

## Perbandingan Kualitas Pewarnaan *Diff-Quick* Pada Preparat Histologi dengan Variasi Suhu Fiksasi 4°C, 25°C, dan 45°C Selama 24 Jam

Allicya Renata Putri Arroza<sup>1\*</sup>, Syifa Noviyanthi<sup>2</sup>, Alsira Naswa Fatihah, A. S<sup>3</sup>, Tri Silvian Zega<sup>4</sup>

Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan,  
Kabupaten Tangerang, Indonesia<sup>1,2,3,4</sup>

\*Email Korespondensi: [renataallicya9@gmail.com](mailto:renataallicya9@gmail.com)\*

---

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Submitted 17-Juli-2026

Received 18-Juli-2026

Published 19-Juli-2026

#### Keywords:

Histology;  
Diff-Quick staining;  
Fixation temperature;  
Mouse intestine;

#### Kata Kunci:

Histologi;  
Pewarnaan Diff-Quick;  
Suhu Fiksasi;  
Usus mencit;

### ABSTRACT

*Histology is a branch of science that studies tissue and cellular structures at microscopic level, playing an important role in understanding the relationship between form and function. The accuracy of histological observation depends on fixation and staining techniques. Diff-Quick is known as rapid and practical staining method, but its quality is influenced by fixation conditions. This study aimed to analyze the effect of fixation temperature variations at 4 degrees celcius, 25 degrees celcius, and 45 degrees celcius for 24 hour using 10 percent Neutral Buffered Formalin on the staining quality of mouse intestinal tissue. The research was conducted using a quantitative experimental design with forty-two samples divided into three groups based on fixation temperature. Staining quality was assessed by nuclear clarity, cytoplasmic detail, color intensity, and artifact presence. The result showed that fixation at 4 degrees celcius produced the best quality with sharp nuclear and cytoplasmic contrast and well-preserved morphology (average score 15.5; very good). Fixation at 25 degrees celcius provided good quality due to cell lysis and uneven staining (average score 6.2). This study provides scientific contributions in the form of recommendation for anatomical pathology laboratories. Fixation at 4 degrees celcius has the potential to improve the quality of rapid histological preparations using the Diff-Quick staining technique preserving morphological details and reducing artifacts. Nevertheless, fixation at 25 degrees celcius remains the standard procedure that ensures accurate diagnostic results and can be routinely applied in laboratory practice.*

### ABSTRAK

Histologi merupakan cabang ilmu yang mempelajari struktur jaringan dan sel pada tingkat mikroskopis, yang berperan penting dalam memahami hubungan antara bentuk dan fungsi. Keakuratan pengamatan histologis bergantung pada teknik fiksasi dan pewarnaan yang digunakan. *Diff-Quick* dikenal sebagai metode pewarnaan yang cepat dan praktis,

namun kualitas hasilnya dipengaruhi oleh kondisi fiksasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi suhu fiksasi 4 derajat celcius, 25 derajat celcius, dan 45 derajat celcius selama 24 jam menggunakan *Neutral Buffered Formalin* 10 persen terhadap kualitas pewarnaan jaringan usus mencit. Penelitian dilakukan dengan desain eksperimental kuantitatif menggunakan 42 sampel jaringan usus mencit yang difiksasi pada tiga kelompok suhu. Kualitas pewarnaan dinilai berdasarkan kejelasan nukleus, detail sitoplasma, intensitas warna, serta artefak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fiksasi pada suhu 4 derajat celcius menghasilkan kualitas terbaik dengan kontras nukleus dan sitoplasma yang tajam serta morfologi jaringan terpelihara (rata-rata skor 15,5; kategori sangat baik). Suhu 25 derajat celcius memberikan kualitas baik (rata-rata skor 12,36), sedangkan suhu 45 derajat celcius memberikan kualitas buruk akibat lisis sel dan pewarnaan tidak merata (rata-rata skor 6,2). Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok. Temuan ini menegaskan bahwa hasil penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah berupa rekomendasi bagi laboratorium patologi anatomi bahwa fiksasi pada suhu 4°C berpotensi meningkatkan kualitas sediaan histologi cepat dengan teknik pewarnaan *Diff-Quick* melalui pemeliharaan detail morfologi dan pengurangan artefak. Meskipun demikian, fiksasi pada suhu 25°C tetap merupakan standar yang memberikan hasil diagnostik yang akurat dan dapat digunakan secara rutin di laboratorium.

## PENDAHULUAN

### I. Latar Belakang

Histologi merupakan cabang ilmu yang berfokus pada kajian struktur jaringan serta sel organisme pada tingkat mikroskopis. Pemahaman terhadap aspek ini memiliki arti penting karena menjadi dasar dalam mengetahui hubungan antara bentuk dan fungsi sel maupun jaringan (Sari, N. I. P., *et al.*, 2024). Histologi dipahami sebagai cabang ilmu kedokteran yang berfokus pada kajian struktur jaringan melalui penggunaan mikroskop. Di dalamnya tercakup mengenai fungsi fisiologis sel-sel tubuh, baik pada manusia, hewan, maupun tumbuhan (Wulansari, N., *et al.*, 2024). Pengamatan histologis tidak dapat mencapai tingkat akurasi yang memadai apabila tidak disertai dengan penerapan metode pendukung yang sesuai. Salah satu komponen esensial yang berperan dalam meningkatkan kejelasan hasil observasi adalah penggunaan teknik pewarnaan, yang memungkinkan diferensiasi struktur seluler dan jaringan secara lebih cepat. Pemilihan

