

INTISARI

Pendahuluan. *Buffered-ethanol* 70% (BE70) adalah salah satu fiksatif berbahan dasar alkohol yang diharapkan dapat menjadi alternatif fiksatif berbahan dasar formalin.

Tujuan. Penelitian ini bertujuan membandingkan kualitas BE70 dan *paraformaldehyde* dalam bufer (PFA) dalam memfiksasi jaringan pancreas dan lien tikus dengan menilai gambaran histologi dengan pewarnaan rutin dan imunohistokimia.

Metode. Enam ekor tikus jantan galur Wistar berat 200 gr umur 1-2 bulan dikorbankan. Pancreas dan lien diambil dan difiksasi selama 7 hari dalam fiksatif PFA atau BE70. Masing-masing 3 irisan dari 3 blok parafin yang diwarnai Hematoxyllin-Eosin digunakan untuk penilaian kualitas morfologi dan pewarnaan jaringan serta rerata volume nucleus sel di insula pancreatica. Kualitas fiksatif dalam mempertahankan antigen dinilai pada irisan yang diwarnai dengan imunohistokimia menggunakan antibodi anti-insulin, anti Ki-67 dan anti CD3 yang divisualisasi dengan *horse-radish peroxidase* dan diamino benzidine.

Hasil. Pada pancreas yang difiksasi dengan BE70, penyerapan warna eosin terlihat lebih kuat sehingga insula pancreatica sulit dikenali dengan cepat. Pengerutan terlihat dengan indikasi jarak antar struktur terlihat lebih lebar. Rerata volume nucleus di insula pancreatica pada pancreas yang difiksasi dengan BE70 ($30,91 \pm 8,11 \mu\text{m}^3$) hanya separuh dari yang difiksasi dengan PFA ($65,25 \pm 18,67 \mu\text{m}^3$). Reaksi positif palsu dengan imunohistokimia antibodi anti insulin ditemukan pada irisan jaringan yang difiksasi dengan BE70. Pada lien yang difiksasi dengan BE70 dan diwarnai dengan HE, pulpa rubra lebih sulit dibedakan dengan pulpa alba karena warna pulpa rubra kurang merah. Hal tersebut kemungkinan terjadi karena erythrocytus mengalami lisis. Imunohistokimia untuk mendeteksi antigen nucleus Ki67 memperlihatkan hasil lebih sedikit positif palsu, namun antigen membran plasma CD3 menjadi tidak terdeteksi.

Kesimpulan. BE70 tidak terlalu baik digunakan sebagai fiksatif untuk melihat struktur umum jaringan pancreas dan lien karena menimbulkan pengerutan dan kesulitan mengidentifikasi struktur khas jaringan. Penggunaan BE70 pada jaringan yang diwarnai dengan imunohistokimia berisiko memicu reaksi positif palsu untuk deteksi antigen cytoplasma dan hilangnya antigen di membran plasma. Fiksatif BE70 baik digunakan untuk mempertahankan antigen nucleus dengan keuntungan mengurangi risiko reaksi positif palsu.

Kata kunci. *Fiksasi, Paraformaldehid, Buffer ethanol 70, alcohol, Parafin embedding*

ABSTRACT

Introduction. *Buffered-ethanol 70% (BE70)* is an alcohol-based fixative which is expected to be a formalin-based fixative alternative.

Objective. This study aims to compare the quality of BE70 and paraformaldehyde in the buffer (PFA) in fixing pancreatic tissue and rat spleen by assessing histological features with routine staining and immunohistochemistry .

Methods. Six male Wistar strain rats weighing 200 gr aged 1-2 months were sacrificed. The pancreas and spleen are taken and fixed for 7 days in a PFA or BE70 fixative. Each of the 3 slices of 3 paraffin blocks stained by Hematoxyllin-Eosin was used to assess the morphological quality and tissue staining and the mean volume of the cell nucleus in the pancreatic insula. The fixative quality in maintaining antigens was assessed on slices stained with immunohistochemistry using anti-insulin, anti-Ki-67 and anti-CD3 antibodies visualized with *horse-radish peroxidase* and diaminobenzidine.

Results. In pancreas fixated with BE70, the absorption of eosin colors appears stronger so that the pancreatic insula is difficult to recognize quickly. Shrinking is seen by indicating the distance between the structures looks wider. The mean volume of the nucleus in the pancreatic insula in the pancreas fixed with BE70 ($30.91 \pm 8.11 \mu m^3$) was only half that fixed with PFA ($65.25 \pm 18.67 \mu m^3$). False positive reactions with immunohistochemical anti-insulin antibodies were found in tissue slices fixed with BE70. In liens fixed with BE70 and stained with HE, the rubra pulp is more difficult to distinguish from the alba pulp because the color of the pulp rubra is less red. This is likely due to erythrocytes undergoing lysis. Immunohistochemistry for detecting Ki67 nucleus antigens shows fewer false-positive results, but CD3 plasma membrane antigens are not detected.

Conclusion. BE70 is not very well used as a fixative to see the general structure of pancreatic and spleen tissue because it causes contraction and difficulty in identifying the typical structure of tissue. The use of BE70 in tissue stained with immunohistochemistry risks triggering false positive reactions for detection of cytoplasmic antigens and loss of antigens in the plasma membrane. BE70 fixative is best used to maintain nucleus antigens with the advantage of reducing the risk of false positive reactions.

Keywords. *Fixation, Paraformaldehyde, Buffer ethanol 70, alcohol, Paraffin embedding*

