoneum. Struktur di dalam ruang *intraperitoneal* disebut "*intraperitoneal*" (misalnya, lambung dan usus). Pemberian obat yang paling baik diberikan secara *intraperitoneal* yaitu obat di injeksikan melalui abdomen (rongga perut) dimana penyerapan dirongga perut ini cepat terjadi karena pada rongga abdomen mengandung banyak pembuluh darah yang nantinya zat tersebut akan di bawah oleh aliran darah masuk kedalam pankreas sebelum nantinya zat tersebut.

Hasil pengamatan yang dilakukan



dapat di lihat bahwa dari kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan yaitu P1(5jam) dan P2(9 jam), gambaran makroskopis menunjukkan permukaan pankreas yang licin dan warnanya terlihat putih pucat, kemudian tidak menunjukkan adanya perubahan atau kelainan apapun. Konsistensi pankreas masih kenyal pada semua perlakuan dan tidak mengalami pengerasan atau kerusakan. Pengamatan secara makroskopis pankreas mencit (*Mus musculus*) telah dicek kebenarannya oleh laboran fakultas kedokteran Universitas Halu Oleo.

Berdasarkan hasil penelitian pemeriksaan histopatologi pada organ pankreas mencit (*Mus musculus*) didapatkan tidak adanya kerusakan pada organ pankreas mencit (*Mus musculus*) ini dikarenakan Aloksan yang bersifat sementara dalam menaikkan kadar glukosa mencit, dimana Aloksan ini hanya dapat bertahan selama 24-72 jam saja. Hal ini sesuai dengan penelitian Husna tahun 2019 yang mengatakan bahwa Aloksan menyebabkan penurunan glikogen hepatic dalam 24-72 jam dan efek

sitotoksisitasnya terutama disebabkan oleh karena konversi anion radikal yang menyebabkan kerusakan pankreas yang akhirnya menurunkan kadar insulin.

Aloksan adalah salah satu agen diabetogenik umum yang sering digunakan untuk menilai potensi antidiabetes dari senyawa murni dan ekstrak tumbuhan dalam studi yang melibatkan diabetes. Pemberiaan aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang perobaan . aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal atau subkutan.s.

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan melihat struktur histopatologi pankreas dari sayatan preparat awetan jaringan pankreas. Analisis histopatologi menggunakan pewarna *Hematoxyline Eosin* (HE). HE merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk melihat perubahan yang terjadi pada suatu jaringan. Penggunaan



dua jenis pereaksi (*Hematoxyline-Eosin*) pada metode ini, akan memudahkan pengamatan perubahan patologik dengan mewarnai organel dan inti sel secara terpisah. Sitoplasma (organel) akan terwarnai menjadi merah muda oleh adanya eosin dan inti sel akan terwarnai menjadi ungu oleh adanya *hematoxyline* (Mescher,2011).

Pemeriksaan preparat jaringan pankreas diamati dengan mikroskop dilakukan dengan perbesaran 10× kemudian di lanjutkan dengan perbesaran 40× dan 100x. Menurut Aughey dan Frue (2001), preparat histopatologi yang baik memiliki ciri-ciri seperti nukleus berwarna biru tua, sitoplasma dan serat berwarna merah muda, sel-sel lemak tidak terwarna, sel-sel lemak akan menghilang ketika pemrosesan jaringan dilakukan dengan benar, tidak memiliki artefak seperti lipatan, goresan,presipitasi pewaraan, robekan dan terlihat kotoran akibat penyaringan larutan yang tidak bersih.

Hasil pengamatan histopatologi pankreas mencit dengan menggunakan pewarnaan HE pada mencit yang tidak

diberikan perlakuan terdapat pada gambar

5.3. pada mencit kelompok kontrol terlihat sitoplasma yang berwarna kemerahan yang menyerap hematoksilin dan pada gambar 5.4 dan 5.5 kelompok yang telah diberikan perlakuan Aloksan terlihat warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam. Ini di karenakan formalin 10% memiliki kemampuan penetrasi yang cukup baik pada jaringan.