teknik pewarnaan histologis pada suatu spesimen ditentukan oleh kebutuhan ilmiah yang menjadi pokok penelitian. Dengan demikian, metode pewarnaan yang digunakan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian agar hasil pengamatan jaringan dapat memberikan informasi yang relevan dan akurat (Gurina, T. S., & Simms, L. 2023). Pada penelitian ini dilakukan modifikasi prosedur pewarnaan histologis, di mana teknik standar yang umumnya digunakan pada sediaan histologi ada pewarnaan *Hematoxylin & Eosin* (H&E) dimodifikasi dengan metode pewarnaan *Diff-Quick*. Metode pewarnaan *Diff-Quick* merupakan metode pewarnaan yang dikenal sebagai metode yang efisien dan praktis, namun kualitas hasil pewarnaan memiliki peranan yang cukup krusial dalam menampilkan morfologi sel secara jelas serta menjamin keandalan interpretasi diagnostik. Apabila kualitas pewarnaan tidak tepat, proses identifikasi dini terhadap penyakit yang berpotensi serius dapat terhambat (Hermawan, R. A., et al., 2025). Kualitas hasil pewarnaan sangat bergantung pada kondisi preparat sebelum proses pewarnaan dilakukan. Tahapan awal seperti fiksasi, dehidrasi, dan embedding harus dijalankan tepat sesuai dengan prosedur yang ada, karena setiap ketidak sempurnaan pada tahap tersebut dapat dapat memengaruhi penetrasi zat warna ke dalam jaringan.

Fiksasi merupakan tahapan awal yang sangat penting dalam pemrosesan jaringan untuk analisis histopatologi. Tujuan utamanya adalah menjaga jaringan agar tetap mendekati kondisi asli, baik secara fisik maupun secara kimia. Hal ini dicapai dengan cara menstabilkan protein, mencegah autolisis atau kerusakan sel akibat enzim internal, serta menghentikan enzim mikroba (Digambiro, R. A., & Parwanto, E. 2023). Larutan fiksasi yang umum digunakan adalah *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%. Larutan ini terdiri atas campuran sodium hydrogen fosfat dan disodium hydrogen fosfat yang menghasilkan pH netral. Dengan adanya sifat tersebut, NBF dapat berfungsi sebagai pengawet suatu jaringan yang mudah digunakan dalam proses fiksasi (Wartinia, et al., 2025). Kualitas hasil fiksasi sangat dipengaruhi oleh faktor suhu dan lama waktu fiksasi. Pada suhu rendah seperti 4°C kerusakan jaringan dapat diperlambat, sedangkan pada suhu ruang seperti 25°C sering dijadikan standar karena memberikan hasil yang seimbang, sementara itu, pada suhu tinggi 45°C memang mempercepat penetrasi fiksatif, tetapi memiliki resiko menimbulkan denaturasi protein.

Dalam penelitian ini, seluruh variasi suhu tersebut diterapkan dengan lama fiksasi 24 jam untuk menilai perbedaan kualitas preparat yang dihasilkan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Burhannudin dan Hebrananda (2024) yang dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan jaringan hati tikus Wistar jantan. Sebanyak 75 preparat histologi dibagi ke dalam lima kelompok yaitu kontrol konvensional, kontrol *microwave*, dan kontrol *hotplate*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemasangan dengan *hotplate* pada suhu 80°C selama 3 menit menghasilkan kualitas pewarnaan terbaik dengan skor morfologi 3, lebih tinggi dibandingkan kontrol maupun perlakuan lain. Sebaliknya, pemanasan dengan waktu yang lebih lama (5-10 menit) menghasilkan penurunan kualitas

karena menyebabkan kerusakan jaringan akibat dentaurasi protein dan robeknya struktur sel. Analisis statistik (Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney) menegaskan adanya perbedaan signifikan antara perlakuan dalam kontrol. Dengan demikian, penelitian ini membuktikan bahwa suhu dan durasi penasan berpengaruh langsung terhadap keberhasilan fiksasi jaringan. Penelitian oleh Sabban *et al* (2023) menunjukkan bahwa variasi waktu fiksasi berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan *Diff-Quick* pada preparat sitologi *Fine Needle Aspiration Biopsy* (FNAB) payudara. Penelitian tersebut menggunakan preparat sitologi yang berasal dari FNAB, sehingga berbeda dengan penelitian ini yang menggunakan preparat jaringan histologi. Berdasarkan telaah pustaka, penelitian mengenai *Diff-Quick* masih didominasi pada preparate sitologi, seperti FNAB payudara, sedangkan penelitian mengenai penerapan *Diff-Quick* pada preparat jaringan histologi masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi penggunaan *Diff-Quick* pada preparate jaringan histologi serta mengevaluasi pengaruh variasi suhu terhadap preparat histologi.

Penelitian mengenai variasi suhu fiksasi terhadap kualitas pewarnaan *Diff-Quick* menjadi penting karena kondisi fiksasi yang berbeda dapat memengaruhi kejelasan detail morfologi sel, kestabilan intensitas warna, serta munculnya artefak pada preparate histologi. Dengan memahami pengaruh suhu terhadap hasil pewarnaan, laboratorium dapat menentukan kondisi fiksasi yang paling sesuai untuk menjaga kualitas preparat. Kajian ini diharapkan mampu memberikan dasar ilmiah baru dalam penggunaan metode *Diff-Quick* pada jaringan histologi, sehingga dapat memperluas pemahaman tentang faktor teknis yang memengaruhi keberhasilan pewarnaan.

