

Perbandingan Efektivitas Cairan Fiksatif Ethanol 70% Komersial vs *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% terhadap Morfologi Jaringan Hati dan Ginjal

Agistha Naftalia Putri¹, Daniel Larry Ferdyan Setiawan Parhusip², Stella Migia Putri³,
Valentina Sumiharta Lumban Gaol⁴, Diana Intan Gabriela Lusiana^{5*}, Fransisca Probo
Setyoningrum⁶

D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan,
Kelapa Dua, Karawaci, Tangerang, Banten, Indonesia^{1,2,3,4,5,6}

*Email Korespondensi: diana.lusiana@uph.edu

ABSTRACT

Article History:

Submitted 14-07-2026

Received 19-07-2026

Published 21-07-2026

Keywords:

70% ethanol;
Tissue Fixation;
Kidney;
Liver;
Histopathology;
10% Neutral Buffered
Formalin.

Kata Kunci:

Ethanol 70%, Fiksasi Jaringan,
Ginjal, Hati, Histopatologi,
Neutral Buffered Formalin
(NBF).

Fixation is an essential step in histological tissue processing because it preserves tissue morphology as close as possible to its original condition. Ten Percent Neutral Buffered Formalin is widely used as the standard fixative in histopathological examinations, while Seventy Percent Ethanol is often considered an alternative due to its availability and relatively safer handling. This study aimed to compare the effectiveness of commercial Seventy Percent Ethanol and Ten Percent Neutral Buffered Formalin in preserving the morphology of mouse liver and kidney tissues. An experimental laboratory design was conducted using liver and kidney tissue samples fixed with both fixatives, followed by routine histological processing and Hematoxylin–Eosin staining. Morphological quality was evaluated based on nuclear detail, cytoplasmic detail, and staining uniformity. The results demonstrated significant differences in nuclear detail and staining uniformity in liver tissue, as well as significant differences in cytoplasmic detail and staining uniformity in kidney tissue. Overall, tissues fixed with Ten Percent Neutral Buffered Formalin exhibited better morphological preservation than those fixed with commercial Seventy Percent Ethanol. In conclusion, Ten Percent Neutral Buffered Formalin was more effective in maintaining the morphology of mouse liver and kidney tissues in routine histological preparations.

ABSTRAK

Fiksasi merupakan tahap penting dalam pengolahan jaringan histologi karena berperan dalam mempertahankan morfologi jaringan agar tetap mendekati kondisi aslinya. *Neutral Buffered Formalin* 10% merupakan fiksatif yang umum digunakan dalam pemeriksaan histopatologi, sedangkan ethanol 70% sering dimanfaatkan sebagai alternatif karena mudah diperoleh dan relatif lebih aman. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas ethanol 70% komersial dan *Neutral Buffered Formalin* 10% terhadap morfologi jaringan hati dan ginjal mencit. Penelitian

menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan sampel jaringan hati dan ginjal yang difiksasi menggunakan kedua jenis fiksatif, kemudian diproses secara histologi rutin dan diwarnai menggunakan Hematoksilin-Eosin. Penilaian morfologi dilakukan berdasarkan kualitas inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada jaringan hati terdapat perbedaan bermakna pada parameter inti sel dan keseragaman warna, sedangkan pada jaringan ginjal terdapat perbedaan bermakna pada parameter sitoplasma dan keseragaman warna. Secara keseluruhan, preparat yang difiksasi menggunakan Neutral Buffered Formalin 10% menunjukkan kualitas morfologi yang lebih baik dibandingkan ethanol 70% komersial. Penelitian ini menyimpulkan bahwa Neutral Buffered Formalin 10% lebih efektif dalam mempertahankan morfologi jaringan hati dan ginjal mencit pada preparat histologi rutin.

PENDAHULUAN

Pemeriksaan histopatologi merupakan salah satu metode penting dalam bidang diagnostik, penelitian biomedis, dan pendidikan kesehatan karena memungkinkan pengamatan struktur sel dan jaringan secara mikroskopis. Kualitas hasil pemeriksaan histopatologi sangat dipengaruhi oleh proses pengolahan jaringan yang dilakukan sebelum pengamatan. Preparat yang berkualitas baik akan menghasilkan gambaran morfologi yang jelas sehingga memudahkan identifikasi struktur maupun perubahan patologis pada jaringan. Sebaliknya, kesalahan selama proses preparasi dapat menyebabkan munculnya artefak dan perubahan morfologi yang dapat mengganggu interpretasi mikroskopis. Oleh karena itu, setiap tahapan pengolahan jaringan harus dilakukan secara tepat untuk mempertahankan struktur jaringan sedekat mungkin dengan kondisi aslinya (Taqi et al., 2018; Buesa, 2014).

Fiksasi merupakan tahap awal dan salah satu tahapan paling penting dalam proses pengolahan jaringan histologi. Tujuan utama fiksasi adalah menghentikan proses autolisis dan pembusukan jaringan, mempertahankan struktur seluler, serta menjaga komponen jaringan agar tetap stabil selama proses pengolahan berikutnya. Selain memengaruhi kualitas morfologi jaringan, jenis fiksatif yang digunakan juga berpengaruh terhadap integritas protein, DNA, dan RNA yang terkandung di dalam jaringan. Oleh karena itu, pemilihan fiksatif yang tepat menjadi faktor penting dalam menghasilkan preparat histologi yang berkualitas (Chung et al., 2018; Werner et al., 2000).

Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% merupakan fiksatif yang paling banyak digunakan dalam laboratorium histopatologi dan hingga saat ini masih dianggap sebagai standar emas dalam preservasi jaringan. NBF bekerja melalui mekanisme pembentukan ikatan silang antar protein sehingga mampu mempertahankan arsitektur jaringan dengan baik dan menghasilkan detail inti maupun sitoplasma yang jelas pada pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Meskipun demikian, penggunaan formalin memiliki beberapa kelemahan, antara lain sifat toksik

formaldehida serta kemampuannya menyebabkan perubahan pada protein dan asam nukleat yang dapat memengaruhi analisis molekuler lanjutan (Perry et al., 2016; Chung et al., 2018).

