

## Gambaran Preparat Histologis Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Dibuat Menggunakan Beberapa Fiksatif dan Proses Pencucian

### Histological Images of Rat Liver (*Rattus norvegicus* L.) Preparations Made Using with Several Fixatives and Washing Process

Muhammad Anwar Djaelani\*, Silvana Tana, Siti Muflichatun Mardiaty

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Jacob Rais Tembalang, Semarang, 50275, Indonesia

\*Email: anwardjaelani1962@gmail.com

Diterima 15 Oktober 2024 / Disetujui 9 Mei 2025

#### ABSTRAK

Fiksatif merupakan faktor utama untuk menghasilkan kualitas sediaan histologi yang baik pada proses pembuatan preparat mikroskopis. Fiksasi merupakan tahap pertama pada proses pembuatan sediaan histologi. Pemilihan jenis fiksatif yang digunakan pada proses pembuatan preparat merupakan hal yang penting karena akan berpengaruh pada hasil sediaan histologi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis preparat histologis hepar yang dibuat dengan menggunakan beberapa jenis fiksatif dan proses pencucian. Hepar tikus putih dengan ulangan sebanyak 10 kali dibuat preparat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Penelitian ini menggunakan fiksatif NBF 10 %, Bouin dan Etanol 50%. Hasil preparat yang difiksasi dengan Etanol 50% hepatosit tidak menunjukkan susunan radier yang teratur, jarak antar sel longgar, banyak sel tidak berinti, sitoplasma terwarnai merah, hepatosit mengecil dengan ukuran  $12 \pm 0,4 \mu\text{m}$ . Hepar yang difiksasi dengan Bouin menunjukkan hepatosit tersusun radier dengan jarak yang rapat, inti sel terwarnai ungu, sitoplasma terwarnai merah, hepatosit berukuran normal  $15 \pm 0,9 \mu\text{m}$ . Hepar yang difiksasi dengan NBF 10% menunjukkan hepatosit tersusun radier, inti sel terwarnai ungu, sitoplasma terwarnai merah, hepatosit berukuran normal  $16 \pm 0,2 \mu\text{m}$  dengan jarak yang rapat. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa proses pencucian setelah fiksasi belum mampu membersihkan kelebihan fiksatif Bouin pada preparat hepar, namun menghasilkan preparat histologi hepar dengan gambaran yang baik dengan fiksatif NBF 10%. Etanol 50% tidak sesuai dipakai sebagai fiksatif pada proses pembuatan preparat mikroskopik hepar

*Kata kunci: bouin, etanol, NBF, hapotosit*

#### ABSTRACT

Fixative is the main factor to produce good quality histological preparations in the process of making microscopic preparations. Fixation is the first stage in the process of making histological preparations. The selection of the type of fixative used in the process of making preparations is important because it will affect the results of histological preparations. This study aims to analyze liver histological preparations made using several types of fixatives and the washing process. The liver of white mice with 10 repetitions was made with paraffin and Hematoxylin-Eosin staining methods. This study used 10% NBF, Bouin and 50% Ethanol fixatives. The results of the preparations fixed with 50% Ethanol hepatocytes did not show a regular radial arrangement, loose intercellular distances, many non-nucleated cells, red-stained cytoplasm, and hepatocytes shrank in size to  $12 \pm 0.4 \mu\text{m}$ . Liver fixed with Bouin showed hepatocytes arranged radially with close spacing, cell nuclei stained purple, cytoplasm stained red, normal-sized hepatocytes  $15 \pm 0.9 \mu\text{m}$ . Liver fixed with 10% NBF showed hepatocytes arranged radially, cell nuclei stained purple, cytoplasm stained red, normal-sized hepatocytes  $16 \pm 0.2 \mu\text{m}$  with close spacing. In this study, it can be concluded that the washing process after fixation has not been able to clean excess Bouin fixative in liver preparations, but produces liver histology preparations with good images with 10% NBF fixative. 50% ethanol is not suitable for use as a fixative in the process of making microscopic liver preparations.

*Keywords: bouin, ethanol, NBF, hepatocyt*

## PENDAHULUAN

Fiksasi merupakan salah satu bagian dari beberapa tahapan dalam pembuatan sediaan histologi. Maksud dari dilakukannya fiksasi adalah untuk membuat struktur unsur-unsur jaringan menjadi stabil, tidak mengalami perubahan pasca kematian (post-mortem) (Rusmiatik, 2019). Fiksasi merupakan tahap pertama pada proses pembuatan sediaan histologi. Pemilihan jenis fiksatif yang digunakan pada proses pembuatan preparat merupakan hal yang penting karena akan berpengaruh pada hasil sediaan histologi. Proses fiksasi meliputi seleksi bahan, konsentrasi yang digunakan, metode, dan lama waktu yang diperlukan. Bidang penelitian ini terus berkembang karena merupakan penentu hasil yang diharapkan (Dewi *et al.*, 2020). Pemilihan larutan fiksatif yang digunakan tergantung kepada jenis pewarnaan yang digunakan (Musyriifah dan Agus, 2018).

