

Pembuatan Sediaan Pemeriksaan Histopatologi Kanker Payudara (*Mammae carcinoma*) di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP H. Adam Malik Medan Sumatera Utara

Evana Monalisa Br Sebayang^{1*}, Adeline Leo², Muh Ade Artasasta³

^{1,3}Program Studi Bioteknologi, Universitas Negeri Malang

e-mail: ^{1*}evanamonalisa@gmail.com

²Laboratorium Patologi Anatomi RSUP H. Adam Malik Medan

Abstrak

Kanker payudara adalah suatu keganasan pada payudara karena adanya pertumbuhan abnormal sel-sel di jaringan payudara. Pertumbuhan yang abnormal ini berasal dari epitel duktus maupun lobulus payudara yang pertumbuhannya tidak dapat dikendalikan. Kanker payudara dapat bermetastasis ke bagian tubuh lainnya melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening. Beberapa hal yang dapat dilakukan untuk skrining kanker payudara yaitu pemeriksaan payudara sendiri (SADARI), periksa payudara klinis (SADANIS), pemeriksaan pencitraan dan pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan pencitraan termasuk salah satu pemeriksaan yang sangat penting untuk mendiagnosis kanker payudara. Pemeriksaan pencitraan yang dapat mendiagnosis kanker payudara terdiri dari ultrasonografi (USG) payudara, mammografi payudara, magnetic resonance imaging (MRI). Namun pemeriksaan USG payudara saja belum bisa mendiagnosis kanker payudara sehingga diperlukan pemeriksaan lanjutan yaitu pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan histopatologi adalah gold standard untuk mendiagnosis kanker payudara. Dengan pemeriksaan histopatologi kita bisa mengetahui histologi dan 3 stadium pada kanker payudara. Walaupun pemeriksaan histopatologi memerlukan waktu untuk mendapatkan hasilnya dan belum tentu semua rumah sakit mempunyai laboratorium patologi anatomi yang lengkap untuk pemeriksaan kanker payudara. Dan harus mengetahui pembuatan sediaan histopatologi kanker payudara yang baik dan benar. Hasil sediaan patologi yang baik apabila memenuhi standar parameter pewarnaan yang terang jelas dan kualitas sediaan yang dapat dibaca dibawah mikroskop.

Kata kunci— kanker payudara, gold standar, sediaan histopatologi

1. PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah suatu keganasan pada payudara karena adanya pertumbuhan abnormal sel-sel di jaringan payudara. Pertumbuhan yang abnormal ini berasal dari epitel duktus maupun lobulus payudara yang pertumbuhannya tidak dapat dikendalikan. Kanker payudara dapat bermetastasis ke bagian tubuh lainnya melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening. Menurut buku Ajar Patologi, kanker payudara adalah kelainan payudara pada perempuan dan laki-laki yang berbentuk massa atau nodus yang dapat diraba. Kanker payudara merupakan penyakit dengan mortalitas yang tinggi di Indonesia maupun di dunia. Menurut data International Agency for Research on Cancer (IARC) pada tahun 2020, kanker payudara merupakan salah satu penyakit dengan mortalitas yang tinggi pada wanita. Diperkirakan jumlah kasus baru sebanyak 30.8% di dunia yang diikuti oleh kanker serviks sebanyak 17.2% dan kanker ovarium sebanyak 7%. Berdasarkan data yang didapat dari Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) pada tahun 2020, kanker payudara yang terjadi di Indonesia memiliki tingkat prevalensi dan mortalitas yang cukup tinggi dengan persentase kasus baru sebanyak 16.6%, diikuti oleh 9.6% tingkat kematian yang disebabkan oleh kanker payudara. Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI) tahun 2019, kanker payudara merupakan jenis kanker yang menjadi penyebab utama kematian pada perempuan dengan angka kejadian sebesar 42.1 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 17 per 100.000 penduduk.

Kanker payudara merupakan penyakit dengan prognosis yang buruk. Hal ini disebabkan karena banyak pasien yang datang untuk memeriksakan diri pada stadium yang telah tinggi, sehingga penanganan terhadap kasus kanker payudara menjadi terlambat. Hal ini diperkirakan terjadi karena kondisi sosioekonomi dan tingkat pengetahuan masyarakat terkait kanker payudara yang masih rendah. Beberapa hal yang dapat