Hasil pewarnaan antara mencit kontrol dan mencit yang diberikan perlakuan (P1 dan P2) terdapat perbedaan, dimana jaringan pankreas mencit kelompok kontrol dan jaringan kelompok pankreas mencit fiksasi 5 jam (P1) menyerap zat warna HE dengan baik dan terlihat gradasi warna yang merata. Sedangkan pada jaringan kelompok pankreas mencit yang di fiksasi 9 jam (P2) terlihat warna yang agak pekat pada preparat jaringan saat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x dibandingkan dengan kontrol dan P1.



Berdasarkan hasil pemeriksaan pada perbesaran 40x terlihat sitoplasma dan inti sel tampak tidak terlalu jelas maka di lanjutkan pada perbesaran 100x dimana pada perbesaran ini sitoplasma dan inti sel tampak jelas dilihat. Berdasarkan hasil pemeriksaan tidak ditemukan adanya perbedaan antara fiksasi jaringan kontrol negatif dan fiksasi kontrol positif (P1 dan P2). Ditandai dengan sitoplasma dan inti sel serta sel asinar yang tampak normal seperti pada gambar 5.6, 5.7 da 5.8 dengan perbesaran 100x dari kelompok kontrol negatif dan kelompok positif (P1 dan P2) yang diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x.

Penelitian yang dilakukan oleh Rahmadani (2018) hasil penelitian tersebut pada fiksasi selama 6 jam dan 24 jam menggunakan BNF 10% diperoleh hasil mikroskopis baik yang ditandai dengan warna biru pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam ini dikarenakan larutan BNF 10% memiliki kemampuan penetrasi yang cukup baik pada jaringan. Sedangkan untuk

fiksasi menggunakan Metanol selama 7 hari dengan mikroskopis yang diperoleh kurang baik, yang ditandai dengan warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman pada preparat kurang, karena terjadi over fiksasi pada jaringan menyebabkan penyerapan HE kurang sempurna.

Penelitian yang dilakukan oleh alwi (2016) hasil penelitian tersebut pada fiksasi 2 minggu menggunakan formalin 10% diperoleh hasil jaringan yang di fiksasi 2 minggu jaringan tampak lebih rusak. Hal ini disebabkan oleh pemotongan jaringan yang terlalu keras akibat fiksasi yang terlalu lama. Terdapat pengekerutan sel yang lebih signifikan pada perlakuan fiksasi 2 minggu pada sel. Hal ini disebabkan oleh efek dehidrasi yang meningkat akibat efek samping fiksasi

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil gambaran



histopatologi pankreas mencit (*Mus musculus*) pasca induksi Aloksan adalah jaringan pankreas yang diamati di laboratorium klinik Universitas Mandala Waluya tidak mengalami kerusakan setelah fiksasi 5 jam dan 9 jam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan waktu fiksasi 5 jam dan 9 jam masih masuk kedalam waktu yang direkomendasikan untuk dipakai dalam melakukan fiksasi untuk histoteknik

DAFTAR PUSTAKA

Anil, S, dan Rajendran. *Shafer's Textbook Of Oral Pathology*. 6th Edition : Elsevier. 935-53. 2019.

Aniska Tiara. Studi Epidemiologi Terhadap Kejadian Diabetes Melitus Pada Usia Lanjut di Desa Purwodadi. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol. 6, No. 2. 2022.

Alwi Azharan Muhammad. Fiksasi 2 Minggu Pada Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus *Sprague Dawley* Dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. *Jurnal Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*. Vol 2, No. 5

Chaidir Reny, Ade Sry Wahyuni, Deni Wahyu Furkhani. Hubungan Self care Dengan Kualitas Hidup Pasien Diabetes Melitus. *Journal Endurance*, vol.2,No.2. 2017

Ellyawati. Penentuan Waktu Yang Teat Pada Proses Staining Dalam Pembuatan Preparat Histologis Hati. Vol. 1, No. 1

Ermawati Tantin. Periodontitis dan Diabetes Melitus. *Jurnal Stomatognatic (J.K.G Unei)*. Vol. 9, No. 3. 2012

Julianti. Gambaran Mikroskopis Carcinoma Mammae Yang Difiksasi Dengan Nbf 10% dan Alkohol 70% Pada Pewarnaan He. Karya tulis Ilmiah : Universitas Muhammadiyah Semarang. 2017.