## II. Kajian Refrensi

Histologi merupakan cabang ilmu kedokteran yang mempelajari struktur jaringan pada tingkat mikroskopis. Kejelasan hasil pengamatan histologis sangat bergantung pada penerapan teknik pewarnaan yang tepat, karena pewarnaan memungkinkan diferensiasi struktur seluler dan jaringan sehingga interpretasi morfologi dapat dilakukan secara akurat (Sari *et al.*, 2024; Wulansari *et al.*, 2024). Teknik pewarnaan standar yang umum digunakan adalah *Hematoxylin & Eosin* (H&E), namun dalam beberapa penelitian dilakukan modifikasi dengan metode pewarnaan *Diff-Quick*. Metode ini dikenal efisien dan praktis, serta mampu menampilkan morfologi sel dengan cukup jelas, meskipun kualitas hasil pewarnaan tetap menjadi faktor krusial dalam menjamin keandalan dalam diagnostik (Hermawan *et al.*, 2025). Tahapan awal pemrosesan jaringan, khususnya fiksasi memiliki peran penting dalam menjaga kondisi jaringan agar tetap mendekati keadaan asli. Fiksasi dilakukan untuk menstabilkan protein untuk mencegah autolisis, dan menghentikan aktivitas enzim mikroba (Digambiro & Parwanto, 2023). Larutan yang umum digunakan adalah *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%, yang memiliki pH netral sehingga efektif sebagai pengawet jaringan (Wartinia *et al.*, 2025). Faktor suhu fiksasi terbukti memengaruhi kualitas

preparate. Suhu rendah (4°C) memperlambat kerusakan jaringan, suhu ruang (25°C) sering dijadikan standar karena memberikan hasil seimbang, sedangkan suhu tinggi (45°C) mempercepat penetrasi fiksatif tetapi memiliki resiko akan menimbulkan denaturasi protein.

Penelitian terdahulu mendukung pentingnya faktor suhu dan waktu fiksasi, Burhannudin dan Herbyananda (2024) menunjukkan bahwa pemanasan dengan menggunakan *hotplate* 80°C selama 3 menit menghasilkan kualitas akibat kerusakan jaringan. Sabban *et al.* (2023) menegaskan bahwa variasi waktu fiksasi berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan *Diff-Quick* pada preparat sitologi FNAB payudara. Sementara itu, Wartinia *et al.* (2025) melalui kajian sistematis pada pewarnaan H&E menekankan bahwa standar waktu dan suhu fiksasi sangat menentukan kualitas preparat histologi. Namun, Sebagian besar penelitian mengenai *Diff-Quick* masih berfokus pada preparat sitologi menjadi penting untuk menentukan kondisi optimal yang menghasilkan detail morfologi jelas, intensitas warna stabil, dan artefak minimal. Kajian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah baru dalam penggunaan metode *Diff-Quick* pada jaringan histologi serta memperluas pemahaman tentang faktor teknis yang memengaruhi keberhasilan pewarnaan.

### III. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh variasi suhu fiksasi 4°C, 25°C, dan 45°C selama 24 jam terhadap kualitas pewarnaan *Diff-Quick* pada preparat histologi. Penelitian ini juga dimaksudkan untuk membandingkan hasil pewarnaan berdasarkan kejernihan morfologi sel, intensitas warna, serta artefak yang muncul pada masing-masing kondisi fiksasi. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat menentukan suhu fiksasi yang paling optimal dalam menghasilkan kualitas pewarnaan *Diff-Quick* yang konsisten dan representatif. Selain itu, penelitian ini bertujuan memberikan kontribusi ilmiah dalam memperluas pemahaman mengenai faktor teknis yang memengaruhi keberhasilan pewarnaan jaringan histologi, sehingga dapat menjadi dasar rekomendasi praktis bagi laboratorium dalam menetapkan standar fiksasi yang sesuai.

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode kuantitatif eksperimental dengan desain *Post-Test Only Control Group*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2026 di Laboratorium Hematologi Fakultas Ilmu Kesehatan dan Mochtar Riady Institute for Nanotechnology (MRIN), Universitas Pelita Harapan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh variasi suhu fiksasi (4°C, 25°C, 45°C) menggunakan larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% selama 24 jam terhadap kualitas struktur morfologi pada jaringan usus mencit (*Mus musculus*). Dalam melakukan eksperimen, jumlah sampel hewan coba penelitian ini dihitung menggunakan