Berdasarkan komposisi bahan penyusun fiksatif terdapat dua macam fiksatif yaitu fiksatif dengan komposisi tunggal dan campuran. Fiksatif tunggal adalah fiksatif yang hanya terdiri dari satu senyawa penyusun, sebagai contoh adalah Alkohol. Fiksatif campuran adalah fiksatif yang terdiri dari lebih dari satu senyawa penyusun, sebagai contoh adalah Bouin dan NBF. Berdasarkan pelarutnya terdapat fiksatif dengan bahan pelarut alkohol dan akuades.

Etanol adalah fiksatif koagulan yang mendenaturasi protein. Sebagai larutan fiksatif etanol digunakan pada konsentrasi antara 50%-60%. Kejelekan etanol adalah etanol menyebabkan kerusakan pada inti dan sitoplasma. Pada proses fiksasi etanol mengganti ikatan air pada jaringan (Rolls, 2017). Kelebihan etanol adalah etanol memiliki daya penetrasi cepat dan mudah untuk diperoleh (Fajrina dkk., 2018). Dewi *et al.*, (2020) merekomendasikan penggunaan etanol 50% untuk pembuatan prepreparat rutin. Fiksatif berbasis alkohol dapat menjadi alternatif potensial untuk pengawetan jaringan yang lebih cepat dan optimal guna mempertahankan integritas seluler dan molekuler

Larutan Bouin tersusun dari asam pikrat formaldehid, dan asam asetat glasial (Musyriifah dan Agus, 2018). Fiksatif Bouin, mempunyai

kemampuan untuk penetrasi ke dalam jaringan lebih cepat, tetapi jika waktu fiksasi yang di gunakan terlalu lama, jaringan menjadi rapuh dan sukar untuk diiris (Rusmiatik, 2019). Larutan Bouin mengandung asam pikrat yang sehingga larutan tersebut berwarna kuning (Suvana *et al.*, 2019)

Salah satu fiksatif yang banyak digunakan untuk mikroskop cahaya adalah formalin, suatu larutan buffer isotonik formaldehida 37%. Formalin biasanya diencerkan dengan sembilan bagian air atau buffer. Ini menghasilkan larutan formalin 10% (Musyriifah dan Agus, 2018). Larutan formalin tanpa buffer secara perlahan akan mengalami oksidasi menjadi asam formik sehingga akan menurunkan pH larutan. (Rastogi, *et al.*, 2013).

Formalin (Formaldehid) bereaksi paling efektif pada pH netral, penambahan buffer diperlukan untuk menjaga agar pH mendekati netral (6,8 – 7,2) dan tekanan osmotik hampir sama dengan cairan ekstraseluler atau yang lebih dikenal dengan neutral buffer formalin (NBF) (Rolls, 2017). Formalin dengan buffer netral 10% (NBF, larutan formaldehida 3,7% – 4,0% dalam buffer fosfat) menjadi gold standard dalam studi histopatologi selama beberapa dekade. NBF mudah digunakan, murah, dan menembus jaringan dengan relatif cepat. Fiksasi formalin sangat baik untuk mereproduksi histomorfologi, dan biospesimen relatif stabil (Perry, 2016).

Penelitian Salsabila dkk. (2023) pembuatan preparat ginjal tikus putih yang diproses menggunakan fiksatif dan bufer netral formalin 10% dan etanol 50% menunjukkan berbeda tidak nyata. Rusmiatik dkk. (2019) menyatakan bahwa fiksatif formalin tidak mengkerutkan jaringan preparat testis tikus putih. Beberapa literatur menyatakan pada proses pembuatan preparat histologi setelah tahap fiksasi adalah tahap dehidrasi. Larutan fiksatif yang berlebihan di jaringan bila tidak dibersihkan akan menyebabkan kerusakan organ yang diproses, sehingga proses pembuatan preparat histologis perlu dilakukan pencucian setelah tahap fiksasi sebelum tahap berikutnya. Warna fiksatif kecuali Bouin pada umumnya berwarna jernih sehingga sulit untuk mengetahui apakah fiksatif yang berlebihan pada organ sudah terbuang sehingga perlu dilakukan

