

**LITERATURE REVIEW: PERBANDINGAN KUALITAS SEDIAAN
JARINGAN MENGGUNAKAN LARUTAN FIKSATIF NBF 10% DAN
MADU DENGAN PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN**

NASKAH PUBLIKASI

**Disusun oleh:
RIRIN KHAIRIN NISWATIN
1711304086**

Telah Memenuhi Persyaratan dan Disetujui Untuk Dipublikasikan

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas Ilmu Kesehatan
di Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

Oleh:
Pembimbing : YUYUN NAILUFAR, S.Si., M.Biomed
05 November 2021 12:11:29



LITERATURE REVIEW: PERBANDINGAN KUALITAS SEDIAAN JARINGAN MENGGUNAKAN LARUTAN FIKSATIF NBF 10% DAN MADU DENGAN PEWARNAAN HEMATOKSILIN–EOSIN¹

Ririn Khairin Niswatin², Yuyun Nailufar³

ABSTRAK

Latar Belakang: Fiksasi adalah langkah dasar yang sangat penting untuk mencegah autolisis dan degradasi jaringan serta komponen jaringan. Larutan fiksasi yang biasa digunakan yaitu *Neutral Buffer Formalin 10%*. Formaldehid bersifat karsinogen potensial yang dapat menyebabkan penumpukan cairan di paru-paru, sesak napas yang parah, bronkitis dan detak jantung yang cepat dalam jangka panjang. Guna mengurangi paparan *Neutral Buffer Formalin 10%* bagi kesehatan ATLM atau tenaga medis maka peneliti mempertimbangkan bahan alami madu sebagai alternatif dan pengganti *Neutral Buffer Formalin 10%* dengan melihat pengaruh suhu dan volume fiksasi yang digunakan pada pemeriksaan histologi sesuai dengan jurnal yang ditelaah. **Tujuan Penelitian:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas sediaan jaringan yang difiksasi menggunakan NBF 10% dan madu. **Metode Penelitian:** Jenis penelitian ini yaitu *literature review* dengan strategi pengumpulan data menggunakan metode PICO. Pencarian jurnal dengan kata kunci menggunakan berbagai database seperti *Google Scholar*, *DOAJ* dan *Pubmed*. **Hasil Penelitian:** Berdasarkan *literature review*, suhu optimum fiksasi yang digunakan yaitu suhu ruang (20-25°C) dan volume fiksasi ideal minimum pada perbandingan 1 : 10. Laboratorium histopatologi sebaiknya mengganti NBF dengan madu lebah meskipun harga madu lebah lebih mahal daripada harga NBF. Kualitas pewarnaan jaringan dilihat dari berbagai kriteria menunjukkan madu yang diolah dan madu yang belum diolah memberikan hasil keseluruhan terbaik. **Simpulan:** Madu salah satu alternatif yang baik untuk digunakan dalam proses fiksasi dan efektif sebagai pengganti *Neutral Buffer Formalin 10%*. **Saran:** Dilakukannya fiksasi pada suhu 4°C dan 37°C serta menggunakan volume fiksasi dengan rasio ideal.

Kata Kunci : Fiksasi, *Neutral Buffer Formalin*, kualitas pewarnaan

Keterangan :

¹ Judul Skripsi

² Mahasiswa Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta

³ Dosen Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta

COMPARISON OF THE QUALITY OF TISSUE PREPARATIONS USING 10% NBF FIXATIVE SOLUTION AND HONEY WITH HEMATOXYLIN-EOSIN STAINING: A LITERATURE REVIEW¹

Ririn Khairin Niswatin², Yuyun Nailufar³

ABSTRACT

Background: Fixation is a very important basic step to prevent autolysis and degradation of tissues and tissue components. Fixation solution commonly used is Neutral Buffer Formalin 10%. Formaldehyde is a potential carcinogen that can cause fluid buildup in the lungs, severe shortness of breath, bronchitis and a fast heart rate in the long term. In order to reduce exposure to 10% Neutral Buffer Formalin for the health of ATLM or medical personnel, the researchers considered natural honey as an alternative and substitute for 10% Neutral Buffer Formalin by looking at the effect of temperature and volume of fixation used on histological examination in accordance with the studied journal. **Objective:** This study aims to determine the quality of tissue preparations that were fixed using 10% NBF and honey. **Method:** This research is a literature review with a data collection strategy using the PICO method. Journals search was conducted through keywords through various databases such as Google Scholar, DOAJ and Pubmed. **Results:** Based on the literature review, the optimum fixation temperature was room temperature (20-25°C) and the minimum ideal fixation volume was at a ratio of 1: 10. Histopathology laboratory should replace NBF with bee honey even though the price of bee honey is more expensive than the price of NBF. The quality of tissue staining viewed from various criteria showed that processed honey and unprocessed honey gave the best overall results. **Conclusion:** Honey is a good alternative to be used in the fixation process and is effective as a substitute for 10% Neutral Buffer Formalin. **Suggestion:** This study suggest to conduct fixation at 4°C and 37°C and use fixation volume with ideal rasio