Sebagai alternatif, ethanol 70% merupakan fiksatif koagulan yang banyak digunakan karena mudah diperoleh, relatif murah, dan tersedia secara luas di laboratorium pendidikan maupun penelitian. Ethanol bekerja melalui mekanisme denaturasi dan koagulasi protein tanpa membentuk ikatan silang seperti formalin. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fiksatif berbasis ethanol mampu mempertahankan kualitas DNA dan RNA dengan lebih baik dibandingkan formalin. Namun, penggunaan ethanol juga dapat menyebabkan penyusutan jaringan, perubahan karakteristik sitoplasma, serta perbedaan tampilan morfologi tertentu yang berpotensi memengaruhi kualitas preparat histologi (Chung et al., 2018; Perry et al., 2016).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas fiksatif berbasis alkohol sebagai alternatif formalin. Chung et al. (2018) melaporkan bahwa jaringan yang difiksasi menggunakan ethanol menunjukkan kualitas histomorfologi yang relatif sebanding dengan formalin pada kondisi tertentu serta memiliki kualitas RNA yang lebih baik dibandingkan jaringan yang difiksasi menggunakan formalin. Selain itu, Perry et al. (2016) menunjukkan bahwa fiksatif berbasis alkohol yang dibuffer mampu mempertahankan kualitas morfologi jaringan sekaligus menjaga integritas biomolekul untuk analisis molekuler lanjutan. Penelitian Hashemi et al. (2023) juga menunjukkan bahwa jenis fiksatif yang berbeda dapat menghasilkan karakteristik morfologi yang berbeda pada berbagai organ, termasuk hati dan ginjal. Temuan tersebut menunjukkan bahwa fiksatif berbasis alkohol memiliki potensi sebagai alternatif formalin, meskipun pengaruhnya terhadap detail morfologi jaringan masih perlu dievaluasi lebih lanjut pada berbagai jenis jaringan.

Jaringan hati dan ginjal merupakan organ yang sering digunakan dalam penelitian histologi karena memiliki struktur mikroskopis yang jelas dan kompleks. Hati tersusun atas hepatosit yang membentuk lempeng sel hati, sinusoid, dan vena sentral yang berperan dalam sirkulasi darah di dalam lobulus hati. Selain sebagai organ metabolisme utama, hati juga rentan mengalami autolisis setelah pengambilan jaringan sehingga kualitas fiksasi sangat berpengaruh terhadap hasil preparat yang diperoleh. Sementara itu, ginjal tersusun atas glomerulus dan tubulus yang memiliki peran penting dalam proses filtrasi dan reabsorpsi. Kompleksitas struktur nefron menjadikan ginjal sebagai organ yang sensitif terhadap perubahan morfologi akibat proses fiksasi sehingga sering digunakan dalam evaluasi kualitas preparat histologi (Mescher, 2021; Haschek et al., 2021).

Meskipun berbagai penelitian telah membandingkan formalin dan fiksatif berbasis alkohol, sebagian besar penelitian masih berfokus pada kualitas biomolekul atau menggunakan formulasi alkohol yang telah dimodifikasi. Penelitian yang secara khusus membandingkan ethanol 70% komersial dengan Neutral Buffered Formalin 10% terhadap kualitas morfologi jaringan hati dan ginjal masih terbatas. Selain itu, evaluasi terhadap parameter histologis spesifik seperti hepatosit, sinusoid, vena sentral, glomerulus, dan tubulus belum banyak dilaporkan secara mendalam.

Kondisi ini menunjukkan adanya kesenjangan penelitian yang perlu dikaji lebih lanjut untuk menghasilkan data yang lebih aplikatif dalam bidang histoteknologi.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efektivitas ethanol 70% komersial dan Neutral Buffered Formalin 10% dalam mempertahankan morfologi jaringan hati dan ginjal. Hasil penelitian juga diharapkan dapat menjadi referensi dalam pemilihan fiksatif untuk kegiatan praktikum, penelitian, maupun pemeriksaan histopatologi rutin, khususnya pada laboratorium yang mempertimbangkan aspek ketersediaan bahan, biaya, dan keamanan penggunaan fiksatif.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas cairan fiksatif ethanol 70% komersial dan Neutral Buffered Formalin 10% dalam mempertahankan morfologi jaringan hati dan ginjal. Perbandingan kedua fiksatif tersebut dilakukan untuk mengevaluasi kualitas morfologi jaringan yang dihasilkan serta menilai potensi penggunaan ethanol 70% komersial sebagai alternatif fiksatif terhadap Neutral Buffered Formalin 10% pada preparasi jaringan histopatologi.

Kebaruan penelitian ini terletak pada beberapa aspek. Pertama, penelitian ini mengkaji penggunaan ethanol 70% komersial sebagai alternatif fiksatif yang praktis, mudah diperoleh, dan relevan bagi laboratorium dengan keterbatasan sarana maupun anggaran, berbeda dengan sebagian besar penelitian terdahulu yang lebih banyak menggunakan formulasi alkohol yang telah dimodifikasi. Kedua, penelitian ini mengevaluasi efektivitas kedua fiksatif secara bersamaan pada dua organ berbeda, yaitu hati dan ginjal, sehingga dapat menggambarkan variasi respons morfologi jaringan terhadap jenis fiksatif yang sama. Ketiga, penilaian dilakukan terhadap beberapa parameter morfologi histologis sekaligus, yaitu kualitas inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna, dalam satu rangkaian desain penelitian yang terstruktur. Melalui cakupan tersebut, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi data yang lebih komprehensif mengenai kelayakan ethanol 70% komersial sebagai alternatif Neutral Buffered Formalin 10% dalam praktik histoteknologi rutin.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian yang eksperimental dan kuantitatif untuk membandingkan kualitas preparat setelah menggantikan larutan NBF 10% dengan etanol 70% pada proses fiksatif yang dilaksanakan di Laboratorium Hematologi Fakultas Ilmu Kesehatan dan Laboratorium MRIN Universitas Pelita Harapan pada bulan Juni 2026.