dilakukan untuk skrining kanker payudara yaitu pemeriksaan payudara sendiri (SADARI), periksa payudara klinis (SADANIS), pemeriksaan pencitraan dan pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan pencitraan termasuk salah satu pemeriksaan yang sangat penting untuk mendiagnosis kanker payudara. Pemeriksaan pencitraan yang dapat mendiagnosis kanker payudara terdiri dari ultrasonografi (USG) payudara, mammografi payudara, magnetic resonance imaging (MRI). Namun pemeriksaan USG payudara saja belum bisa mendiagnosis kanker payudara sehingga diperlukan pemeriksaan lanjutan yaitu pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan histopatologi adalah gold standard untuk mendiagnosis kanker payudara. Dengan pemeriksaan histopatologi kita bisa mengetahui histologi dan stadium pada kanker payudara. Walaupun pemeriksaan histopatologi memerlukan waktu untuk mendapatkan hasilnya dan belum tentu semua rumah sakit mempunyai laboratorium patologi anatomi yang lengkap untuk pemeriksaan kanker payudara. Untuk pemeriksaan histopatologi perlu memerhatikan teknik pembuatan sediaan yang baik dan benar untuk menunjang pemeriksaan kanker payudara tersebut, maka dari itu berdasarkan latar belakang itu penulis tertarik untuk mengetahui pembuatan sediaan histopatologi kanker payudara yang baik dan benar.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemeriksaan Patologi Anatomi

Diagnosis histopatologi dan sitopatologi, yang merupakan hasil interpretasi pemeriksaan histopatologi dan sitopatologi, sampai saat ini berfungsi sebagai diagnosis sebagian besar penyakit. Ketepatan diagnosis histopatologi dan sitopatologi bergantung pada penanganan dan pengolahan bahan pemeriksaan yang baik dan kompetensi dokter spesialis patologi anatomi. Mutu hasil proses jaringan sangat erat hubungannya dengan penanganan bahan pemeriksaan yang benar sejak awal jaringan atau sel dan cairan dipisahkan dan tubuh. Tahap ini kegiatan utamanya ialah melakukan pencatatan data pasien dan preservasi jaringan atau sel pasca

operasi atau biopsi. Tahap selanjutnya, analisis dilakukan setelah jaringan atau sel tiba di laboratorium Patologi Anatomi yang juga terdiri dan pencatatan data bahan pemeriksaan dan pasien yang selanjutnya diikuti dengan pengolahan bahan pemeriksaan. Diagnostik histopatologi dan sitopatologi pada dasarnya adalah penilaian terhadap gambar yang terdapat pada preparat. Tujuan akhir pengolahan bahan pemeriksaan ialah agar gambar yang terjadi pada preparat benar-benar mencerminkan apa yang seharusnya tergambar pada bahan pemeriksaan. Pengolahan bahan pemeriksaan yang baik ialah pengolahan bahan pemeriksaan yang tidak mengubah atau menghilangkan apa yang seharusnya ada pada bahan pemeriksaan. Bahan pemeriksaan yang diolah adalah bahan pemeriksaan yang berasal dari tubuh pasien yang masih hidup, sehingga ada kemungkinan terjadi perubahan, namun harus diupayakan agar perubahan yang terjadi sekecil mungkin, sehingga tidak mempengaruhi penilaian (IAP, 2008).

2.2 Pemeriksaan Histopatologi

Teknik pemeriksaan histopatologi berguna untuk mendeteksi adanya komponen patogen yang bersifat infeksi melalui pengamatan secara mikroskopis. Histopatologi sangat penting dalam kaitan dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu. Oleh karena itu, dengan proses diagnosis yang benar akan dapat ditentukan jenis penyakitnya sehingga dapat dipilih tindakan preventif dan kuratif.

Pemeriksaan histopatologi merupakan pemeriksaan rutin yang dilakukan untuk setiap jaringan yang dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi. Pengolahan jaringan yang baik akan memberikan kualitas sediaan yang memuaskan untuk dinilai oleh patolog. Kualitas sediaan hasil pengolahan jaringan dipengaruhi oleh banyak faktor terutama dari tahap-tahap pengolahan jaringan itu sendiri. Teknik histopatologi adalah seni dan ilmu pengetahuan yang dilakukan oleh teknisi untuk membuat potongan jaringan dengan kualitas yang baik sehingga

memungkinkan patologis untuk mendiagnosis ada atau tidaknya suatu kelainan (Musyarifah dan Agus, 2018).