Keywords : Fixation, Neutral Buffer Formalin, Staining Quality

¹ Title

² Student of Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

³ Lecturer of Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

PENDAHULUAN

Fiksasi adalah langkah dasar yang sangat penting untuk mencegah atau menahan autolisis dan degradasi jaringan serta komponen jaringan sehingga sediaan dapat diamati dengan baik secara mikroskopis. Terdapat dua jenis fiksasi untuk sampel biologi yaitu fiksasi fisik dan fiksasi kimia (Musyarifah, *et al.*, 2018).

Larutan fiksasi yang biasa digunakan dalam mengawetkan jaringan adalah *Neutral Buffer Formalin* 10% (NBF). Komposisi dari NBF 10% yaitu aquades, *formaldehyde* 37%, natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) dan dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4). Formaldehid merupakan karsinogen potensial, jika Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) atau tenaga medis terpapar formalin tingkat tinggi (jangka panjang) dapat menyebabkan penumpukan cairan di paru-paru, sesak napas yang parah, bronkitis dan detak jantung yang cepat, sedangkan paparan formalin tingkat rendah (jangka pendek) dapat mengiritasi dan membakar mata, hidung, tenggorokan dan kulit (Khristian & Dewi, 2017; Ozkan *et al.*, 2012).

Madu telah diteliti dapat menggantikan NBF dalam proses fiksasi jaringan. Madu dikenal

sebagai agen antibakteri yang berpotensi mengawetkan tanpa efek berbahaya bagi penggunaannya dan madu terbukti mempertahankan morfologi jaringan mirip dengan yang dihasilkan oleh formalin (Sabarinath *et al.*, 2014).

HE merupakan metode pewarnaan yang sering digunakan dalam pewarnaan jaringan. Hematoksilin berfungsi untuk mewarnai inti sel dan memberikan warna biru (basofilik). Eosin adalah pewarna asam dengan afinitas untuk komponen sitoplasma sel. Eosin sebagai *counterstaining* hematoksilin yang berfungsi untuk mewarnai sitoplasma sel dan memberikan warna merah muda (Pratiwi, 2015; Anil & Rajendran, 2008).

Penelitian yang membahas tentang perbandingan kualitas sediaan jaringan menggunakan NBF 10% dan madu dengan pewarnaan HE dengan melihat pengaruh suhu, volume fiksasi, segi harga, dan kualitas pewarnaan belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana kualitas sediaan jaringan jika dilakukan fiksasi menggunakan NBF 10% dan madu dengan pewarnaan HE dengan melihat pengaruh suhu, volume fiksasi, segi harga, dan kualitas pewarnaan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat *literature review* dengan metode deskriptif kualitatif. Pencarian jurnal maupun artikel menggunakan berbagai *database* seperti *Google Scholar*, DOAJ, dan *Pubmed* yang terbit pada 10 tahun terakhir (2011-2021), jurnal dengan metode eksperimen atau

literature review, dapat diunduh secara *full text*, serta jurnal nasional atau jurnal internasional. Strategi pengumpulan data menggunakan metode PICO dengan kata kunci *Tissue, Formalin, Honey, Stain or staining*. Jurnal yang didapatkan sebanyak 816.979, setelah dilakukan seleksi disesuaikan dengan kriteria

inklusi dan eksklusi maka didapatkan 10 jurnal yang memiliki tema yang sama dengan penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kualitas Sediaan Jaringan dengan Melihat Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Fiksasi

a. Pengaruh Suhu dalam Proses Fiksasi

Berdasarkan kajian literatur yang telah dilakukan terdapat beberapa jurnal yang menggunakan parameter suhu dalam proses fiksasi sebagai berikut :