Alat yang digunakan selama penelitian eksperimental perbandingan larutan NBF 10% dengan etanol 70% dalam proses fiksasi ini meliputi toples kaca, scalpel, pinset, gunting bedah, jarum pentul, papan bedah digunakan untuk membedah mencit. *Beaker glass, tissue cassettes, base mold, hotplate, incubator, microtome, chamber, kassa, thermometer object glass, cover glass, rak pewarnaan, water bath* dan mikroskop digunakan dalam proses preparasi, pengolahan, dan pengamatan sampel yang diuji. Sedangkan bahan yang digunakan dalam pengujian ini meliputi

chloroform, NBF (Neutral Buffer Formalin) 10%, etanol 70%, alkohol, xylol, parafin, hematoxylin, eosin, aquadest, dan entellan. Sampel yang digunakan adalah jaringan hepar dan ginjal dari mencit. Prosedur pembedahan mencit secara etik, organ-organ yang akan digunakan dipisahkan. Kemudian dilanjutkan ke tahap grossing untuk memilih bagian dari organ yang paling representatif. Tahapan ini dilakukan dengan memotong jaringan menjadi ukuran yang sesuai, kemudian dimasukkan ke dalam cassette histology.

Tabel 1. Pembagian kelompok eksperimen

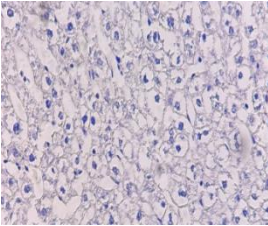
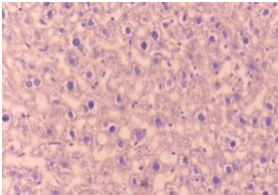
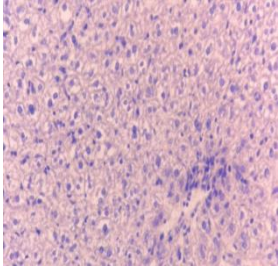
Kelompok	Perlakuan	Jumlah sampel
Fiksasi dengan NBF 10% (Kontrol)	Sampel dimasukkan ke dalam beaker yang berisi larutan NBF 10% dan dibiarkan selama 24 jam	20
Fiksasi dengan etanol 70%	Sampel dimasukkan ke dalam beaker yang berisi larutan etanol 70% dan dibiarkan selama 24 jam	20

Setelah melalui tahapan fiksasi sampel dan kontrol kemudian dilanjutkan ke tahap tissue processing meliputi dehidrasi menggunakan larutan alkohol bertingkat untuk mengeluarkan cairan dari jaringan, clearing menggunakan larutan xylol untuk menggantikan cairan alkohol pada proses dehidrasi karena tidak dapat menyatu dengan paraffin yang bersifat hidrofobik serta untuk membeningkan jaringan, dan impregnasi menggunakan parafin supaya konsistensi jaringan stabil dan kokoh. Kemudian masuk ke tahap embedding atau proses pembuatan blocking paraffin. Tahap selanjutnya adalah trimming dan cutting. Pada tahapan trimming dilakukan dengan pemotongan dengan kasar paraffin, dilanjut dengan cutting pemotongan secara halus jaringan. Proses yang terakhir adalah pewarnaan menggunakan Hematoxylin dan Eosin (H&E), Hematoxylin merupakan pewarna basa memiliki afinitas terhadap struktur yang bersifat asam yaitu nukleus akan tampak berwarna biru hingga ungu. Sebaliknya, eosin merupakan pewarna asam yang akan berikatan dengan protein sitoplasma.

Setelah hasil pengujian diperoleh secara kualitatif menggunakan mikroskop, kemudian dilanjutkan dengan mengolah hasil secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak JASP (*Jeffreys's Amazing Statistics Program*) dengan dua metode dimulai dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk menentukan nilai normal dan uji *Mann-Whitney U* untuk mengevaluasi apakah terdapat perbedaan kualitas preparat antara kedua jenis larutan fiksasi.

Tabel 2. Kriteria Penilaian Mikroskopis Kualitas Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* oleh observer

No.	Deskripsi	Kualitas	Gambar
		Skala ordinal	Skor

1.	Kontras pewarnaan hematoksilin dan eosin tampak lemah sehingga jaringan terlihat pucat. Inti sel masih dapat dikenali, tetapi batas sitoplasma kurang jelas karena pewarnaan eosin yang tidak optimal.	Tidak baik	1	
2.	Inti selnya masih dapat diamati, namun intensitas eosin sedikit lebih tinggi dibandingkan preparat yang baik sehingga preparat tampak lebih merah muda.	Kurang baik	2	
3.	Kualitas pewarnaan yang baik dengan kontras hematoksilin dan eosin yang relatif seimbang. Inti sel berwarna biru-ungu tampak jelas dan cukup tajam, sitoplasma berwarna merah muda pucat yang masih dapat terlihat batas antar sel.	Baik	3	

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini dianalisis berdasarkan kualitas preparat histologi jaringan hati mencit yang difiksasi menggunakan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% dan Ethanol 70%. Evaluasi dilakukan melalui pengamatan mikroskopis menggunakan metode skoring terhadap tiga parameter penilaian, yaitu kualitas pewarnaan inti sel, kualitas pewarnaan sitoplasma, dan keseragaman warna. Hasil skoring kemudian dikelompokkan ke dalam kategori tidak baik, kurang baik, dan baik, selanjutnya dihitung frekuensi serta presentase pada masing-masing

kelompok perlakuan. Penyajian data dalam bentuk tabel bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai perbandingan kualitas preparat yang dihasilkan oleh kedua jenis larutan fiksatif. Hasil pengamatan tersebut disajikan secara rinci pada tabel berikut:

Tabel 3. Distribusi Kualitas Morfologi Histologis Jaringan Hati Berdasarkan Jenis Larutan Fiksatif

Parameter	Kelompok variabel bebas	Tidak Baik n (%)	Kurang Baik n (%)	Baik n (%)
Inti sel	NBF 10%	0 (0%)	0 (0%)	10 (100%)
	Ethanol 70%	1 (10%)	6 (60%)	3 (30%)
Sitoplasma	NBF 10%	0 (0%)	2 (20%)	8 (80%)
	Ethanol 70%	2 (20%)	4 (40%)	4 (40%)
Keseragaman Warna	NBF 10%	0 (0%)	2 (20%)	8 (80%)
	Ethanol 70%	2 (20%)	4 (40%)	4 (40%)

Tabel 4. Hasil Uji Mann-Whitney Kualitas Pewarnaan Jaringan Hati

Parameter	U	p-value	Interpretasi
Inti sel	75,50	0,024	Berbeda bermakna
Sitoplasma	68,00	0,137	Tidak berbeda bermakna
Keseragaman Warna	76,00	0,022	Berbeda bermakna

Berdasarkan Tabel 3, seluruh preparat jaringan hati yang difiksasi menggunakan NBF 10% menunjukkan kualitas inti sel kategori baik (100%). Sebaliknya, pada kelompok etanol 70%, hanya 3 preparat (30%) yang termasuk kategori baik, sedangkan 6 preparat (60%) berkategori kurang baik dan 1 preparat (10%) berkategori tidak baik. Pada parameter sitoplasma, kelompok NBF 10% menunjukkan 80% preparat berkategori baik, sedangkan kelompok etanol 70% hanya 40% preparat berkategori baik. Pola serupa juga terlihat pada parameter keseragaman warna, di mana kelompok NBF 10% didominasi kategori baik (80%), sedangkan kelompok etanol 70% hanya mencapai 40% kategori baik. Secara deskriptif, preparat yang difiksasi menggunakan NBF 10% menunjukkan kualitas pewarnaan yang lebih baik dibandingkan etanol 70% pada seluruh parameter yang diamati.

Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro Wilk menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji Mann-Whitney. Berdasarkan Tabel 4, terdapat perbedaan yang bermakna pada parameter inti sel ($p = 0,024$) dan keseragaman warna ($p = 0,022$), yang menunjukkan bahwa penggunaan NBF 10% menghasilkan kualitas pewarnaan inti sel dan keseragaman warna yang lebih baik dibandingkan etanol 70%. Sementara itu, parameter sitoplasma tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p = 0,137$), sehingga kedua jenis fiksatif memberikan kualitas pewarnaan sitoplasma yang tidak berbeda secara statistik.

Tabel 5. Distribusi Kualitas Morfologi Histologis Jaringan Ginjal Berdasarkan Jenis Larutan Fiksatif

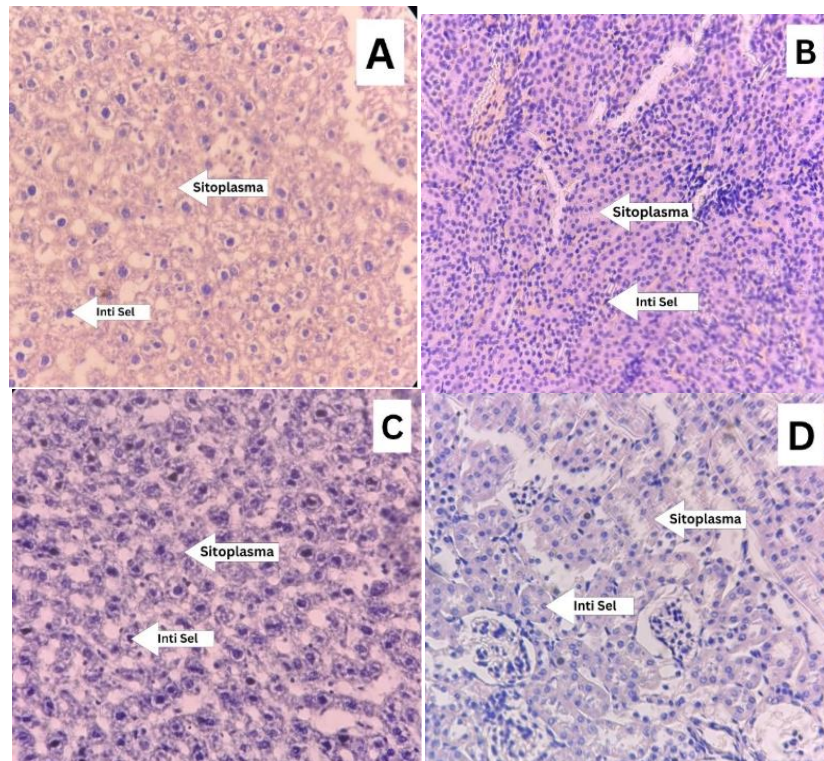
Parameter	Kelompok variabel bebas	Tidak Baik n (%)	Kurang Baik n (%)	Baik n (%)
Inti sel	NBF 10%	0 (0%)	2 (20%)	8 (80%)
	Ethanol 70%	1 (10%)	3 (20%)	6 (60%)
Sitoplasma	NBF 10%	0 (0%)	3 (30%)	7 (70%)
	Ethanol 70%	3 (30%)	7 (70%)	0 (0%)
Keseragaman Warna	NBF 10%	0 (0%)	2 (30%)	8 (80%)
	Ethanol 70%	1 (10%)	6 (60%)	3 (30%)