2.3 Penanganan Jaringan

Persiapan wadah yang besarnya sesuai dengan jaringan yang akan disimpan. Isi wadah dengan formalin 10% buffer dengan volume minimal 5 kali volume jaringan. Segera masukkan jaringan segar ke dalam wadah formalin (kurang dari 30 menit). Beri label identitas pasien dan jenis jaringan yang diambil. Kemudian segera dilakukan fiksasi. Fiksasi yang baik ialah yang memungkinkan unsur protein tetap ada atau berkurangnya minimal. Tujuan fiksasi antara lain untuk mencegah terjadinya autolisis dan pengaruh bakteri, mempertahankan bentuk dan isi jaringan mendekati keadaan sebelum difiksasi, memungkinkan proses pengolahan jaringan selanjutnya berjalan dengan baik, mempertahankan komponen-komponen jaringan atau sel (Suwanto, 2013).

2.4 Metode Parafin

Metode parafin adalah metode sayatan yang sangat banyak digunakan karena hampir semua jaringan dalam berbagai jenis kondisi dan berbagai jenis elemen jaringan dapat diamati melalui preparat permanen yang dibuat dengan metode parafin. Pembuatan preparat dengan metode parafin adalah metode yang paling umum digunakan untuk membuat preparat permanen baik pada tumbuhan atau pada hewan (Gresbi dan Aknesia, 2013).

Metode parafin adalah suatu metode pembuatan preparat dengan melakukan embedding (penanaman) suatu jaringan di dalam blok parafin untuk menghasilkan preparat jaringan hewan maupun preparat tumbuhan yang tipis. Metode pembuatan sediaan dengan penyelubung parafin disebut metode embedding. Penyelubung dibutuhkan jika jaringan merupakan bahan yang lunak. Metode parafin sudah banyak digunakan, karena hampir semua macam jaringan dapat dipotong dengan baik menggunakan metode ini (Marbawati dan Setiyani, 2008). Kelebihan metode ini adalah irisan yang jauh lebih tipis dibandingkan menggunakan metode beku atau metode seloidin. Tebal irisan dengan metode beku

rata-rata diatas 10 mikron, tetapi jika dengan metode parafin tebal irisan dapat mencapai rata-rata 6 mikron. Kelemahan dari metode ini adalah jaringan akan menjadi keras, mengerut serta mudah patah. Jaringan-jaringan yang besar tidak dapat dikerjakaan dengan metode ini karena sebagian besar enzim-enzim yang terdapat pada jaringan dapat larut (Syarif, 2015).

2.5 Metode Pewarnaan Hematoxylin-Eosin

Preparat organisme adalah sediaan berupa organ, jaringan, sel, dan atau tubuh organisme yang diawetkan didalam suatu media sehingga memberi kemudahan seseorang untuk mempelajari, mengamati, atau meneliti. Berdasarkan ukurannya, preparat organisme dibagi menjadi dua yaitu, preparat mikroskopis (preparat apus, preparat rentang, preprat pollen, preparat squash, preparat whole mounth) dan preparat mikroskopis (preparat kering dan preparat basah) (Holil, 2003).

Proses preparasi dapat dibagi menjadi beberapa tahapan yaitu fiksasi, dehidrasi, infiltrasi dan embedding, trimming dan affixing dan staining (pewarnaan) dan mounting (Musyarifah *et al.*, 2018). Pewarnaan merupakan suatu tahap dalam mikroteknik untuk mempertajam atau memperjelas berbagai elemen jaringan, terutama selselnya, sehingga dapat dibedakan dan ditelaah dengan mikroskop. tanpa pewarnaan, jaringan akan transparan sehingga sulit untuk diamati (Sari *et al.*, 2016).

Metode pewarnaan preaparat histologi dikenalkan pada 1849, oleh seorang botanis Jerman, Ferdinan Cohn. Pada saat itu digunakan pewarna dari sayuran, karmin dan hematoksilin pada tahun 1856 digunakan pewarna anilin (terutama fuksin), oleh Perkin dari Manchester. Beberapa tahun berikutnya 1869, Hoffman mewarnai bakteri dengan karmin dan fuksin. Tahun 1875 Weigert memulai menggunakan pewarna sintetik biru metilen untuk mewarnai bakteri, dan tahun 1877 Salomonsen menggunakan fuksin yang diencerkan dalam air. Pada tahun yang sama, Koch membuat kemajuan besar dalam tehnik pemeriksaan bakteri menggunakan preparat film kering pada

gelas penutup (*cover glass*). Preparat kemudian dikeringkan, difiksasi menggunakan alcohol dan diwarnai menggunakan metil ungu, fuksin atau anilin coklat. Empat tahun kemudian, Kock menggunakan teknik pemanasan untuk fiksasi film, yang tidak merusak morfologi bakteri (Murwani, 2015).