Tabel 4.1 Suhu dalam Proses Fiksasi

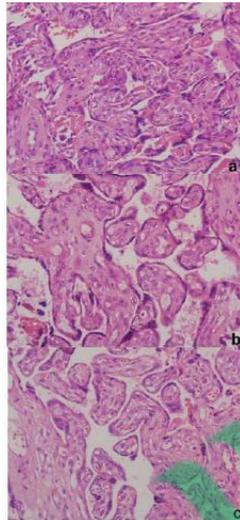
Jurnal Penelitian	Larutan Alternatif	Suhu	Pembanding	Hasil
Ozkan, <i>et al.</i> (2012)	Madu	Suhu ruang (20-25°C)	NBF 10%	Tidak ada perbedaan yang signifikan antara fiksatif madu dan fiksatif NBF 10%
Srii, <i>et al.</i> (2016)	Madu	Suhu ruang (20-25°C)	NBF 10%	Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua larutan fiksatif (nilai p 0,098)
Srii, <i>et al.</i> (2017)	Madu	25-27°C	NBF 10%	Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua larutan fiksatif (nilai p 1,000)
Lalwani, <i>et al.</i> (2015)	Madu yang diolah dan madu yang tidak diolah	Suhu ruang (20-25°C)	NBF 10%	Tidak ada perbedaan yang signifikan antara ketiga larutan fiksatif (nilai p 0,49)
Imran, <i>et al.</i> (2015)	Madu	Suhu ruang (20-25°C)	NBF 10%	Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua larutan fiksatif
Muddana, <i>et al.</i> (2017)	Madu	Suhu ruang (20-25°C)	NBF 10%	Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua larutan fiksatif

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ozkan, *et al.* (2012), morfologi inti tidak ada perbedaan yang signifikan

antara fiksasi formalin beralkohol dan madu, tetapi ada perbedaan yang signifikan antara NBF dan madu pada jaringan yang diwarnai dengan HE.

Sebaliknya, tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok yang berkaitan dengan detail sitoplasma.

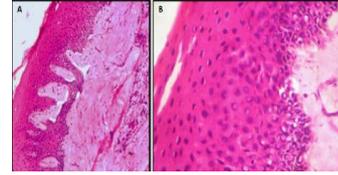
Berikut ini gambaran sediaan jaringan yang telah dilakukan fiksasi menggunakan NBF 10%, madu dan formalin beralkohol :



Gambar 4.1 Jaringan Plasenta Manusia yang Diwarnai HE, (a) NBF 10% (b) Madu (c) Formalin Beralkohol (Perbesaran 20x) (Ozkan, *et al.*, 2012)

Penelitian yang dilakukan oleh Srii, *et al.* (2016) dan Srii, *et al.* (2017), jaringan yang difiksasi oleh madu lebah dengan konsentrasi rendah pada suhu ruang (20-25°C) dapat mempertahankan struktur inti dan sel. Selain itu, memberikan hasil yang sebanding dengan jaringan yang difiksasi oleh NBF. Jaringan yang difiksasi madu menunjukkan tampilan serat kolagen yang lebih terhialinisasi pada pewarnaan HE.

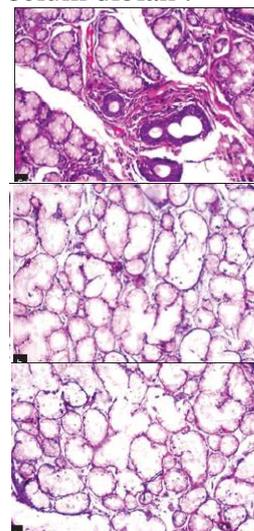
Berikut ini gambaran sediaan jaringan yang telah dilakukan fiksasi menggunakan madu :



Gambar 4.2 Jaringan yang Difiksasi Madu dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 10x (A) dan 40x (B) (Srii, *et al.*, 2016)

Berdasarkan penelitian Lalwani, *et al.* (2015) pada evaluasi morfologi jaringan, 75% madu yang belum diolah dan diolah menunjukkan pola pewarnaan yang memadai jika dibandingkan dengan NBF yang memenuhi syarat 92%. Nilai p yang di dapat sebesar 0,49 yang berarti lebih besar dari 0,05, dapat disimpulkan tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik. Madu yang belum diolah dan sudah diolah setara dengan fiksatif NBF.