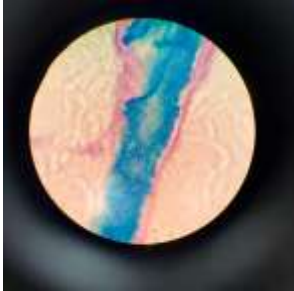
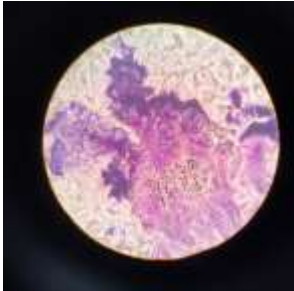
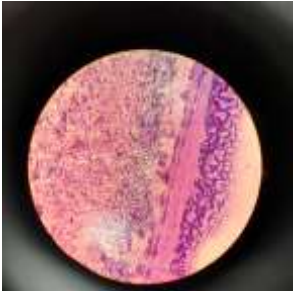
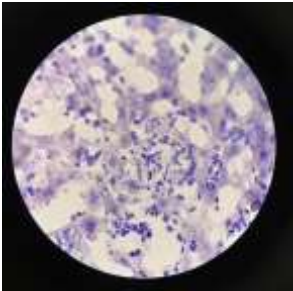
rumus Federer. Berdasarkan perhitungan, penelitian ini menggunakan 14 ekor mencit yang terbagi menjadi 42 jaringan usus dalam tiga kelompok perlakuan berdasarkan variasi suhu fiksasi, dengan masing-masing suhu memiliki 14 jaringan usus mencit. Seluruh rangkaian proses pengambilan jaringan usus mencit ini dilakukan dengan prosedur non-survival sesuai AVMA *Guidelines for the Euthanasia of Animals*, sehingga hewan percobaan tidak mengalami risiko nyeri dan stres. Organ usus mencit diperoleh sesuai dengan standar prosedur yang telah ditetapkan, kemudian usus dipotong  $\pm 1 \times 1 \times 0,5$  cm dan segera difiksasi menggunakan NBF 10% pada tiga kelompok suhu 4°C, 25°C, dan 45°C untuk mengoptimalkan penetrasi cairan fiksatif dan menjaga morfologi jaringan usus. Selain itu, penelitian ini meliputi rangkaian prosedur histologi, seperti *dehydration*, *clearing*, *impregnation*, *embedding*, *sectioning*, dan *staining*. Instrumen penelitian meliputi mikroskop untuk observasi kualitas morfologi usus mencit dan kualitas pewarnaan HE dalam jaringan usus termasuk intensitas warna, kontras, serta kejelasan detail seluler. Validitas penelitian ini diuji berdasarkan penilaian pakar histologi, sedangkan reliabilitas data diperoleh melalui uji konsistensi pengamatan dalam mengidentifikasi morfologi usus mencit terhadap pengaruh fiksasi dengan variasi suhu. Pengumpulan data dilakukan dengan mengamati preparat jaringan usus mencit berdasarkan klasifikasi suhu fiksasi dengan menggunakan jenis pewarnaan *Diff-Quick*. Proses analisis data pada penelitian ini dilakukan secara deskriptif guna melihat kualitas morfologi dan kualitas pewarnaan *Diff-Quick* pada sampel histologi berupa jaringan usus.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perbandingan Kualitas Pewarnaan *Diff-Quick* pada Preparat Histologi dengan Variasi Suhu Fiksasi 4°C, 25°C, dan 45°C

**Tabel 1.** Gambaran mikroskopis kualitas preparat jaringan usus pada proses fiksasi menggunakan variasi suhu 4°C (a), suhu kontrol 25°C (b), dan suhu 45°C (c)

| Kelompok | Preparat<br>Mikroskopis<br>400x Perbesaran | Preparat<br>Mikroskopis<br>1000x Perbesaran | Kualitas Pewarnaan<br><i>Diff-Quick</i>                               | Skor &<br>Interpretasi |
|----------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------|
|          |                                            |                                             | Intensitas<br>pewarnaan merata,<br>kontras nukleus<br>(basofilik) dan |                        |

|          |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                       |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| A (4°C)  |    |    | <p>sitoplasma (eosinofilik) terlihat sangat tajam, serta morfologi seluler maupun arsitektur jaringan terpelihara dengan sangat baik.</p> <p>Intensitas pewarnaan merata dan kontras nukleus-sitoplasma teridentifikasi cukup jelas, namun ketajaman diferensiasi warna tidak seoptimal kelompok A.</p> <p>Intensitas pewarnaan tidak merata dengan kontras nukleus-sitoplasma yang sangat rendah akibat lisis sel total, sehingga interpretasi batas maupun morfologi spesifik jaringan menjadi sulit diidentifikasi.</p> | <p>15<br/>(Sangat Baik)</p> <p>12<br/>(Baik)</p> <p>6<br/>(Buruk)</p> |
| B (25°C) |    |    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                       |
| C (45°C) |  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                       |

**Keterangan:**

Parameter yang dinilai:  
a). Kejelasan nukleus  
b). Kejelasan sitoplasma  
c). Intensitas Pewarnaan  
d). Artefak (*Crush*)

Skor tiap parameter:  
a). 1 = Sangat buruk  
b). 2 = Kurang baik  
c). 3 = Baik  
d). 4 = Sangat baik

Interpretasi total skor:  
a). 4-7 = Buruk  
b). 8-11 = Cukup  
c). 12-14 = Baik  
d). 15-16 = Sangat baik

Berdasarkan Tabel 1, hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa variasi suhu fiksasi memengaruhi kualitas pewarnaan *Diff-Quick* pada preparat histologi jaringan usus mencit. Kelompok A (4°C) menghasilkan kualitas pewarnaan terbaik dengan intensitas warna yang merata, kontras antara nukleus (basofilik) dan sitoplasma (eusinofilik) tampak jelas, serta morfologi sel maupun arsitektur jaringan masih terpelihara dengan baik. Meskipun pada beberapa area ditemukan sedikit artefak berupa *crush* pada sitoplasma, struktur jaringan masih dapat diamati dengan jelas sehingga memperoleh kategori **sangat baik** dengan total skor **15**. Kelompok B (25°C) juga memperlihatkan kualitas pewarnaan yang baik, ditandai dengan intensitas warna yang cukup merata serta kontras nukleus dan sitoplasma yang masih dapat dibedakan. Namun, ketajaman diferensiasi warna sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok A sehingga termasuk dalam kategori **baik** dengan total skor **12**. Sebaliknya, kelompok C (45°C) menghasilkan kualitas pewarnaan yang paling rendah. Preparat pada kelompok ini menunjukkan intensitas pewarnaan yang tidak merata disertai kerusakan (*crush*) pada nukleus dan sitoplasma sehingga batas kedua struktur menjadi tidak jelas dan menyulitkan identifikasi morfologi jaringan. Kondisi tersebut menyebabkan preparate kelompok C hanya memperoleh kategori **cukup** dengan total skor **7**. Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu fiksasi **4°C** menghasilkan kualitas pewarnaan *Diff-Quick* yang paling optimal dibandingkan suhu kontrol **25°C** maupun suhu tinggi **45°C**, ditinjau dari kejelasan nukleus, sitoplasma, intensitas pewarnaan, serta minimnya artefak pada preparate histologi.