Tabel 6. Hasil Uji Mann-Whitney Kualitas Pewarnaan Jaringan Ginjal

Parameter	U	p-value	Interpretasi
Inti sel	61,00	0,322	Tidak berbeda bermakna
Sitoplasma	89,50	0,001	Berbeda bermakna
Keseragaman Warna	76,00	0,028	Berbeda bermakna

Berdasarkan Tabel 5, kualitas pewarnaan jaringan ginjal pada kelompok NBF 10% didominasi oleh kategori baik pada seluruh parameter yang diamati. Pada parameter inti sel, sebanyak 8 preparat (80%) berkategori baik dan 2 preparat (20%) berkategori kurang baik. Pada parameter sitoplasma, sebanyak 7 preparat (70%) berkategori baik dan 3 preparat (30%) berkategori kurang baik. Sementara itu, pada parameter keseragaman warna, sebanyak 8 preparat (80%) berkategori baik dan 2 preparat (20%) berkategori kurang baik. Sebaliknya, kelompok etanol 70% masih menunjukkan preparat dengan kategori kurang baik dan tidak baik pada seluruh parameter, terutama pada parameter sitoplasma yang tidak memiliki preparat berkategori baik. Secara deskriptif, preparat jaringan ginjal yang difiksasi menggunakan NBF 10% menunjukkan kualitas pewarnaan yang lebih baik dibandingkan etanol 70%.

Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro Wilk menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji MannWhitney. Berdasarkan Tabel 6, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada parameter inti sel ($p = 0,322$), sehingga kualitas pewarnaan inti sel antara kelompok NBF 10% dan etanol 70% tidak berbeda secara statistik. Sebaliknya, parameter sitoplasma ($p = 0,001$) dan keseragaman warna ($p = 0,028$) menunjukkan perbedaan yang bermakna, yang mengindikasikan bahwa penggunaan NBF 10% menghasilkan kualitas pewarnaan sitoplasma dan keseragaman warna yang lebih baik dibandingkan etanol 70%.



Gambar 1. Gambaran Histologi Jaringan Hati dan Ginjal Mencit Setelah Fiksasi Menggunakan NBF 10% dan Etanol 70% (Pewarnaan Hematoksilin-Eosin). (A) Fiksasi NBF 10% Hepar mencit, (B) Fiksasi NBF 10% ginjal mencit, (C) Fiksasi Etanol 70% Hepar mencit, (D) Fiksasi Etanol 70% Ginjal mencit.

Berdasarkan pengamatan pada Gambar 1, preparat histologi jaringan hati dan ginjal yang difiksasi menggunakan NBF 10% dan etanol 70% menunjukkan perbedaan kualitas preparat. Preparat yang difiksasi menggunakan NBF 10% memperlihatkan inti sel dan sitoplasma yang tampak lebih jelas dengan distribusi warna yang relatif homogen pada kedua jaringan. Sebaliknya, preparat yang difiksasi menggunakan etanol 70% masih memperlihatkan struktur inti sel dan sitoplasma yang dapat diamati, namun kualitas pewarnaannya tampak kurang homogen. Pada jaringan ginjal, intensitas pewarnaan sitoplasma terlihat lebih rendah dibandingkan kelompok NBF 10%, sedangkan pada jaringan hati pewarnaan tampak lebih pekat namun kurang merata. Temuan visual tersebut sejalan dengan hasil analisis statistik yang menunjukkan bahwa NBF 10% memberikan kualitas preparat histologi yang lebih baik dibandingkan etanol 70% pada sebagian besar parameter yang diamati.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% menunjukkan efektivitas yang lebih baik dibandingkan etanol 70% dalam mempertahankan kualitas morfologi histologis jaringan hati dan ginjal mencit. Secara deskriptif, preparat yang difiksasi

menggunakan NBF 10% lebih banyak berada pada kategori baik pada parameter inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna, sedangkan kelompok etanol 70% masih menunjukkan kategori kurang baik dan tidak baik. Hasil ini serupa dengan penelitian lain yang menunjukkan keunggulan NBF 10% dalam mempertahankan kualitas morfologi preparat histologi (Durachim et al., 2023; Wartini et al., 2025). Namun, pola perbedaan kedua fiksatif tidak sama pada setiap organ. Pada jaringan hati, perbedaan bermakna ditemukan pada inti sel dan keseragaman warna, sedangkan pada jaringan ginjal perbedaan bermakna ditemukan pada sitoplasma dan keseragaman warna. Temuan tersebut menunjukkan bahwa pengaruh fiksatif terhadap kualitas preparat dapat dipengaruhi oleh karakteristik histologis masing-masing jaringan.

Perbedaan kualitas preparat antara NBF 10% dan etanol 70% dapat dijelaskan berdasarkan mekanisme kimiawi kedua fiksatif. NBF 10% merupakan fiksatif non-koagulan atau *cross-linking* yang bekerja melalui interaksi formaldehida dengan gugus fungsional protein sehingga membentuk ikatan silang yang membantu menstabilkan protein intraseluler dan ekstraseluler (Ardian et al., 2025). Proses tersebut membantu mempertahankan organisasi jaringan, struktur inti, dan sitoplasma sehingga morfologi sel tetap mendekati kondisi sebelum pengolahan jaringan (Zhou et al., 2020; Koomen et al., 2022). Preservasi struktur tersebut mendukung pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE), karena hematoksilin mewarnai struktur basofilik terutama kromatin inti, sedangkan eosin berikatan dengan komponen protein pada sitoplasma. Struktur jaringan yang terpreservasi dengan baik akan menghasilkan visualisasi inti biru-ungu dan sitoplasma merah muda yang lebih jelas serta relatif homogen (Rahman et al., 2022; Ardian et al., 2025).