Berikut ini gambaran sediaan jaringan yang telah dilakukan fiksasi menggunakan NBF, madu olahan dan madu yang belum diolah :



Gambar 4.3 Fotomikrograf Menunjukkan Kecukupan Morfologi Jaringan dan Kejelasan

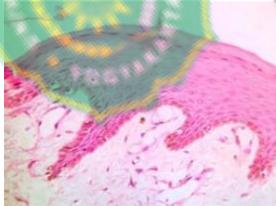
Jaringan Kelenjar Ludah, (a) NBF (HE, Perbesaran 100x), (b) Madu Olahan (HE, Perbesaran 200x), (c) Madu yang Belum Diolah (HE, Perbesaran 200x) (Lalwani, *et al.*, 2015)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Imran, *et al.* (2015), jaringan yang difiksasi dengan madu menunjukkan kualitas inti dan pewarnaan yang baik secara keseluruhan morfologi, sitoplasma dan garis sel.

Berikut ini gambaran sediaan jaringan yang telah dilakukan fiksasi menggunakan madu :



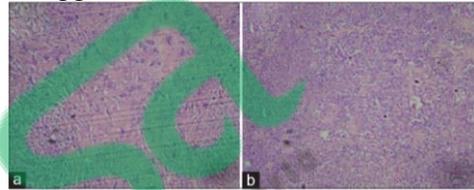
Gambar 4.4 Jaringan yang Difiksasi Madu (HE, Perbesaran 40x) (Imran, *et al.*, 2015)



Gambar 4.5 Jaringan yang Difiksasi NBF (HE, Perbesaran 40x) (Imran, *et al.*, 2015)

Penelitian yang dilakukan oleh Muddana, *et al.* (2017), menunjukkan penyusutan jaringan yang difiksasi dengan NBF dan madu mirip secara makroskopis. Tidak ada perbedaan dari segi struktur sel antara madu dan NBF.

Berikut ini gambaran sediaan jaringan yang telah dilakukan fiksasi menggunakan NBF dan madu :



Gambar 4.6 Jaringan yang Diwarnai HE (a) NBF (b) Madu (Muddana, *et al.*, 2017)

Menurut studi literatur yang dilakukan oleh Thamilselvan, *et al.* (2021), morfologi struktural jaringan lebih baik dipertahankan dengan fiksasi madu pada suhu ruang (20-25°C). Tidak melihat adanya penyusutan atau pembengkakan jaringan selama periode 6 bulan jika dibandingkan dengan NBF.

b. Pengaruh Volume Fiksasi dalam Proses Fiksasi

Berdasarkan kajian literatur yang telah dilakukan terdapat beberapa jurnal yang menggunakan parameter volume fiksasi dalam proses fiksasi sebagai berikut :

Tabel 4.2 Volume Fiksasi dalam Proses Fiksasi

Jurnal Penelitian	Larutan Alternatif	Volume Fiksasi	Pembanding	Hasil
Srii, <i>et al.</i> (2016)	Madu	1 : 9	NBF 10%	Cukup baik dengan struktur inti dan sel yang dipertahankan

Srii, <i>et al.</i> (2017)	Madu	1 : 10	NBF 10%	Cukup baik dengan struktur inti dan sel yang dipertahankan
Lalwani, <i>et al.</i> (2015)	Madu yang diolah dan madu yang tidak diolah	1 : 10	NBF 10%	Kualitas morfologi antara madu yang belum diolah dan sudah diolah sebanding dengan formalin
Muddana, <i>et al.</i> (2017)	Madu	1 : 10	NBF 10%	Penyusutan jaringan serupa secara makroskopis antara madu dan formalin

Penelitian yang dilakukan oleh Srii, *et al.* (2016) menggunakan madu lebah Coorg murni yang memiliki spesifikasi seperti Agmark yang tersedia secara komersial. Larutan disiapkan sebelum melakukan biopsi dengan menggunakan madu dan air suling dengan perbandingan 1 : 9. Madu lebah Coorg sebanyak 10 ml dan air suling sebanyak 90 ml. Pembuatan larutan yaitu dengan cara 10 ml madu pekat dicampur dengan 90 ml air panas. Larutan tersebut ditunggu hingga dingin dan pH dipertahankan pada 4,5 – 5,0.

