

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker payudara adalah penyakit di mana sel-sel payudara abnormal tumbuh tak terkendali dan membentuk tumor. Sel kanker dapat menyebar ke jaringan payudara di dekatnya (invasi). Hal ini menciptakan tumor yang menyebabkan benjolan atau penebalan. Jika tidak ditangani, tumor dapat menyebar ke seluruh tubuh dan berakibat fatal. Pada tahun 2022, terdapat 2,3 juta wanita yang didiagnosis menderita kanker payudara dan 670.000 kematian di seluruh dunia (WHO,2024).

Data Globocan tahun 2020, jumlah kasus baru kanker payudara mencapai 68.858 kasus (16,6%) dari total 396.914 kasus baru kanker di Indonesia. Sementara itu, untuk jumlah kematiannya mencapai lebih dari 22 ribu jiwa kasus (Kemenkes RI, 2022). Kasus kanker payudara tiga tahun terakhir di Lampung sebanyak 439 kasus. Berdasarkan sumber data Dashboard Aplikasi Sehat IndonesiaKu (ASIK), kasus kanker payudara tahun 2022 tercatat ada 156 kasus, tahun 2023 ada 178 kasus dan tahun 2024 sampai 14 Oktober 2024 ada 105 kasus (Wiguna, 2023).

Salah satu masalah di negara berkembang seperti Indonesia adalah diagnosis kanker payudara terdeteksi sudah berada dalam stadium lanjut, sehingga menghasilkan prognosis yang lebih buruk dan mengakibatkan angka kematian yang disebabkan oleh kanker payudara lebih tinggi. Tingginya angka kejadian kanker payudara disebabkan oleh beberapa faktor, seperti tidak ada program skrining mamografi rutin karena terbatasnya sumber daya yang tersedia pada layanan kesehatan (Coughlin *et. al.*, 2011).

Pemeriksaan histopatologi merupakan gold standar untuk mendiagnosis kanker payudara. Dengan pemeriksaan histopatologi kita bisa mengetahui histologi dan stadium pada kanker payudara (Simanullang, 2022).

Teknik histopatologi melibatkan pemeriksaan jaringan biopsi atau jaringan bedah yang telah dipotong dan diwarnai dengan pewarnaan khusus di bawah mikroskop yang diperiksa ahli Patologi Anatomi (Digambiro & Parwanto, 2024)

Pemeriksaan histopatologi seperti pembuatan preparat dari jaringan kanker payudara di laboratorium PA, memiliki 3 tahapan yang harus diperhatikan, yaitu tahap pra-analitik, analitik, dan pasca analitik. Kompetensi untuk tenaga pranata laboratorium berada pada tahap analitik yaitu melakukan prosesing jaringan, dimulai dari pematangan jaringan, blocking, sectioning, dan staining/ pewarnaan, sampai menghasilkan preparat yang telah terwarnai untuk dapat dibaca oleh ahli patologi di bawah mikroskop.

Pewarnaan Hematoxylin Eosin merupakan cara pewarnaan yang paling umum untuk spesimen jaringan, sering juga disebut sebagai “pewarnaan rutin” dikarenakan tergolong metode yang cepat dan relatif murah untuk menilai morfologi jaringan. Dengan mewarnai bagian jaringan yang transparan, pewarnaan ini memungkinkan ahli patologi dan peneliti yang sangat terlatih untuk melihat morfologi jaringan di bawah mikroskop (Lisowski, 2021).

Pada pewarnaan ini, Hematoxylin berfungsi sebagai pewarna basa (basofilik) yang mengikat dan memberi warna biru ke struktur yang bersifat asam, seperti DNA dan RNA dalam inti sel, sedangkan Eosin adalah pewarna asam (eosinofilik) yang mengikat dan memberi warna merah muda ke struktur yang lebih basa, seperti protein sitoplasma (Digambiro & Parwanto, 2024).

Durasi pewarnaan, kualitas larutan pewarna, pH larutan pewarna, proses deparafinisasi & rehidrasi jaringan, ketebalan irisan jaringan, dan fiksasi jaringan merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hasil pewarnaan preparat yang baik pada saat pewarnaan hematoxylin eosin. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas larutan pewarna hematoxylin eosin dalam sediaan histopatologi adalah pH, yang secara signifikan dapat mempengaruhi sifat pengikatan pewarna. Pada pH asam, hematoxylin

cenderung menunjukkan muatan positif karena protonasi gugus hidroksilnya, meningkatkan kemampuannya untuk berikatan dengan struktur seluler bermuatan negatif, seperti asam nukleat, sehingga menghasilkan pewarnaan nuklir/inti yang lebih jelas. Sebaliknya, ketika pH menjadi lebih basa, eosin kehilangan muatan positifnya, yang mengurangi afinitasnya terhadap jaringan dan dapat menyebabkan penurunan kualitas pewarnaan sitoplasma. Penggunaan pH optimal pada larutan cat pewarna sangat penting untuk mencapai kontras yang jelas pada bagian jaringan yaitu antara inti sel dan sitoplasma, khususnya dalam diagnosis kanker payudara untuk meningkatkan akurasi diagnostik (Brown, S.,2012).