Pewarnaan akan mempermudah pengamatan sel atau jaringan di bawah mikroskop, sebab bahan pewarna (zat warna) mempunyai afinitas selektif terhadap organel sel. Tidak semua organel sel mampu bereaksi dengan bahan pewarna yang sama, hal ini disebabkan adanya perbedaan komponen penyusun serta sifat setiap organel sel. Zat warna memiliki muatan ion negatif sedangkan zat warna asam bermuatan positif. zat warna asam mewarnai bagian sel yang bersifat basa dan sebaliknya, zat warna basa mewarnai bagian sel yang bersifat asam (Bisri, 2015). Pewarnaan histologi pada umumnya menggunakan kombinasi hematoksilin dan eosin (HE). Hematoksilin dan eosin adalah metode pewarnaan yang berfungsi ganda (Syarif, 2015). Pewarnan adalah proses pewarnaan pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat diamati dengan mikroskop. Jika terdapat ptotongan jaringan yang tidak diwarnai dan langsung dilihat ke mikroskop cahaya, maka komponen seluler tersebut terlihat sama antara organ yang satu dengan yang lain. Pewarnaan dilakukan untuk memberikan perbedaan warna pada komponen tiap sel. Zat warna yang sering digunakan dalam histoteknik adalah hematoksilin dan eosin. Eosin adalah pewarna asam yang memiliki afinitas terhadap sitoplasma sel sedangkan hematoksilin memiliki afinitas terhadap nukleus (Alwi, 2016).

Pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E) telah digunakan setidaknya selama satu abad. Pewarnaan tidak berubah selama bertahun-tahun atau tidak luntur karena bekerja dengan baik dengan berbagai variasi fiksatif dan menampilkan berbagai matriks sitoplasma, inti sel, dan matriks ekstraseluler. Hematoxylin memiliki warna biru-ungu tua dan mewarnai asam nukleat dengan reaksi yang kompleks dan tidak

dipahami sepenuhnya. Eosin berwarna merah muda dan mewarnai protein secara tidak spesifik. Dalam jaringan tipikal, nukleus diwarnai biru, sedangkan sitoplasma dan matriks ekstraseluler memiliki tingkat pewarnaan merah muda yang bervariasi. Sel yang diperbaiki dengan baik menunjukkan detail nukleus (Fischer *et al.*, 2006).

Hematoksilin-Eosin bersifat basa yang khusus mewarnai unsur asam pada sel sehingga tampak kebiruan, karena unsur yang paling asam ialah asam deoksiribonukleat dan asam ribonukleat, maka inti dan lingkungan sitoplasma yang banyak terdapat ribosom akan tampak berwarna biru tua, sehingga disebut basofilik. Eosin bersifat asam yang mewarnai unsur basa dari sel sehingga tampak merah muda, karena banyak bagian sitoplasma yang bersifat basa, pada daerah tertentu sitoplasma terwarna merah muda, unsur ini disebut asidofilik (Ellyawati, 2018).

2.6 Frozen Section

Pada tahun 1993 Miller dan rekan kerjanya merangkum beberapa teknologi yang tersedia untuk mempersiapkan frozen section. Banyak yang telah meningkat dalam dekade terakhir, terutama mengenai imunohistokimia. Spesimen dibekukan dalam media tanam dengan kehilangan panas konduktif. Dengan digunakannya cairan nitrogen dan isopentana yang didinginkan meminimalkan kristal es dan dapat digunakan untuk spesimen berlemak yang tidak membeku dengan baik. Sebagian besar laboratorium menghasilkan potongan pada *frozen section* dengan ketebalan 5 hingga 10 mm (Davis *et al.*, 2004).

Frozen section ialah pemeriksaan patologi anatomi pada bagian histopatologi yang mana sampel yang diperiksa dilakukan saat operasi berlangsung dan pasien dalam keadaan tidak sadar. Sampel yang dicurigai kanker dikirim dalam keadaan segar ke laboratorium PA atau tim dari teknisi PC yang berada di ruang operasi dan biasanya dilakukan dalam 15-20 menit. Pemeriksaan tersebut bertujuan untuk ganas atau tidaknya massa kanker sehingga dapat ditentukan tindakan operasi selanjutnya

(Upik, 2013).