Penelitian yang dilakukan oleh Srii, *et al.* (2017) menggunakan madu yang diperoleh dari tempat pemeliharaan lebah. Terdapat 4 spesies lebah madu yaitu *Apis dorsata*, *A. ceranaindica*, *A. florea* dan *Apis mellifera*. Larutan disiapkan sebelum melakukan biopsi. Larutan

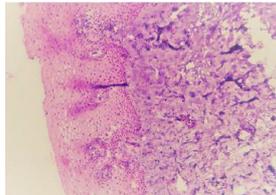
dibuat dengan menggunakan madu dan air dengan perbandingan 1 : 10. Pembuatan larutan yaitu dengan cara madu pekat sebanyak 10 ml dicampur dengan 100 ml air panas. Larutan tersebut ditunggu hingga dingin dan pH dipertahankan pada 4,5 – 5,0.

Penelitian yang dilakukan oleh Srii, *et al.* (2016) dan Srii, *et al.* (2017) menggunakan perbandingan 1 : 9 dan 1 : 10. Ketika madu diencerkan perlahan, akan menghasilkan hidrogen peroksida karena aktivasi enzim, oksidase glukosa yang mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Kehadiran asam amino dan asam organik lainnya dapat memberikan pH madu sekitar 4,0 – 5,5.

Berdasarkan penelitian Srii, *et al.* (2016) dan Srii, *et al.* (2017), jaringan yang difiksasi dengan madu lebah memberikan hasil yang cukup baik dengan struktur inti dan sel yang dipertahankan. Skor yang diberikan untuk berbagai parameter menunjukkan distribusi normal. Hasil yang diperoleh yaitu tidak ada perbedaan yang signifikan antara

jaringan yang difiksasi madu dibandingkan dengan jaringan yang difiksasi NBF.

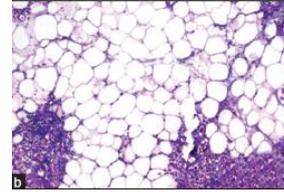
Berikut ini gambaran sediaan jaringan yang telah dilakukan fiksasi menggunakan madu dan NBF :



Gambar 4.7 Fotomikrograf Jaringan yang Difiksasi Madu Menunjukkan Morfologi Sel yang Baik dengan Detail Inti dan Sitoplasma yang Tepat (HE, Perbesaran 10x) (Srii, *et al.*, 2017)

Penelitian yang dilakukan oleh Lalwani, *et al.* (2015) dan Muddana, *et al.* (2017) menjelaskan bahwa penyusutan jaringan yang difiksasi dengan madu dan NBF serupa secara makroskopis. Kualitas fiksasi dengan madu yang belum diolah dan sudah diolah sebanding dengan NBF. Namun, lebih baik pada madu yang sudah diolah dibandingkan dengan madu yang belum diolah. Madu yang sudah diolah tidak menghasilkan artefak di jaringan epitel, sedangkan pada madu yang belum diolah lebih banyak artefak fiksasi yang dapat disebabkan oleh penyusutan jaringan selama fiksasi. Baik madu yang belum diolah maupun yang sudah diolah memiliki semua sifat fiksatif yang seharusnya dimiliki oleh fiksatif ideal dan

dapat digunakan sebagai fiksatif alternatif untuk NBF.



Gambar 4.8 Fotomikrograf Jaringan yang Difiksasi dengan Madu Olahan Menunjukkan Kecukupan Morfologi Jaringan dan Kejelasan dalam Jaringan Adiposa (HE, Perbesaran 100x) (Lalwani, *et al.*, 2015)



Gambar 4.9 Fotomikrograf Menunjukkan Penyusutan Artefak di Jaringan Epitel pada Madu yang Belum Diolah (HE, Perbesaran 100x) (Lalwani, *et al.*, 2015)

Berdasarkan penjelasan dari beberapa jurnal, volume fiksasi dapat mempengaruhi kualitas jaringan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Thavarajah, *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa volume fiksasi ideal minimum pada perbandingan 1 : 10. Ketika volume fiksasi yang digunakan rendah, molekul formaldehida yang digunakan hanya sedikit dan mengonversi metilen glikol menjadi formaldehida. Menurut studi literatur yang dilakukan oleh Ramamoorthy, *et al.* (2016), detail inti pada sampel yang difiksasi madu dan formalin menunjukkan hasil yang serupa tanpa ada perbedaan pewarnaan dan morfologi mikroskopis.