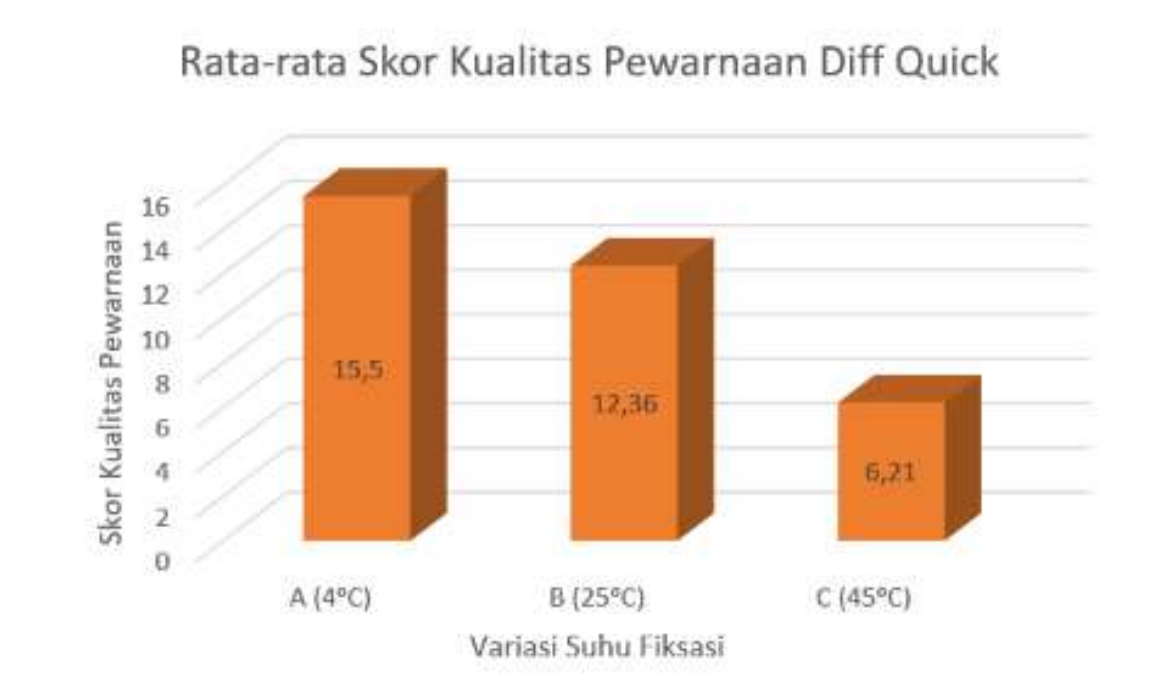
**Tabel 2.** Hasil skoring seluruh preparat dan rata-rata skor tiap kelompok serta interpretasi

| Preparat | A (4°C) | B (25°C) | C (45°C) |
|----------|---------|----------|----------|
| 1        | 15      | 12       | 7        |
| 2        | 16      | 12       | 4        |
| 3        | 16      | 13       | 6        |
| 4        | 16      | 12       | 6        |
| 5        | 15      | 12       | 7        |
| 6        | 15      | 12       | 5        |
| 7        | 16      | 14       | 7        |
| 8        | 15      | 13       | 6        |
| 9        | 15      | 13       | 7        |
| 10       | 15      | 12       | 7        |
| 11       | 16      | 12       | 7        |
| 12       | 15      | 12       | 4        |
| 13       | 16      | 12       | 7        |

| Preparat                     | A (4°C)     | B (25°C) | C (45°C) |
|------------------------------|-------------|----------|----------|
| 14                           | 16          | 12       | 7        |
| Rata-rata Skor Tiap Kelompok | 15,5        | 12,36    | 6,2      |
| Interpretasi                 | Sangat baik | Baik     | Buruk    |

**Keterangan:** Skor merupakan total penilaian dari empat parameter, yaitu kejelasan nukleus, kejelasan sitoplasma, intensitas intensitas pewarnaan, dan artefak (*crush*). Rentang interpretasi skor meliputi 15-16 = sangat baik, 12-14 = baik, 8-11 = cukup, dan 4-7 = buruk.

**Gambar 2.** Diagram batang rata-rata skor kualitas pewarnaan diff-quick pada preparat histologi jaringan usus mencit berdasarkan variasi suhu fiksasi



Berdasarkan Gambar 2, hasil penilaian terhadap 14 preparat pada masing-masing kelompok menunjukkan adanya perbedaan rata-rata skor kualitas pewarnaan *Diff-Quick*. Kelompok A (4°C) memperoleh rata-rata skor tertinggi sebesar 15,5 dengan kategori **sangat baik**, diikuti kelompok B (25°C) memperoleh rata-rata skor 12,36 yang termasuk kategori **baik**.

Sedangkan kelompok C (45°C) memiliki rata-rata skor **6,21** dengan kategori **buruk**. Perbedaan rata-rata skor tersebut menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan preparat berbeda pada setiap variasi suhu fiksasi.