Sebaliknya, etanol 70% merupakan fiksatif koagulan yang bersifat mendehidrasi jaringan dengan menarik air serta menyebabkan denaturasi dan presipitasi protein (Ardian et al., 2025). Perubahan organisasi protein akibat proses tersebut dapat menyebabkan pengerutan jaringan (*shrinkage*) dan memengaruhi detail struktur seluler. Presipitasi protein juga dapat menyebabkan distribusi hematoksilin dan eosin menjadi kurang homogen sehingga intensitas pewarnaan antarbagian jaringan lebih bervariasi. Pada beberapa jaringan, koagulasi protein dapat meningkatkan eosinofilia sitoplasma, tetapi detail organel dan batas antarsel dapat menjadi kurang tegas (Rahman et al., 2022; Rezoana et al., 2022; Ardian et al., 2025). Mekanisme tersebut dapat menjelaskan mengapa preparat kelompok etanol 70% dalam penelitian ini menunjukkan variasi kualitas inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna yang lebih besar dibandingkan NBF 10%.

Selain berdampak pada morfologi, pemilihan jenis fiksatif juga berimplikasi terhadap integritas molekuler jaringan yang difiksasi. Srinivasan et al. (2019) menjelaskan bahwa proses fiksasi dan pengolahan jaringan secara bersamaan memengaruhi kualitas morfologi maupun kualitas asam nukleat serta protein yang dapat diekstraksi dari jaringan tersebut. Fiksatif *cross-linking* seperti NBF unggul dalam mempertahankan arsitektur jaringan, tetapi ikatan silang yang terbentuk antara formaldehida dan protein berpotensi menyebabkan fragmentasi asam nukleat serta modifikasi epitop protein sehingga dapat menghambat sebagian analisis molekuler

lanjutan, misalnya reaksi berantai polimerase (PCR) atau imunohistokimia tertentu (Koomen et al., 2022). Sebaliknya, fiksatif koagulan seperti etanol tidak membentuk ikatan silang sehingga cenderung lebih ramah terhadap integritas DNA dan RNA (Chung et al., 2018; Perry et al., 2016), meskipun mekanisme dehidrasi dan presipitasi protein yang menyertainya cenderung mengorbankan kejelasan detail morfologis. Kondisi ini menegaskan bahwa keunggulan morfologis NBF 10% pada penelitian ini tidak serta-merta menjadikannya pilihan yang optimal untuk seluruh tujuan pemeriksaan, khususnya apabila jaringan yang sama juga direncanakan untuk analisis molekuler lanjutan.

Pada jaringan hati, hasil uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan bermakna pada parameter inti sel ($p = 0,024$) dan keseragaman warna ($p = 0,022$), sedangkan parameter sitoplasma tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p = 0,137$). Jaringan hati didominasi oleh hepatosit yang memiliki sitoplasma kaya protein dan organel sehingga komponen sitoplasma masih dapat mempertahankan afinitas terhadap eosin meskipun difiksasi menggunakan etanol 70%. Kondisi tersebut dapat menjelaskan mengapa perbedaan kualitas sitoplasma antara kedua kelompok tidak mencapai kemaknaan statistik (Ardian et al., 2025). Sebaliknya, proses dehidrasi dan presipitasi protein akibat etanol dapat menyebabkan pepadatan kromatin dan perubahan detail inti sehingga pewarnaan hematoksilin menjadi lebih bervariasi (Rahman et al., 2022; Ardian et al., 2025). Hal ini sesuai dengan Gambar 1 yang menunjukkan pewarnaan kelompok etanol 70% lebih kurang homogen dibandingkan NBF 10%. Temuan tersebut mendukung penelitian Wartini et al. (2025) yang menunjukkan kemampuan NBF 10% dalam mempertahankan detail inti dan homogenitas pewarnaan jaringan hati.

Pada jaringan ginjal, pola hasil berbeda dibandingkan jaringan hati. Parameter inti sel tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara NBF 10% dan etanol 70% ($p = 0,322$), sedangkan parameter sitoplasma ($p = 0,001$) dan keseragaman warna ($p = 0,028$) menunjukkan perbedaan bermakna. Ginjal memiliki struktur histologis kompleks berupa glomerulus dan epitel tubulus yang tersusun atas beberapa segmen dengan karakteristik seluler berbeda (Ross & Pawlina, 2023). Sel epitel tubulus, khususnya tubulus proksimal, memiliki sitoplasma kaya organel dan permukaan apikal dengan *brush border* yang dapat lebih sensitif terhadap proses dehidrasi dan koagulasi protein oleh etanol. Perubahan organisasi protein dapat menyebabkan sitoplasma tampak kurang tegas, lebih pucat, atau tidak homogen. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian karena tidak terdapat preparat kelompok etanol 70% yang berkategori baik pada parameter sitoplasma dan sejalan dengan penelitian mengenai pengaruh konsentrasi etanol terhadap kualitas pewarnaan HE jaringan ginjal (Azizah et al., 2025).

Tidak ditemukannya perbedaan bermakna pada inti sel ginjal tidak berarti bahwa NBF 10% dan etanol 70% menghasilkan kualitas yang identik. Secara deskriptif, proporsi preparat dengan kualitas inti kategori baik tetap lebih tinggi pada NBF 10%. Namun, perbedaan distribusi skor tersebut belum cukup besar untuk menunjukkan perbedaan secara statistik. Penelitian Azizah et al. (2025) menunjukkan bahwa kualitas preparat yang difiksasi menggunakan etanol dapat dipengaruhi oleh konsentrasi yang digunakan, sedangkan Durachim et al. (2023)

menunjukkan bahwa fiksasi berbasis etanol dapat menghasilkan kualitas yang kurang optimal dibandingkan NBF 10% pada kondisi tertentu. Dengan demikian, efektivitas etanol sebagai fiksatif dapat dipengaruhi oleh konsentrasi, durasi fiksasi, ukuran jaringan, dan karakteristik organ. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan etanol 70% selama 24 jam belum menghasilkan kualitas sitoplasma dan keseragaman warna ginjal sebaik NBF 10%.