2.7 Imunohistokimia

Imunohistokimia adalah suatu metode kombinasi dari anatomi, imunologi dan biokimia untuk mengidentifikasi komponen jaringan yang memiliki ciri tertentu dengan menggunakan interaksi antara antigen target dan antibodi spesifik yang diberi label. Imunohistokimia merupakan suatu cara pemeriksaan untuk mengukur derajat imunitas atau kadar antibodi atau antigen dalam sediaan jaringan. Nama imunohistokimia diambil dari nama *immune* yang menunjukkan bahwa prinsip dasar dalam proses ini ialah penggunaan antibodi dan histo menunjukkan jaringan secara mikroskopis. Dengan kata lain, imunohistokimia adalah metode untuk mendeteksi keberadaan antigen spesifik di dalam sel suatu jaringan dengan menggunakan prinsip pengikatan antara antibodi (Ab) dan antigen (Ag) pada jaringan hidup. Pemeriksaan ini membutuhkan jaringan dengan jumlah dan ketebalan yang bervariasi tergantung dari tujuan pemeriksaan. Teknik ini diawali dengan pembuatan irisan jaringan (histologi) untuk diamati dibawah mikroskop. Interaksi antara antigen-antibodi adalah reaksi yang tidak kasap mata. Tempat pengikatan antara antibodi dengan protein spesifik diidentifikasi dengan marker yang biasanya dilekatkan pada antibodi dan bisa divisualisasi secara langsung atau dengan reaksi untuk mengidentifikasi marker (Upik, 2013).

3. METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP H.Adam Malik Medan dan dilaksanakan pada Bulan Januari s/d. Juni 2023 .

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat yang digunakan dalam kerja praktek histopatologi ini adalah mikrotom, *hot plate*, *water bath*, mikroskop, alat pemrosesan, *object glass*, *cover glass*, alat tulis, buku data pasien, tempat sampah, pinset, pisau, kuas, jas lab, *chamber*, *block note*, kaset, rak *staining*, penggaris, talenan, cetakan blok, dan pipet tetes. Sedangkan

bahan yang digunakan dalam histopatologi adalah jaringan payudara, masker, sarung tangan, tisu, canada balsem, pewarnaan hematoxilin-eosin, xilol, alkohol, formalin *buffer*, air, parafin, kertas label, kertas saring, masker.

3.3 Persiapan Jaringan dan Pemeriksaan Makroskopis

Pembuatan sediaan histopatologi diawali dengan pengambilan bahan jaringan payudara melalui biopsi atau autopsi, spesimen jaringan dimasukkan segera kurang dari 30 menit ke dalam wadah yang berisi larutan fiksatif (Formalin *Buffer* 10%) 5-10 kali volume jaringan. Jaringan payudara yang telah tersedia disiapkan, diperiksa untuk membuat deskripsi meliputi ukuran, warna dan bentuk dari jaringan kemudian dipotong pada beberapa bagian sebesar 0,5-1,0 cm agar penetrasi fiksatif merata dan sempurna kemudian dimasukkan ke dalam *tissue cassette* lalu kaset dimasukkan ke dalam wadah berisi formalin 10% formalin bufer fosfat atau alkohol karena kaset jaringan tidak boleh kering oleh udara kemudian diproses ketahap selanjutnya.

3.4 Pemrosesan Jaringan

Pada pemrosesan dilakukan beberapa tahapan dimana jaringan akan dimasukkan ke dalam alat untuk pemrosesan jaringan yaitu *tissue processor automatic* yang meliputi proses :

3.4.1 Fiksasi (*Fixation*)

Larutan fiksatif yang digunakan adalah larutan formalin *buffer* 10%. Dengan volume cairan fiksasi minimal 5-10x volume jaringan dengan rentang waktu 0-3 jam

3.4.2 Dehidrasi (*Dehydration*)

Menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat: 70% → 80% → 90% → 96% → alkohol absolut, proses ini membutuhkan waktu 4-6 jam

3.4.3 Penjernihan (*Clearing*)

Zat yang digunakan sebagai *clearing* adalah *xylol* dengan rentang waktu 1 jam bertujuan sebagai media perantara yang

dapat larut dalam air dan parafin sehingga alkohol digantikan oleh *xylol*.

3.4.4 Infiltrasi (*Impregnasi*) Parafin

Infiltrasi dilakukan menggunakan paraffin cair dengan suhu 57-60°C untuk mengisi rongga-rongga dalam jaringan sehingga ruang jaringan yang semula berisi *xylol* digantikan oleh parafin.

3.5 Penanaman (*Embedding*)

Jaringan yang sudah selesai *processing* dikeluarkan dan segera dimasukkan ke dalam cetakan blok (*based mold*) yang sebelumnya telah diisi dengan *paraffin* cair lalu biarkan hingga mengeras, namun peletakkan jaringan dalam cetakan blok harus dilakukan dengan benar agar pada pemotongan mikrotom diperoleh sediaan yang representatif dan simpan pada suhu 20-25°C.