**Tabel 3.** Hasil uji one-way anova

| Parameter                   | Nilai                                                                                                      |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Jumlah Kelompok             | 3                                                                                                          |
| Jumlah Preparat             | 42 (14 preparat/kelompok)                                                                                  |
| F hitung                    | 485,78                                                                                                     |
| F tabel ( $\alpha = 0,05$ ) | 3, 24                                                                                                      |
| p-value                     | $2,73 \times 10^{-28}$                                                                                     |
| Keputusan                   | $H_0$ ditolak                                                                                              |
| Kesimpulan                  | Terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kualitas pewarnaan <i>Diff-Quick</i> pada variasi suhu fiksasi |

Berdasarkan hasil uji One-Way ANOVA pada tabel 3 diperoleh nilai F hitung sebesar 485,78 dengan p-value sebesar  $2,73 \times 10^{-28}$  ( $p < 0,05$ ). Nilai F hitung yang lebih besar daripada F tabel (3,24) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kualitas pewarnaan *Diff-Quick* pada preparate histologi jaringan usus mencit yang difiksasi pada suhu 4°C, 25°C, dan 45°C. Dengan demikian, hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak dan hipotesis alternatif ( $H_1$ ) diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa variasi suhu fiksasi berpengaruh secara signifikan terhadap kualitas pewarnaan *Diff-Quick*.

Berdasarkan data empiris hasil pengamatan mikroskopis dan skoring terhadap 14 preparat pada masing-masing kelompok perlakuan, ditemukan bahwa variasi suhu fiksasi menggunakan larutan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kualitas pewarnaan *Diff-Quick* pada sediaan histologi jaringan usus mencit. Berdasarkan data penelitian, Kelompok A yang menggunakan fiksasi suhu dingin (4°C) berhasil memperoleh rata-rata skor tertinggi sebesar 15,5, yang menempatkannya dalam interpretasi kategori sangat baik. Karakteristik visual pada kelompok 4°C ini ditandai dengan intensitas pewarnaan yang merata, kontras antara komponen nukleus dan sitoplasma yang sangat tajam, serta terpeliharanya morfologi seluler maupun arsitektur vili jaringan usus secara optimal. Keunggulan fiksasi dingin pada organ usus ini berkaitan dengan karakteristik histologis saluran pencernaan yang kaya akan enzim hidrolitik internal, sehingga sangat rentan mengalami autolisis cepat pasca-kematian jaringan. Penurunan suhu fiksasi hingga 4°C secara

efektif menekan energi kinetik seluler dan memperlambat aktivitas enzimatik destruktif tersebut, sehingga memberikan waktu yang cukup bagi molekul fiksatif untuk berpenetrasi menstabilkan struktur protein jaringan sebelum terjadi kerusakan internal sel (Musyarifah & Agus, 2018). Pentingnya preservasi struktural yang stabil pada spesimen biopsi saluran cerna ini sejalan dengan studi dari Maglio et al. (2025), yang menekankan bahwa kontrol kualitas jaringan pada spesimen usus atau duodenum sangat krusial untuk mencegah degradasi morfologi seluler mikrokompartmenten sel sebelum dilakukan analisis histopatologi lebih lanjut.

Pada kelompok kontrol temperatur ruang yaitu Kelompok B (25°C), sediaan menghasilkan kualitas pewarnaan dengan kategori baik melalui perolehan rata-rata skor sebesar 12,36. Walaupun intensitas warna merata dan kontras nukleus-sitoplasma dapat teridentifikasi cukup jelas, tingkat ketajaman diferensiasi warnanya terbukti tidak seoptimal sediaan Kelompok A yang difiksasi pada suhu dingin (4°C). Hal ini disebabkan karena pada suhu kamar (25°C), laju autolisis sel berjalan secara simultan dengan laju penetrasi formalin, sehingga terjadi denaturasi parsial pada beberapa komponen protein seluler sebelum sempat berikatan silang (*cross-linking*) secara sempurna. Penurunan kualitas visual yang paling ekstrem ditemukan pada Kelompok C (45°C) yang mengalami paparan suhu tinggi selama proses fiksasi, dengan perolehan rata-rata skor terendah sebesar 6,21 sehingga diklasifikasikan ke dalam kategori buruk. Preparat pada Kelompok C didominasi oleh intensitas pewarnaan yang tidak merata disertai kehancuran struktural masif akibat lisis sel total, yang berakibat pada hilangnya batas-batas morfologi spesifik jaringan usus. Dampak buruk ketidakstabilan kondisi lingkungan fisik ini serupa dengan fenomena degradasi sampel yang diamati oleh Sabban et al. (2026), di mana sediaan biologis yang mengalami penundaan atau paparan lingkungan tidak ideal tanpa fiksasi pengawet yang tepat akan memicu dekomposisi organik sel dan kerusakan morfologi seluler, yang secara visual merusak ketajaman warna dan menurunkan efektivitas pewarnaan *Diff-Quick* secara signifikan.

Hubungan erat antara kualitas fiksasi fisik ini dengan hasil visualisasi mikroskopis dapat ditinjau berdasarkan mekanisme kimiawi reagen *Diff-Quick* yang bekerja memanfaatkan perbedaan muatan elektrostatis komponen seluler (Universitas Pelita Harapan, 2026). Sesuai dengan prinsip sitohistoteknologi, pewarnaan cepat *Diff-Quick* mengombinasikan zat warna asam Eosin (anionik) yang bermuatan negatif untuk mengikat gugus amino protein sitoplasma yang bermuatan positif (bersifat asidofilik/eosinofilik) sehingga menghasilkan warna merah muda, serta zat warna basa *Methylene Blue* (kationik) yang bermuatan positif untuk mengikat gugus fosfat dari asam nukleat inti sel yang bermuatan negatif (bersifat basofilik) sehingga menghasilkan warna ungu atau biru yang tajam (Universitas Pelita Harapan, 2026). Universitas Pelita Harapan (2026) menetapkan bahwa kriteria hasil pewarnaan yang baik wajib mencakup nukleus berwarna biru, sitoplasma berwarna merah, serta latar belakang sediaan yang bersih dari endapan sisa pewarna yang mengganggu. Karena fiksasi suhu dingin (4°C) pada Kelompok A sukses menjaga kerapatan molekuler dan integritas muatan elektrostatis seluler tanpa distorsi termal, ikatan kimiawi antara zat warna dan komponen sel dapat terjalin secara