Jusuf, A.A. Histoteknik dasar. Skripsi : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2009.

Khristian, Erick, dan Inderiati, Dewi. *Sitohistoteknologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017,

Mayangsari Meta Aprilia, Fitri Nurioni, Tulus Ariyadi. Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut Pada Proses Deparafinasi Menggunakan Xylol dan Minyak Zaitun Pada Pewarnaan HE. *Jurnal Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*. Vol. 2. 2019.

Meldawati. Pengaruh Ekstrak Daun Salam Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Wistar Model Diabetes Melitus. 2022.

Mescher, A.L. *Junqueira's Basic Histology Text And Atlas, 12th Ed*. United States; The Mc Graw -Hill Companies. 2010

Mujimin dan Sri Suratmi. Teknik Mencampur Larutan Fiksasi Untuk Histologi. *Jurnal Bul. Tek. Lit. Akuakultur*. Vol. 11, No. 2. 2013

Mukhlis, Putra Wibowo, Elsa Adellia. Inovasi Pemanfaatan Limbah Kulit *Musa Acuminata* Menjadi *Cokup Cookies* Kulit Pisang) Sebagai *Health Promotion* Dalam Pencegahan Diabetes Melitus Hasil Pembimbingan Karya Ilmiah Remaja MAN 2 Kab. Mojokerto). *Jurnal Diklat Keagamaan*, Vol. 14, No. 3. 2020



Musyarifah Zulda, Salmiah Agus. Proses Fiksasi Pada Pemeriksaan Histopatologi. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Vol. 7, No. 3. 2018.

Nifadila Virent O, Dachi, Teuku Arif Rayyan, Sherlinda Putri Utami, Rena Mutia, Khainir Akbar, Christina J.R Esmaralda Lumbantobing, Sidharta Kunardi, Jansen, Michelle Hendriani Djuang. Pengaruh variasi Pemberian Dosis Aloksan Terhadap Angka Kadar Gula Darah Hewan Coba. *Jurnal Prima Medika Sains*. Vol. 4, No. 1. 2022.

Nugroho, Rudy Agung. 2018 Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. Mulawarman Universitas Press. Samarinda.

Prahanarendra Galang. Studi Awal Histoteknik. Skripsi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Uin Syarif Hidayatullah Jakarta. 2015.

Rasyid Sri Anggarini dan Dini Anggraeni Nasruddin. Identifikasi Gambaran sHistopatologi Ginjal Pada Mencit (*Mus Musculus*) Pasca Injeksi Azoxymethane (AOM) dan Dextran Sodium Sulfate (DSS). *Jurnal MediLab Mandala Waluya*. Vol. 5, No. 2. 2021

Rahmadani Aviana Fitri, Sri Sinto Dewi, Arya Iswara. Pengaruh Lama Fiksasi BNF 10% Dan Metanol Terhadap Gambaran Mikroskopis Jaringan Dengan Pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*). *Jurnal Manuscript*. Vol. 5, No. 7

Safitri Nur, Sanatang, Titi Purnama. Perbandingan Jumlah Sel Darah (Leukosit, Trombosit dan Eritrosit Pada Penderita Diabetes Miletus Tipe 2 Dengan Ulkus Diabetikum dan Yang Tidak Mengalami Ulkus Diabetikum di Rsud Kab. Bombana. *Jurnal MediLab Mandala Waluya*. Vol. 6, No. 1. 2022

Suryani Nany, Tinny Endang H, Aulanni'am. Pengaruh Ekstrak Eetanol Biji

Mahoni Terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- α dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 27, No.3. 2013

Tandi Joni, Moh Rizky, Rio Mariani, Fajar Alan. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Parkinson Ex F.A.Zorn) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kolesterol Total dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus nourvegicus*) Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol 1, NO 8. 2017