Perlu ditekankan bahwa nilai p yang diperoleh dalam penelitian ini mencerminkan kemaknaan statistik, bukan semata-mata besar kecilnya perbedaan biologis antarkelompok. Dengan jumlah sampel yang relatif kecil ($n = 10$ per kelompok), uji Mann-Whitney U memiliki keterbatasan daya statistik (*power*) untuk mendeteksi perbedaan berskala kecil hingga sedang, sehingga hasil yang belum bermakna pada parameter tertentu, seperti sitoplasma jaringan hati ($p = 0,137$) dan inti sel jaringan ginjal ($p = 0,322$), perlu diinterpretasikan secara hati-hati dan tidak serta-merta diartikan sebagai tidak adanya pengaruh fiksatif sama sekali. Ukuran sampel yang kecil juga membuat hasil lebih rentan terhadap variabilitas biologis antarindividu mencit, misalnya perbedaan ukuran jaringan, kandungan lemak, maupun tingkat autolisis sebelum fiksasi, yang dapat memengaruhi kecepatan penetrasi fiksatif ke dalam jaringan (Taqi et al., 2018; Buesa, 2014). Dengan demikian, tidak tertutup kemungkinan bahwa perbedaan yang secara statistik belum bermakna pada penelitian ini akan menjadi signifikan apabila diuji pada jumlah sampel yang lebih besar.

Perbedaan pola hasil antara jaringan hati dan ginjal memperlihatkan bahwa pengaruh suatu fiksatif tidak selalu seragam pada seluruh organ. Hati memiliki organisasi lobular yang didominasi hepatosit, sinusoid, dan vena sentral, sedangkan ginjal memiliki struktur lebih heterogen berupa glomerulus dan berbagai segmen tubulus. Perbedaan karakteristik tersebut memungkinkan respons yang berbeda terhadap mekanisme *cross-linking* NBF dan koagulasi protein oleh etanol. Hati dan ginjal juga sering digunakan dalam evaluasi histopatologi karena struktur mikroskopis dan perubahan detail selulernya dapat diamati dengan jelas. Dalam kajian toksikologi, kedua organ berperan dalam metabolisme, detoksifikasi, filtrasi, reabsorpsi, dan eliminasi senyawa sehingga sering menjadi organ target pemeriksaan histopatologi (Nessa et al., 2022; Muharni et al., 2023; Gunawan et al., 2024). Oleh karena itu, penggunaan kedua organ dalam penelitian ini memberikan gambaran bahwa pemilihan fiksatif perlu mempertimbangkan karakteristik histologis jaringan dan tujuan struktur yang akan diamati (Wartini et al., 2025).

Selain aspek morfologi, pemilihan fiksatif dalam praktik laboratorium juga perlu mempertimbangkan aspek keselamatan kerja dan pengelolaan limbah. Formaldehida dalam NBF 10% bersifat toksik, iritatif terhadap saluran pernapasan dan mata, serta tergolong bahan yang berpotensi karsinogenik bagi manusia, sehingga penggunaannya menuntut sistem ventilasi yang memadai dan penanganan limbah bahan berbahaya dan beracun (B3) secara ketat (Rezoana et al., 2022). Sebaliknya, etanol 70% relatif lebih aman digunakan, tidak menghasilkan uap yang berbahaya pada konsentrasi tersebut, dan pengelolaan limbahnya lebih sederhana, sehingga tetap relevan sebagai pertimbangan praktis bagi laboratorium pendidikan atau penelitian dengan keterbatasan fasilitas keselamatan kerja (Ardian et al., 2025). Dengan demikian, keputusan

pemilihan fiksatif idealnya tidak hanya didasarkan pada kualitas morfologi semata, tetapi juga mempertimbangkan keseimbangan antara mutu diagnostik yang dibutuhkan, ketersediaan sarana keselamatan kerja, serta kapasitas pengelolaan limbah di masing-masing laboratorium.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini memperkuat penelitian sebelumnya yang menunjukkan keunggulan NBF 10% dalam mempertahankan detail morfologi dan konsistensi pewarnaan jaringan padat (Durachim et al., 2023; Azizah et al., 2025; Wartini et al., 2025). Meskipun Ardian et al. (2025) melaporkan bahwa alkohol 96% menghasilkan kejelasan inti dan kebersihan latar belakang yang lebih baik pada sediaan sitologi cairan asites, perbedaan jenis spesimen dan konsentrasi alkohol menyebabkan hasil tersebut tidak dapat langsung digeneralisasi pada jaringan padat seperti hati dan ginjal (Azizah et al., 2025; Ardian et al., 2025). Berdasarkan hasil penelitian ini, NBF 10% lebih direkomendasikan untuk fiksasi rutin jaringan hati dan ginjal apabila tujuan pemeriksaan adalah mempertahankan kualitas morfologi pada pewarnaan HE, sedangkan etanol 70% masih menghasilkan kualitas preparat yang lebih bervariasi (Rezoana et al., 2022). Keterbatasan penelitian ini meliputi jumlah sampel yang relatif terbatas, penggunaan skoring semi-kuantitatif yang berpotensi dipengaruhi subjektivitas observer, serta hanya digunakannya satu konsentrasi etanol dan satu durasi fiksasi. Penelitian selanjutnya perlu mengevaluasi variasi konsentrasi dan durasi fiksasi etanol serta menggunakan analisis citra digital untuk menilai intensitas dan homogenitas pewarnaan secara lebih objektif (Azizah et al., 2025).