3.6 Pemotongan Dengan Mikrotom

Sebelum dipotong dengan mikrotom harus blok didinginkan terlebih dahulu. Pemotongan terhadap blok *paraffin* setebal ±2-5 mikron, hasil potongan yang berupa pita dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan suhu 37-45 °C kemudian diambil dengan menggunakan *object glass* lalu diletakkan di atas *hotplate*.

3.7 Pewarnaan (*Staining*)

Preparat jaringan diwarnai dengan pewarna Hematoxilin-Eosin. Pertama, jaringan dimasukkan ke dalam *xylol* 1, *xylol* 2 dan *xylol* 3 masing-masing selama 10 menit sambil digoyang, setelah itu keringkan hingga terlihat putih pada slide. Kemudian masukkan secara berurutan ke dalam alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 90%, alkohol 80%, dan alkohol 70% masing-masing selama 3 menit. Cuci dengan air mengalir. Dimasukkan ke dalam pewarnaan hematoxilin selama 5-10 menit dan dicuci dengan air sampai jernih. Dimasukkan ke dalam larutan *bluing* lalu cuci dengan air mengalir dilanjutkan dengan pewarnaan eosin selama 1-2 menit. Lalu dikeringkan. Masukkan secara berurutan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, dan

alkohol absolut masing-masing selama 3 menit, dan terakhir dimasukkan ke dalam *xylol* 1, *xylol* 2 dan *xylol* 3.

3.8 Penutupan (*Mounting*)

Slide yang telah ditiriskan selanjutnya dibersihkan dengan menggunakan kertas saring yang bertujuan agar tidak ada lagi cairan yang tersisa. Teteskan canada balsem diatas jaringan dengan menggunakan pipet tetes dan kemudian di tutup dengan cover glass Lakukan dengan hati-hati sehingga tidak terbentuk gelembung udara dan agar hasilnya terlihat rapi. Tujuan ditetaskan larutan canada balsem ini agar jaringan lebih jelas atau jernih, serta mengawetkan jaringan.



Gambar 2. Pemoresan jaringan



Gambar 3. Penanaman

3.9 Pelabelan (*Labelling*)

Spesimen dari jaringan payudara yang telah jadi diberi label dan keterangan yang sesuai, selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambar dan Tabel



Gambar 1. Pemeriksaan Jaringan dan Pemeriksaan Mikroskopis



Gambar 4. Pemotongan mikrotom dan hasil pemotongan



Gambar 5. Pewarnaan (staining)



Gambar 6. Penutupan (Mounting)



Gambar 7. Pelabelan (Labelling)



Gambar 8. Sediaan jaringan siap dibaca di bawah mikroskop

4.2 Pemeriksaan Jaringan dan Pemeriksaan Makroskopis

Pada tahap ini jaringan payudara akan diperiksa secara meluruh apakah terdapat nodul yang dimana hal tersebut dapat menandai bahwa jaringan payudara ini positif terkena tumor ,diamati bentuk ,warna secara menyeluruh ,bagian bagian setiap sisi payudaranya dan mulai untuk mengambil bagian dari jaringan payudara biasanya daerah bawah puting,batas sayatan,masa,dan nodul .Biasanya untuk payudara akan diambil minimal 3- 4 potongan tergantung diagnosis dan kondisi jaringan payudara tersebut ,untuk ketebalan pemotongan sendiri ada ukurannya sekitar 4 mm kemudian spesimen jaringan dimasukkan kedalam sebuah kaset yang sudah diberi tanda berupa nomor identitas pasien dan masukkan kedalam wadah berisi buffer formalin 10%.

Kemudian proses Infiltrasi dilakukan menggunakan paraffin cair dengan suhu 57-60⁰C untuk mengisi rongga- rongga dalam jaringan sehingga ruang jaringan yang semula berisi xylol digantikan oleh paraffin .Pada tahap ini temperatur paraffin yang terlalu tinggi akan mempengaruhi jaringan menjadi keras dengan rentang waktu 3 jam kemudian jaringan siap untuk dibuat blok paraffin.Serangkaian tahap ini untuk mengganti unsur air dan fiksatif dalam jaringan dengan paraffin agar diperoleh penyatuan yang sempurna antara jaringan dan paraffin dalam satu blok

4.3 Penanaman (Embedding)

Jaringan segera dimasukkan kedalam cetakan blok (*based mold*) yang sebelumnya telah diisi dengan *paraffin* cair lalu biarkan hingga mengeras, namun peletakkan jaringan dalam cetakan blok harus dilakukan dengan benar agar pada pemotongan mikrotom diperoleh sediaan yang representatif dan simpan pada lempeng pendingin suhu 20-25°C unruk mencegah jaringan yang rusak Proses ini disebut juga dengan pengecoran. Pada tahapan ini jaringan akan diproses sehingga mudah dipotong dengan mikrotom. Terdapat dua macam cara dalam memblocking jaringan, yaitu: Leuckhart, merupakan cara lama yang dilakukan dengan menggunakan besi berbentuk L yang disusun di atas lembaran logam sehingga membentuk ruang seperti kubus. Cara baru dengan menggunakan cetakan plastik yang diletakkan di atas piringan logam (Jusuf, 2009)