Hematoxylin dengan standar pH 2,75 merupakan yang paling optimal untuk mencapai keseimbangan warna dan lapisan epitel definitif dalam pewarnaan hematoxylin eosin , sedangkan Eosin dengan standar pH 5,0 digunakan sebagai pewarna tandingan (Radzuan,dkk., 2020).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hadi, A.G., et.al (2016), kompleks hematoxylin dengan ion logam (mordan) Al^{3+} dan Fe^{3+} dianalisis menggunakan metode spektrofotometri menunjukkan nilai pH optimum untuk pembentukan kompleks hematoxylin dengan Al^{3+} adalah 3,0, dan untuk Fe^{3+} adalah 4,0.

Selama masa kerjanya, larutan hematoxylin diencerkan secara bertahap oleh sisa-sisa dari slide dan rak serta dipengaruhi oleh oksidasi yang berkelanjutan, selain itu larutan hematoxylin juga cepat terkontaminasi dengan alkohol dan terkadang xilena. Hal ini dapat menyebabkan perubahan pH larutan sehingga menghasilkan pewarnaan yang tidak merata. Selama masa kerja eosin, pencucian yang tidak efisien di air keran dapat meninggalkan sisa alkali sehingga menyebabkan pH larutan eosin meningkat dan menghasilkan intensitas pewarnaan menurun, pewarnaan eosin menjadi lemah dan tidak merata (Rolls, *et. al.*, 2020).

Penelitian sejenis, tentang perbedaan variasi pH eosin pada pewarnaan Hematoxylin Eosin terhadap gambaran histologi inti sel dan sitoplasma sel hepar mencit, hasilnya menunjukkan bahwa pada pH standar pewarna eosin yaitu pH 4-5 menampilkan inti sel berwarna biru keunguan serta sitoplasma berwarna merah muda, variasi pH eosin 3 terlihat inti sel berwarna biru keunguan sitoplasma

berwarna merah muda dan bergranula tetapi masih dapat dibedakan antara inti dan sitoplasma, sedangkan variasi pH eosin 6 terlihat inti sel berwarna biru dan sitoplasma berwarna biru muda karena tidak terwarnai oleh eosin sehingga tidak tampak jelas bedanya inti dan sitoplasma (Nadiyah, 2021).

Berdasarkan survei yang telah dilakukan di RSUD Dr.H. Abdul Moeloek, larutan pewarna Hematoxylin Eosin yang sering dipakai selama 2 bulan pemakaian atau lebih mendapatkan hasil pewarnaan yang kurang baik saat dibaca oleh dokter patologi anatomi, sehingga terkadang menyebabkan dokter kesulitan saat ingin menegakkan diagnosa. Apabila terjadi hal tersebut, biasanya dokter/ahli patologi meminta pewarnaan ulang. Upaya yang selama ini dilakukan, tenaga laboratorium akan langsung mengganti reagen pewarna lama dengan reagen pewarna baru, tanpa melakukan pengecekan pH dan penyesuaian pH (menggunakan reagen asam) terhadap larutan reagen lama. Mengingat pentingnya pengaruh pH terhadap kualitas hasil pewarnaan, maka mempertahankan kontrol pH yang sesuai standar dapat membantu dalam memutuskan apakah larutan pewarna perlu diganti atau masih bisa dipakai.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Dani (2023), tentang membandingkan hasil kualitas pewarnaan Hematoxylin Eosin baru dan lama pada preparat histopatologi kanker payudara hasilnya menunjukkan adanya perbedaan kualitas pewarnaan menggunakan hematoxylin eosin baru dan 1 bulan pemakaian memiliki kualitas baik dengan rerata skor 6,7 pada total 9 sampel, dengan rincian 8 sampel preparat kualitas baik dan 1 sampel preparat kualitas tidak baik, sedangkan menggunakan zat pewarna hematoxylin eosin 2 bulan pemakaian memiliki kualitas tidak baik dengan rerata skor 4,6 pada total 9 sampel, dengan rincian 6 sampel preparat kualitas inti sel dan kontras pewarnaan tidak baik dan 3 sampel preparat kualitas inti sel dan kontras pewarnaan baik, serta kualitas sitoplasma dan intensitas pewarnaan 9 sampel preparat kualitas tidak baik. Penelitian yang akan dilakukan merupakan keterbaruan dari penelitian yang dilakukan oleh Dani (2023), dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pH reagen pewarna terhadap kualitas hasil pewarnaan, dikarenakan pH merupakan salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi kualitas hasil pewarnaan Hematoxylin Eosin. Pada penelitian ini, reagen pewarna hematoxylin lama pemakaian 3 bulan