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa penggunaan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% memberikan kualitas morfologi jaringan hati dan ginjal yang lebih baik dibandingkan etanol 70%. Pada jaringan hati, NBF 10% menghasilkan gambaran inti sel dan keseragaman warna yang lebih jelas, sedangkan pada jaringan ginjal menunjukkan kualitas sitoplasma dan keseragaman warna yang lebih baik. Meskipun etanol 70% masih mampu mempertahankan struktur jaringan hingga dapat diamati dengan baik, hasil yang diperoleh cenderung lebih bervariasi dibandingkan NBF 10%. Oleh karena itu, NBF 10% lebih direkomendasikan sebagai fiksatif untuk preparat histologi rutin, khususnya apabila tujuan pemeriksaan adalah memperoleh kualitas morfologi jaringan yang optimal pada pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan, seperti jumlah sampel yang digunakan relatif terbatas dan penilaian preparat yang masih menggunakan metode skoring sehingga berpotensi dipengaruhi oleh subjektivitas pengamat. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak, mengevaluasi variasi konsentrasi maupun lama fiksasi etanol, serta menerapkan metode penilaian yang lebih objektif, misalnya melalui analisis citra digital. Dengan demikian, efektivitas berbagai jenis

fiksatif dalam mempertahankan kualitas morfologi jaringan dapat dinilai secara lebih akurat dan komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardian, Y., Rizki, E., Amarullah, A., & Marinta. (2025). Kualitas Morfologi Sel Asites Setelah Dilakukan Fiksasi Alkohol 96% dan NBF 10% pada Sediaan Sitologi Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi*, 4(6), 1478-1485. <https://www.journal.literasisains.id/index.php/insologi/article/view/6397/2668>
- Azizah, M. N., Nailufar, Y., & Rahmawati, Y. (2025). Variasi Konsentrasi Larutan Fiksasi Etanol terhadap Kualitas Hasil Pewarnaan Hematoksilin Eosin pada Jaringan Histologi Ginjal Mencit. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 11(2), 272-283. <https://www.deepdyve.com/lp/unpaywall/variase-konsentrasi-larutan-fiksasi-etanol-terhadap-kualitas-hasil-PwqjYWdmKa>
- Chung, J. Y., Song, J. S., Ylaya, K., Sears, J. D., Choi, L., Cho, H., Rosenberg, A. Z., & Hewitt, S. M. (2018). Histomorphological and molecular assessments of fixation times comparing formalin and ethanol-based fixatives. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 66(2), 121-135. <https://doi.org/10.1369/0022155417741467>
- Gunawan, Y. E., Priyadi, M., Citrariana, S., Saputra, R. R., Decenly, D., Fauziah, A. R., ... & Suprayogi, T. (2024). Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Setelah Pemberian Ekstrak Daun Bajakah Kalalawit (*Uncaria gambir* Roxb.). *Jurnal Pharmascience*, 11(2), 227-238. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience/article/view/17733>
- Koomen, J. M., Wang, Y., & Patel, K. (2022). Impact of fixation duration and buffer composition on formalin-induced artifacts in cytology preparations. *Diagnostic Cytopathology*, 50(8), 421-429. <https://doi.org/10.1002/dc.24976>
- Mescher, A. L. (2021). *Junqueira's basic histology: Text and atlas* (16th ed.). McGraw-Hill Education.
- Muharni, M., Ferlinahayati, F., Fitrya, F., Eliza, E., Yohandini, H., & Cenora, C. (2023). Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Paronema canescens* Jack.) terhadap Tikus Putih *Rattus norvegicus* (Wistar strain). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 10(2), 211-217. <https://jsfk.ffarmasi.unand.ac.id/index.php/jsfk/article/view/1357>
- Nessa, N., Martinus, B. A., & Oktarina, S. (2022). Uji Toksisitas Subakut Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Stigma maydis*) Terhadap Fungsi Hati Tikus Putih Jantan. *JAFP (Jurnal Akademi Farmasi Prayoga)*, 7(1), 28-38. <https://jurnal3.akfarprayoga.ac.id/index.php/JAFP/article/view/47/40>
- Perry, C., Chung, J. Y., Ylaya, K., Choi, C. H., Simpson, A., Matsumoto, K. T., Smith, W. A., & Hewitt, S. M. (2016). A buffered alcohol-based fixative for histomorphologic and molecular applications. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 64(7), 425-440. <https://doi.org/10.1369/0022155416649579>

- Rahman, M. A., Sultana, N., Ayman, U., Bhakta, S., Afrose, M., Afrin, M., & Haque, Z. (2022). Alcoholic Fixation over Formalin Fixation: A New, Safer Option for Morphologic and Molecular Analysis of Tissues. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 175–182. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X21007646>
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2023). *Histology: A text and atlas: With correlated cell and molecular biology* (9th ed.). Wolters Kluwer.
- Rezoana, R., Akter, L., Islam, R., Bhakta, S., Ayman, U., Karim, M. R., & Haque, Z. (2022). The Hazardous Effects of Formalin and Alcoholic Fixative in Mice: A Public Health Perspective Study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3366–3371. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X2200095X>
- Salsabila, Q., Durachim, A., Wiryanti, W., & Rahmat, M. (2023). Perbandingan Kualitas Hasil Preparat Histologi Jaringan Ginjal Dengan Fiksasi Menggunakan Neutral Buffer Formalin 10% Dan Etanol 50%. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1), 327–333. <https://jurnal.polkesban.ac.id/index.php/jks/article/view/1489>
- Srinivasan, M., Sedmak, D., & Jewell, S. (2019). Effect of fixatives and tissue processing on morphology and molecular integrity. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 27(8), 591–599.
- Taqi, S. A., Sami, S. A., Sami, L. B., & Zaki, S. A. (2018). A review of artifacts in histopathology. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 22(2), 279–287. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_125_17
- Wartini, F., Nailufar, Y., & Rahmawati, Y. (2025). Literature review: Perbandingan variasi waktu fiksasi jaringan histologi pada pewarnaan hematoxylin eosin (HE). *Jurnal Medika Indonesia*, 6(1), 7–16. <https://ejr.umku.ac.id/index.php/JMI/article/view/3047>
- Zhou, Y., Chen, X., & Li, L. (2020). Mechanisms of cross - linking fixation and its influence on nucleic acid integrity in histopathological samples. *Journal of Histotechnology*, 43 (2), 91–98. <https://doi.org/10.1080/01478885.2020.1723546>