2. Efektivitas Madu sebagai Pengganti NBF

a. Segi Harga

NBF masih tetap menjadi fiksatif *gold standard* yang digunakan di laboratorium histopatologi. NBF mudah didapatkan, mudah digunakan, mudah diterapkan di berbagai jaringan, ekonomis dan persiapannya membutuhkan lebih sedikit waktu. Harga NBF di pasaran sekitar 19.250/100 ml (Zanini, *et al.*, 2012).

Menurut Alimentarius (2001), madu adalah zat manis alami yang dihasilkan oleh lebah madu dari nektar tumbuhan, atau ekskresi serangga penghisap tumbuhan pada bagian tumbuhan hidup yang dikumpulkan lebah. Terdapat berbagai khasiat madu termasuk efek antioksidan,

antimikroba dan antiautolitik. Madu memiliki kualitas menembus jaringan terdalam dan dapat mencegah autolisis dan pembusukan. Harga madu di pasaran sekitar 60.000/100ml.

Berdasarkan penjelasan di atas, harga NBF lebih murah dibandingkan dengan harga madu lebah. Tetapi jika tetap menggunakan NBF dalam proses fiksasi maka akan berdampak buruk bagi tenaga kesehatan. Meminimalkan hal tersebut, sebaiknya laboratorium histopatologi mengganti NBF dengan madu lebah dalam proses fiksasi ataupun proses lainnya. Meskipun harga madu lebah lebih mahal daripada harga NBF, madu lebah lebih aman bagi tenaga kesehatan.

b. Kualitas Pewarnaan

Menurut Jusuf (2009) pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang sudah dipotong, sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat diamati di bawah mikroskop. Pewarna yang sering digunakan adalah pewarnaan yang dapat mewarnai inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pewarnaan HE.

Penelitian yang dilakukan oleh Sabarinath, *et al.* (2014) melibatkan dua kelompok yaitu kelompok formalin (F) yang terdiri dari 13 sampel jaringan dan kelompok madu (H) yang terdiri dari 17 sampel jaringan. Setiap kelompok difiksasi

selama 24 jam. Kemudian dilihat kualitas pewarnaan dengan melihat berbagai kriteria, seperti pewarnaan inti, pewarnaan sitoplasma, detail inti dan detail sitoplasma. Setiap parameter dinilai menggunakan skor 1 hingga 4. Skor 1 yaitu buruk, skor 2 yaitu memuaskan, skor 3 yaitu baik dan skor 4 yaitu sangat baik.

Penelitian yang dilakukan oleh Kuriachan, *et al.* (2017) menjelaskan tentang potongan jaringan gingiva manusia difiksasi dengan madu yang memiliki konsentrasi 20%. Setelah difiksasi selama 24 jam dilanjutkan proses berikutnya dan dilakukan pewarnaan, kriteria yang dianalisis dibawah mikroskop cahaya antara lain garis sel, pewarnaan inti dan sitoplasma serta keseragaman

pewarnaan. Setiap kriteria dinilai menggunakan skor 1 sampai 4. Skor 1 yaitu buruk, skor 2 yaitu memuaskan, skor 3

yaitu baik dan skor 4 yaitu sangat baik.

Tabel 4.3 Skor Total Setiap Kriteria Histomorfologi

	Garis sel	Pewarnaan inti	Pewarnaan sitoplasma	Kualitas pewarnaan keseluruhan	Rata-rata skor total
Madu	51	54	51	53	52.25
Formalin	36	39	36	36	36.75

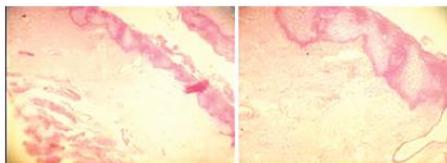
Berdasarkan hasil analisis, madu memberikan hasil keseluruhan terbaik. Memberikan pewarnaan dan garis tepi sel yang sangat baik sehingga madu mendapatkan skor lebih tinggi dari NBF. Penelitian ini menunjukkan kualitas fiksatif madu yang unggul bila dibandingkan dengan NBF.

(Kuriachan, *et al.*, 2017)

Penelitian yang dilakukan oleh Lalwani, *et al.* (2015) menjelaskan tentang kelompok studi yang terdiri dari dua belas jaringan di fiksasi dengan madu yang belum diolah (Grup A), madu yang sudah diolah (Grup B) dan 10% NBF (Grup C) selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah di fiksasi dilanjutkan proses berikutnya dan dilakukan pewarnaan HE. Bagian yang diwarnai HE dinilai berdasarkan kriteria histomorfologi antara lain pewarnaan inti, pewarnaan sitoplasma, morfologi jaringan, kejelasan pewarnaan dan keseragaman pewarnaan.