sempurna. Hal ini sinkron dengan temuan Pilchová et al. (2025) yang menyatakan bahwa retensi dan fiksasi protein matriks serta komponen asam nukleat seluler sangat bergantung pada kontrol kondisi fiksasi kimiawi yang presisi agar situs pengikatan muatan elektrostatis tidak mengalami denaturasi dini. Sebaliknya, pada Kelompok C (45°C), terjadinya lisis sel total menyebabkan asam nukleat mengalami fragmentasi dan protein sitoplasma terdegradasi keluar sel, sehingga reagen *Diff-Quick* kehilangan situs pengikatan spesifiknya. Kondisi inilah yang menjelaskan mengapa visualisasi mikroskopis Kelompok C menghasilkan kontras warna yang sangat rendah dan kabur.

Meskipun variasi parameter waktu fiksasi dalam beberapa pengerjaan laboratorium kedokteran terkadang dianggap memiliki fleksibilitas, ketepatan parameter fisik tidak dapat diabaikan jika dihadapkan pada variasi suhu yang ekstrem. Sebagai perbandingan, pada pengerjaan Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT), variasi waktu fiksasi singkat menggunakan methanol absolut pada kondisi suhu stabil tidak menunjukkan perbedaan kualitas morfologi sel darah yang bermakna secara statistik (Wati et al., 2025). Hal ini membuktikan bahwa seluler tunggal atau apusan tipis yang langsung terekspos agen fiksatif memiliki toleransi fiksasi yang baik selama faktor suhunya terjaga konstan (Wati et al., 2025). Namun, pada jaringan histologi padat seperti organ usus mencit dalam penelitian ini, manipulasi suhu fisik terbukti memberikan implikasi yang jauh lebih radikal. Kompleksitas struktural jaringan berlapis memerlukan stabilitas suhu fiksasi dingin 4°C yang ketat agar penetrasi formaldehid merata hingga ke lapisan terdalam tanpa memicu kerusakan mukosa. Kegagalan dalam mengontrol faktor fisik suhu ini tidak hanya menurunkan kontras warna, tetapi juga memicu terbentuknya artefak visual yang mengganggu pembacaan lapang pandang mikroskopis akibat tekstur jaringan yang menjadi rapuh (Mayangsari et al., 2019). Keberhasilan eliminasi artefak inilah yang membedakan sediaan Kelompok A yang jernih dengan Kelompok C yang kotor dan lisis.

Secara analitis, variasi kualitas sediaan histologi usus antar kelompok suhu fiksasi ini divalidasi secara kuat melalui pengujian statistik parametrik menggunakan uji *One-Way ANOVA*. Berdasarkan analisis data terhadap total 42 sampel preparat, diperoleh nilai F-hitung sebesar 485,78, di mana nilai ini jauh melampaui batas kritis F-tabel pada taraf signifikansi  $\alpha = 0,05$  yakni sebesar 3,24. Pengujian statistik ini menghasilkan nilai *p-value* yang sangat kecil dan signifikan, yaitu sebesar  $2,73 \times 10^{-28}$  ( $p < 0,05$ ). Fakta statistik tersebut memberikan keputusan mutlak untuk menolak Hipotesis Nol ( $H_0$ ) dan menerima Hipotesis Alternatif ( $H_1$ ), yang secara sah membuktikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara nyata pada kualitas pewarnaan *Diff-Quick* sediaan histologi jaringan usus mencit berdasarkan variasi suhu fiksasi yang diterapkan. Nilai signifikansi yang sangat ekstrem ini membuktikan secara empiris bahwa faktor suhu fisik pada tahapan awal fiksasi memegang kendali yang sangat krusial dalam keberhasilan pemrosesan sampel sitohistoteknik. Hasil penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah berupa rekomendasi bagi laboratorium patologi anatomi bahwa fiksasi pada suhu 4°C berpotensi meningkatkan kualitas sediaan histologi cepat dengan teknik pewarnaan *Diff-Quick* melalui pemeliharaan detail morfologi dan pengurangan artefak. Meskipun

demikian, fiksasi pada suhu 25°C tetap merupakan standar yang memberikan hasil diagnostik yang akurat dan dapat digunakan secara rutin di laboratorium.

## SIMPULAN DAN SARAN

### I. Simpulan

Fiksasi terhadap jaringan usus dengan variasi suhu 4°C, 25°C, dan 45°C menggunakan larutan NBF 10% memberikan pengaruh signifikan terhadap kualitas serapan pewarnaan *Diff-Quick* terhadap preparat jaringan histologi usus mencit. Fiksasi dingin suhu 4°C menghasilkan kualitas pewarnaan yang terbaik yang di tandai dengan sempurna serapan warna pada nukleus dan sitoplasma, serta morfologi jaringan terpelihara dengan baik dengan skor rata-rata 15,5. Pada suhu ruang 25°C menunjukkan kualitas pewarnaan yang baik dengan skor rata-rata 12,36. Suhu panas 45°C menghasilkan kualitas pewarnaan yang buruk karena sel lisis dan pewarnaan tidak dapat masuk dengan sempurna dengan skor rata-rata 6,2. Berdasarkan analisis statistik (ANOVA) menunjukkan perbedaan kualitas pewarnaan pada jaringan usus mencit yang signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa jaringan usus yang di fiksasi suhu 4°C menghasilkan intensitas warna yang merata dalam mewarnai nukleus dan sitoplasma, maka dapat menjadi kondisi ideal untuk mendukung interpretasi pemeriksaan histologi yang akurat dan mengurangi kesalahan dalam diagnosis.