diukur pH nya lalu ditambahkan dengan larutan asam asetat 1 % sehingga dikondisikan pH-nya agar sama dengan pH reagen pewarna yang baru, begitu juga dengan reagen pewarna eosin lama pemakaian 3 bulan diukur pH nya lalu diberi perlakuan sama seperti hematoxylin. Dengan demikian, diharapkan adanya pengaruh terhadap kualitas hasil pewarnaan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka akan dilakukan penelitian dengan judul Pengaruh Penyesuaian pH Reagen Pewarna Hematoxylin dan Eosin Lama Terhadap Kualitas Pewarnaan Preparat Jaringan Kanker Payudara.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh penyesuaian pH pada reagen Hematoxylin dan Eosin lama pemakaian 3 bulan terhadap kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan kanker payudara.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan terbagi atas tujuan umum dan tujuan khusus

1. Tujuan Umum:

Untuk mengetahui adakah perbedaan kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan kanker payudara terhadap penggunaan reagen Hematoxylin dan Eosin lama pemakaian 3 bulan yang disesuaikan pH-nya dan yang tidak disesuaikan.

2. Tujuan Khusus:

- a) Untuk mengetahui kualitas pewarnaan preparat jaringan kanker payudara menggunakan reagen pewarna Hematoxylin Eosin baru.
- b) Untuk mengetahui kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan kanker payudara menggunakan reagen pewarna Hematoxylin dan Eosin lama pemakaian 3 bulan
- c) Untuk mengetahui kualitas hasil pewarnaan preparat jaringan kanker payudara menggunakan reagen pewarna Hematoxylin dan Eosin lama pemakaian 3 bulan dengan penyesuaian pH.
- d) Untuk mengetahui perbandingan kualitas hasil pewarnaan terhadap karakteristik pewarnaan pada jaringan kanker payudara antara reagen pewarna Hematoxylin Eosin baru dan hematoxylin eosin lama

pemakaian 3 bulan tanpa penyesuaian pH, serta perbandingan kualitas antara reagen Hematoxylin Eosin baru dan hematoxylin eosin lama pemakaian 3 bulan dengan penyesuaian pH.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

- a) Menambah literatur ilmiah mengenai pengaruh lama pemakaian reagen hematoxylin eosin terhadap kualitas pewarnaan preparat jaringan kanker payudara.
- b) Memberikan pemahaman baru tentang peran penyesuaian pH reagen lama dalam mempertahankan kualitas pewarnaan histologis.
- c) Membantu pengembangan metode standar dalam analisis histopatologi dengan penggunaan reagen Hematoxylin Eosin.

2. Manfaat Praktis:

- a) Memberikan informasi bagi laboratorium patologi anatomi mengenai efektivitas penggunaan reagen Hematoxylin Eosin lama setelah penyesuaian pH, sehingga dapat meningkatkan efisiensi biaya operasional laboratorium.
- b) Memberikan panduan dalam pengelolaan reagen pewarna, khususnya terkait dengan durasi pemakaian dan dampaknya terhadap kualitas hasil diagnosis.
- c) Menjadi acuan bagi teknisi laboratorium dalam mempertahankan kualitas hasil pewarnaan untuk meningkatkan akurasi diagnosis histopatologi.

3. Manfaat Klinis:

- a) Mendukung upaya peningkatan kualitas diagnosis kanker payudara melalui pengoptimalan proses pewarnaan jaringan, yang berdampak pada pengambilan keputusan terapi yang lebih akurat.
- b) Mengurangi potensi kesalahan interpretasi histopatologis akibat kualitas pewarnaan yang buruk

E. Ruang Lingkup

Penelitian ini mempunyai ruang lingkup pada bidang Sitohistoteknologi. Jenis dan desain penelitian yang digunakan adalah eksperimen yang dilakukan pada bulan Maret-Mei 2025 dengan tempat penelitian di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah pewarnaan hematoxylin dan eosin dengan variable terikat berupa kualitas hasil pewarnaan histopatologi kanker payudara. Subyek penelitian yang digunakan adalah 27 preparat jaringan kanker payudara yang diberi 3 perlakuan berbeda yaitu pewarnaan menggunakan reagen Hematoxylin dan Eosin baru sebagai kontrol sebanyak 9 preparat, hematoxylin eosin lama 3 bulan pemakaian sebanyak 9 preparat dan menggunakan reagen Hematoxylin dan Eosin lama pemakaian 3 bulan dengan penyesuaian pH sebanyak 9 preparat. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* .