4.4 Pemotongan dengan mikrotom

Pemotongan terhadap blok *paraffin* setebal ±2-5 mikron, hasil potongan yang berupa pita dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan suhu 37-45 °C kemudian diambil dengan menggunakan *object glass* lalu diletakkan di atas *hotplate* dengan suhu 60 °C hal ini bertujuan untuk menghilangkan bekas parafin yang diberi pada proses embedding.

4.5 Pewarnaan (Staining)

Preparat jaringan diwarnai dengan pewarna Hematoksilin-Eosin. Pertama, jaringan dimasukkan ke dalam *xylol* 1, *xylol* 2 dan *xylol* 3 masing- masing selama 10 menit sambil digoyang, setelah itu keringkan hingga terlihat putih pada slide. Kemudian masukkan secara berurutan ke dalam alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 90%, alkohol 80%, dan alkohol 70% masing-masing selama 3 menit. Cuci dengan air mengalir. Dimasukkan ke dalam pewarnaan hematoksilin selama 5-10 menit dan dicuci dengan air sampai jernih. Dimasukkan ke dalam larutan *bluing* lalu cuci dengan air mengalir dilanjutkan dengan pewarnaan eosin selama 1-2 menit. Lalu dikering anginkan. Masukkan secara berurutan ke dalam alkohol 70%, alkohol

80%, alkohol 90%, alkohol 96%, dan alkohol absolut masing- masing selama 3 menit, dan terakhir dimasukkan ke dalam *xylol* 1, *xylol* 2 dan *xylol* 3. Pada prinsipnya, hematoxylin bekerja dengan cara mengikat intisel secara lemah, sedangkan eosin merupakan counterstain yang bisa mewarnai jaringan ikat dan sitoplasma menjadi merah dan oranye, selain itu eosin juga memberi warna ungu pada inti sel yang sebelumnya telah diwarnai biru oleh hematoxylin. Selain memberi warna pada inti, eosin juga memberikan warna pada sitoplasma dengan penambahan kristal thymol, asam asetat, dan aquadest.

Tabel 1. Penilaian Kualitas Pewarnaan

No	Parameter	Definisi
1	Nukleus	Zat pewarna mampu memberi warna biru pada nukleus, serta dapat dibedakan antara membran nukleus, nukleoli, kromatin, dan nukleus yang memiliki vakuola atau hiperkromatis.
2	Sitoplasma dan substansi lain	Dapat mewarnai dengan baik dan dapat dibedakan antara sitoplasma, kolagen, serat otot, sel darah merah, dengan mucin berwarna kemerahan.
3	Pada pemotongan usus dan paru-paru	Zat pewarna mampu mewarnai sel epitel (warna tergantung pada pH Hematoxylin).
4	Pewarnaan Hematoxylin	Zat pewarna yang mengalami oksidasi berlebihan akan menimbulkan warna coklat pada bagian tertentu pada jaringan.

(Sumber: Sitohistoteknologi-SC)

4.6 Penutupan

Sediaan yang sudah selesai akan ditetaskan *canada balsem* diatas jaringannya menggunakan pipet tetes dan ditutup menggunakan cover glass , hal ini agar mempermudah saat pembacaan slide dibawah mikroskop dan mouting yang benar tidak boleh terbentuk gelembung yang akan menghalangi pembacaan slide.

4.7 Pelabelan (Labelling)

Spesimen yang telah siap diberi label agar mudah mengidentifikasi pasien pada saat pembacaan slide Sediaan yang telah diwarnai kemudian diamati di bawah mikroskop untuk melihat kualitasnya sehingga dapat dinilai berdasarkan skor yang didapat dengan mempertimbangkan hal berikut:

Tabel 2. Kriteria Penilaian Kualitas Sediaan

No.	PARAMETER	SKOR MAKSIMAL
1	Pemotongan blok tipis (ketebalan 1 sel – maksimal 5 mikron)	8
2	Ketebalan merata	5
3	Tidak ada goresan mata pisau yang tidak rata/tajam dan atau Venetian blind phenomenon	2
4	Tidak ada kontaminan jaringan lain/kristal zat warna	4
5	Tidak ada bercak/sidik jari pada slide/ deck glass	1
6	Kontras warna hematoxylin dan eosin cukup jelas	5
7	Tidak ada udara pada mounting	3
8	Mounting media tidak kurang/berlebihan	1
9	Seluruh jaringan tertutup oleh kaca penutup	1