### II. Saran

Penelitian ini menegaskan bahwa suhu fiksasi 4°C merupakan suhu yang optimal dan menghasilkan kualitas pewarnaan *Diff-Quick* yang sangat baik. Hal ini ditandai dengan kontras tajam antara nukleus dan sitoplasma, serta morfologi jaringan yang terawat dengan baik. Namun, suhu fiksasi 25°C tetap menjadi standar dalam pemeriksaan histologis karena pada suhu tersebut, morfologi dan kualitas pewarnaan masih sangat baik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan tidak hanya untuk memperkuat landasan ilmiah penggunaan fiksasi dingin, tetapi juga untuk menegaskan relevansi suhu kamar sebagai standar yang konsisten dan representatif dalam praktik laboratorium.

## DAFTAR PUSTAKA

- Burhannudin, & Herbyananda, A. D. (2024). Use of a hotplate at 80°C for 3 minutes to help fixation of histological preparations. *Biomedika*, 16(2), 59–64. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v16i2.3271>
- Digambiro, R. A., & Parwanto, E. (2023). *Panduan prosesing dan pewarnaan jaringan dalam histopatologi* (p. 33). Klaten: Penerbit Lakeisha.
- Gurina, T. S., & Simms, L. (2023). *Histology, Cell Biology, and Pathology*. In StatPearls. StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557663/>

- Hermawan, R. A., Sabban, I. F., Imasari, T., Wahyuni, I. N., & Rokim, M. A. (2025). Gambaran hasil pewarnaan Diff-Quick pada sediaan efusi pleura di RSUD Mardi Waluyo Kota Blitar. *JOMS*, 4(2).
- Maglio, M., Marano, A., Mandile, R., Angelino, P., D'Ambrosio, A., Mirra, A., Auricchio, R., Greco, L., Troncone, R., & Discepolo, V. (2025). Immunohistochemistry to highlight intraepithelial lymphocytes in formalin-fixed and frozen duodenal biopsies: Comparability of results and cut-off revision. *Digestive Diseases and Sciences*, 70(10), 3425–3431. <https://doi.org/10.1007/s10620-025-09168-8>
- Mayangsari, M. A., Nuroini, F., & Ariyadi, T. (2019). Perbedaan kualitas preparat ginjal marmut pada proses deparafinasi menggunakan xylol dan minyak zaitun pada pewarnaan HE. *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*, 2, 250–255.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses fiksasi pada pemeriksaan histopatologi. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 443–453. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i3.895>
- Pilchová, V., Richter, A., Meurer, M., Schulz, C., & von Köckritz-Blickwede, M. (2025). The effect of chemical fixation with paraformaldehyde, glutardialdehyde or methanol on immunofluorescence staining of neutrophils and neutrophil extracellular traps. *Innate Immunity*, 31, 1–14. <https://doi.org/10.1177/17534259241307563>
- Sabban, I. F., Hermawan, R. A., Wahyuni, I. N., Ilmiafee, N., & Ningtyas, A. F. (2023). Comparative of fixation time in control of breast FNAB with Diff-Quick staining. *Jurnal Sainika Medika*, 19(2), 1–10. Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Malang.
- Sabban, I. F., Pramudita, R., Hermawan, R. A., Setiawan, J. S., Wahyuni, I. N., & Parubak, R. A. (2026). Diff-quick staining effectiveness in 24-hour stored diabetes mellitus urine. *Bhakta Journal of Medicine*, 1(1), 19–22. <https://bjm.iik.ac.id/bjm>
- Sari, N. I. P., Oktavia, S., Ceriana, R., Prasetya, Y. A., Hamidatul'Aliyah, S., Septiana, W. L., Noviantari, A., Sugianto, M., Lienggonegoro, L. A., & 152 Nikmah, U. A. (2024). HISTOLOGI
- Universitas Pelita Harapan. (2026). *Modul praktikum sitohistoteknik*. Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan.
- Wartinia, F., Nailufar, Y., & Rahmawati, Y. (2025). Systematic literature review: Perbandingan variasi waktu fiksasi jaringan histologi pada pewarnaan hematoxylin eosin (HE). *Jurnal Medika Indonesia*, 6(1), 7–16. Universitas Muhammadiyah Kudus.
- Wati, U. D. K., Ismarwati, & Anggraeni, R. (2025). Pengaruh variasi waktu fiksasi terhadap gambaran morfologi Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT) dengan pewarnaan Giemsa. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 6(3), 11733–11740.
- Wulansari, N., Dewi, H., Halim, R., Ekaputri, T. W., & Utami, E. A. (2024). Analisis kualitas sediaan histologi menggunakan beeswax super grade sebagai alternatif pengganti paraffin wax dalam proses embedding. *JOMS*, 4(2).

Yesha, V., Burhannudin. and Lestari, P., 2025. Efektivitas fiksasi pada suhu 4°C dalam meningkatkan kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA pada sediaan FFPE. *Prosiding Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*, 4(1), pp.655–672. Available at: <https://prosiding.aiptlmi-iasmlt.id/index.php/prosiding/issue/current>