Gambar 4.10 Jaringan yang Difiksasi Madu Menunjukkan Hasil yang Sangat Baik (Perbesaran 10x dan 40x) (Kuriachan, *et al.*, 2017)



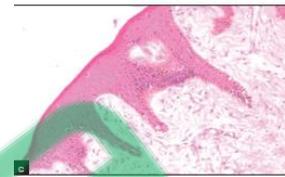
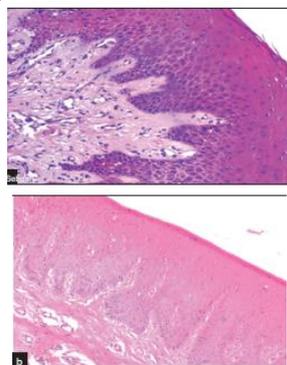
Gambar 4.11 Jaringan yang Difiksasi Formalin (Perbesaran 4x dan 10x)

Tabel 4.4 Pola Pewarnaan Jaringan di Fiksasi dengan Madu yang Belum Diolah (Grup A), Madu yang Sudah Diolah (Grup B) dan NBF 10% (Grup C)

Parameter pewarnaan	Grup A	Grup B	Grup C
Pewarnaan inti Memadai	12 (100)	12 (100)	12 (100)

	Tidak memadai	0	0	0
Pewarnaan sitoplasma	Memadai	11 (92)	11 (92)	12 (100)
	Tidak memadai	1 (8)	1 (8)	0
Morfologi jaringan	Memadai	9 (75)	9 (75)	11 (92)
	Tidak memadai	3 (35)	3 (25)	1 (8)
Kejelasan pewarnaan	Memadai	7 (58)	8 (67)	10 (83)
	Tidak memadai	5 (42)	4 (33)	2 (17)
Keseragaman pewarnaan	Memadai	6 (50)	8 (67)	10 (83)
	Tidak memadai	6 (50)	4 (33)	2 (17)

Berdasarkan penilaian, pewarnaan inti menunjukkan 100% efisiensi pengikatan dan pewarnaan pada madu yang diolah, madu yang belum diolah dan NBF. Ketika pewarnaan sitoplasma, 92% madu yang belum diolah dan diolah menunjukkan pola pewarnaan yang memadai jika dibandingkan dengan NBF. Evaluasi morfologi jaringan, 75% madu yang belum diolah dan diolah menunjukkan pola pewarnaan yang memadai jika dibandingkan dengan NBF yang menunjukkan kecukupan 92%. Analisis kejelasan dan keseragaman pola pewarnaan tidak ada perbedaan yang signifikan sehingga madu yang belum diolah dan diolah setara dengan NBF.



Gambar 4.12 Fotomikrograf Menunjukkan Kecukupan Pewarnaan Inti dan Sitoplasma dalam Jaringan Epitel (a) NBF (b) Madu yang Diolah (c) Madu yang Belum Diolah (HE, Perbesaran 100x) (Lalwani, *et al.*, 2015)

Berdasarkan penjelasan di atas, kualitas pewarnaan jaringan dilihat dari berbagai kriteria, seperti pewarnaan inti, pewarnaan sitoplasma, detail inti, detail sitoplasma, garis sel, morfologi jaringan, keseragaman pewarnaan dan kejelasan pewarnaan. Setiap kriteria tersebut dinilai menggunakan skor 1 – 4. Hasil analisis menunjukkan bahwa madu yang diolah dan madu yang belum diolah memberikan hasil keseluruhan terbaik, sehingga madu mendapatkan skor lebih tinggi dari NBF. Maka dari itu, madu dapat dikatakan efektif sebagai pengganti NBF dalam proses fiksasi.