(Sumber: BPMPP1, 2017)

5. KESIMPULAN

Pemeriksaan Histopatologi adalah gold standard untuk mendiagnosis kanker payudara. Dengan pemeriksaan histopatologi kita bisa mengetahui histologi dan 3 stadium pada kanker payudara. Namun pemeriksaan histopatologi memerlukan waktu untuk mendapatkan hasilnya dan belum tentu semua rumah sakit mempunyai laboratorium patologi anatomi yang lengkap untuk pemeriksaan kanker payudara. Maka dari itu untuk pemeriksaan i i dibutuhkan teknik pembuatan sediaan yang baik dan benar dengan memperhatikan paramter kriteria penilaian kualitas pewarnaan jaringan seperti pada tabel 1 dan tabel 2.

DAFTAR PUSTAKA

- Asri A, Winarko S, 2015. Uji Diagnostik Sediaan Potong Beku Tumor Payudara Di Laboratorium Patologi Anatomi Padang. *Jurnal MKA*. 4(1): 7-11
- Bekti RS, Fitriana A, Narahmawati E, 2017. Akurasi Pemeriksaan Potong Beku Intraoperatif (Intraoperative Frozen Section) Untuk Diagnosis Tumor Ovarium Di Rsud Dr. Saiful Anwar Malang. *Jurnal Kesehatan Malang*. 2(1): 1-8
- Bisri C, 2015. Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Sebagai Pewarnaan Alternatif Alami Preparat Section Tanaman Cabe Merah Besar (*Capsicum Annuum L.*). *Jurnal biologi sains*. 4(34).
- Davis, D. A., Pellowski, D. M., & William Hanke, C. 2004. Preparation of frozen sections. *Dermatologic surgery*, 30(12), 1479-1485.
- Dewi, Purnami. 2015. Klasifikasi Hasil *Pap Smear Test* sebagai Upaya Pencegahan Sekunder Penyakit Kanker Serviks di Rumah Sakit “X” Surabaya Menggunakan *Piecewise Polynomial Smooth Support Vector Machine* (PPSSVM). *Jurnal Seni*, 4(10). 956-966.
- Gresby, Aknesia. 2013. Pemanfaatan Filtrat Daun Jati Muda (*Tectoria grandis*) Sebagai Bahan Pewarna Alternatif Pembuatan Preparat Maserasi Batang Cincau Rambat (*Clycea barbata*). Skripsi. Malang: Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Holil, A. 2003. Pembuatan Preparat Sebagai Media Pendidikan pada Bidang Studi Biologi. *Jurnal Dedikasi*. 1(1).
- IAPI. 2008. Pedoman Penanganan Bahan Pemeriksaan Untuk Histopatologi. Jakarta.
- Kustiyati, S. 2014. Pap Smear. *Gaster*, 3(2), 115-123.
- Mukawi TY, 1989. *Beberapa Jenis Tumor Ganas Terbanyak di Indonesia Dipandang dari Segi Patologi Anatomi. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Ilmu Patologi Anatomi*. Pustaka. Bandung.
- Musyarifah Z, Agus S. 2018. Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7(3).
- Muwarni S, 2015. *Dasar-dasar Mikrobiologi Veteriner*. Malang : UB Press.
- Rahmadhani S, Asri A, Tofrizal, 2018. Akurasi *Fine Needle Aspiration Biopsy* Sebagai Prosedur *Diagnostic Nodul Tiroid* di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP DRM Djamil Padang. *Jurnal kesehatan.*, 7(3): 190-210.
- Robbins SL, Kumar V, Ramzi S, Cotran, 2007. *Buku Ajar Patologi*. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Sari DP, Fatmawati A, Prabasari RM., Profil

- Hands On Activity pada Mata Kuliah Mikroteknik di Prodi Pendidikan Biologi FKIP UNS. 2016. *Proceeding Biology Education Conference*. 13 (1).
- Sarjadi, 1999. *Patologi Umum dan Sistemik*. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Suwarto. 2013. *Penanganan Bahan Pemeriksaan Histopatologi dan Sitopatologi untuk Menegakkan Diagnosa Tepat*. Pemerintah Provinsi Jateng, RSUD Dr. Moewardi. Surakarta.
- Upik. 2013. *Laboratorium Patologi Anatomi*. Diakses pada 24 Oktober 2021.