SIMPULAN

Berdasarkan *literature review* yang dilakukan terhadap sediaan jaringan yang difiksasi menggunakan

larutan fiksatif NBF 10% dan madu, proses fiksasi dengan suhu ruang memberikan hasil yang baik dan volume fiksatif yang paling rendah dengan rasio 1 : 10 dapat digunakan untuk proses fiksasi. Gambaran morfologi antara fiksatif madu dan NBF 10% tidak ada perbedaan yang signifikan. Harga NBF lebih murah daripada harga madu lebah, tetapi dapat berdampak buruk bagi tenaga kesehatan. Kualitas pewarnaan jaringan yang difiksasi dengan madu memberikan hasil keseluruhan terbaik. Maka dari itu, madu salah satu alternatif yang baik untuk digunakan dalam proses fiksasi dan efektif sebagai pengganti *Neutral Buffer Formalin* 10%.

SARAN

Berdasarkan *literature review* mengenai perbandingan kualitas sediaan jaringan menggunakan larutan fiksatif NBF 10% dan madu dengan pewarnaan hematoksin-eosin, maka saran yang dapat diberikan kepada peneliti selanjutnya yaitu dilakukannya fiksasi pada suhu 4°C dan 37°C serta menggunakan volume fiksasi dengan rasio ideal.

DAFTAR PUSTAKA

Alimentarius, C. (2001). *Revised Standards for Honey*. Rome: FAO.
Anil, S., & Rajendran R. (2008). *Routine Histotechniques, Staining and Notes on*

Immunohistochemistry. In: Rajendran and Sivapadasundaram (Eds). Elsevier India P Ltd.

Imran, M.D., Snehal R., Syed A.A., Charu S., Shravan K., & Ketaki J. (2015). Eco-friendly Natural Fixatives – A Substitute for Formalin?. *Journal of Dental Science and Research*, 5 (2).

Jusuf, A.A. (2009). *Histoteknik Dasar*. Jakarta: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Khristian, E., & Dewi I. (2017). *Sitohistoteknologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kuriachan, D., Rakesh S., Mahija J., Vindhya S., Thara A., & Litu M.T. (2017). Analysis of Fixative Properties of Three Eco-Friendly Substances: A Comparison with Formalin. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 8 (2).

Lalwani, V., Surekha R., Vanishree M., Anila K., Santosh H., & Shamala R. (2015). Honey as an Alternative Fixative for Oral Tissue: An Evaluation of Processed and Unprocessed Honey. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 19.

Muddana, K., Jaya N.K.M., Shyam P.R.D., Aruna K.M., Pavan G.K., & Deepsagar T. (2017). Honey and Olive Oil as Bio-friendly Substitutes for Formalin and Xylene in Routine Histopathology. *Indian Journal of Dental Research*, 28.

- Musyarifah, Z., & Salmiah A. (2018). Proses fiksasi pada pemeriksaan histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7 (3).
- Ozkan, N., Salva E., Cakalagaoglu F., & Tuzuner B. (2012). Honey As A Substitute For Formalin?. *Journal Biotechnic & Histochemistry*, 87 (2).
- Pratiwi, H.C. (2015). Teknik Dasar Histologi Pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelauan*, 7 (2).
- Ramamoorthy, A., Shivani R., Nadeem J., Radhika T., & Sunitha J. (2016). Natural Alternatives for Chemicals Used in Histopathology Lab – A Literature Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10 (11).
- Sabarinath, B., Sivapatha S., & Sathyakumar M. (2014). Fixative Properties Of Honey In Comparison With Formalin. *Journal Of Histotechnology*, 37 (1).
- Srii, R., & Vinay M. (2016). Bee Honey as a Locum for Routine Formalin Fixative. *International Journal of Scientific Research*, 5.
- Srii, R., Peter C.D., Haragannavar V.C., Shashidara R., Sridhara S.U., & Srivatsava S. (2017). Bee Honey as a Safer Alternative for Routine Formalin Fixation. *Kathmandu Univeristy Medical Journal*, 15 (4).
- Thamilselvan, S., Don K.R., Herald J.S., Gifrina J., & Archana S. (2021). Honey as a Natural Alternative for Formalin Fixative – A Systematic Review. *Journal of Evolution of Medical & Dental Sciences*, 10.
- Thavarajah, R., Vidya K.M., Joshua E., Umadevi K.R., & Kannan R. (2012). Chemical and Physical Basics of Routine Formaldehyde Fixation. *Journal of Oral & Maxillofacial Pathology*, 16 (3).
- Zanini, C., Gerbaudo E., Ercole E., Vendramin A., & Forni M. (2012). Evaluation of two commercial and three homemade fixatives for the substitution of formalin: a formaldehyde-free laboratory is possible. *Environmental Health*.