pencucian yang berulang. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menganalisis preparat histologis hepar tikus putih yang dibuat dengan menggunakan beberapa fiksatif dan proses pencucian setelah fiksasi.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian kualitatif, data hasil penelitian dianalisis secara diskriptif. Percobaan terdiri atas perlakuan tiga jenis fiksatif. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 10 kali. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut: A (Perlakuan dengan fiksasi Etanol) ; B (Perlakuan dengan fiksasi Bouin); C (Perlakuan dengan fiksasi NBF 10%). Variabel pada penelitian ini meliputi ukuran sel, susunan sel hepar, warna inti sel, warna sitoplasma

### Pembuatan Larutan Fiksatif

Larutan fiksatif NBF 10% dibuat dengan pengadukan dan pemanasan natrium difosfat 4,0 g ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), natrium fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 6,5 g dalam 400 ml aquades, lalu ditambahkan 100 ml formalin dengan konsentrasi 37%-40%. Tambahkan aquades sampai volume 1 l (Mujimin & Sutarmi, 2016). Larutan fiksatif Bouin dibuat dengan mencampurkan Asam pikrat 75 mL, formaldehid 25 ml, asam asetat 5 ml (Rusmiatik, 2019).

### Alur Penelitian

Preparat histologi dengan menggunakan metode parafin dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin sesuai cara pembuatan preparat histologi yang dilakukan oleh Harijati dkk. (2017) dan Mardiaty dkk (2014) dengan modifikasi. Hepar diisolasi dengan cara membedah tikus yang dibius overdosis dengan kloroform. Hepar yang telah diisolasi dicuci dengan garam fisiologi, kemudian hepar direndam dalam fiksatif selama satu jam. Setelah satu jam hepar dikeluarkan dari larutan fiksatif kemudian dilakukan pemotongan menjadi berukuran  $1\text{ cm}^3$ , selanjutnya potongan hepar direndam dalam fiksatif sampai 24 jam.

Potongan hepar yang telah difiksasi sampai 24 jam, selanjutnya dilakukan pencucian selama 4 kali 30 menit dalam larutan larutan yang digunakan

untuk melarutkan fiksatif, selanjutnya proses pembuatan preparat histologis dilakukan dengan menggunakan metode parafin dengan pewarnaan Hematoksin Eosin. Pembuatan preparat histologis dengan metode parafin dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu fiksasi, pencucian, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, penanaman organ ke dalam blok parafin, pemotongan jaringan dan dilakukan pewarnaan dengan pewarna Hematoksin Eosin. Potongan hepar yang telah dikeluarkan dari larutan fiksatif dicuci dengan menggunakan larutan yang digunakan untuk melarutkan fiksatif selama 4 kali 30 menit. Setelah proses pencucian dilakukan proses dehidrasi dengan memasukkan hepar ke dalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat untuk menghilangkan air yang terdapat dalam jaringan. Konsentrasi alkohol yang digunakan yaitu alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96% dan 100%. Tahap selanjutnya adalah penjernihan yang dilakukan dengan cara merendam organ hasil dehidrasi pada larutan toluol. Tahap selanjutnya adalah infiltrasi yang merupakan tahapan penyisipan parafin secara bertingkat ke dalam jaringan. Infiltrasi dilakukan dengan cara memasukan spesimen ke dalam campuran toluol parafin (2:1), campuran toluol-parafin (1:1), dan parafin murni I. spesimen kemudian dimasukan ke dalam parafin murni II dan parafin murni III. Proses ini dilakukan dalam inkubator dengan suhu berkisar  $55^{\circ}\text{C}$ . Embedding (blocking) merupakan proses penanaman spesimen organ ke dalam parafin yang dicetak menjadi blok-blok parafin dalam wadah khusus berupa *tissue cassette* atau blok besi. Spesimen yang sudah ditanam dalam blok parafin selanjutnya dipotong menggunakan mikrotom. Hasil irisan jaringan diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi perekat, kemudian. Preparat yang telah ditempel pada gelas objek diproses lebih lanjut dan terakhir diwarnai dengan Haematoxylin dan Eosin. Pewarnaan preparat dilakukan dengan metode Hematoksin-Eosin (H.E.). Tahapan pewarnaan H.E. terdiri dari mencelupkan jaringan kedalam alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 30%, dan akuades. Jaringan dicelupkan kedalam larutan pewarna Haematoxylin selama lalu dicuci dengan air. Jaringan kemudian dicelupkan ke dalam alkohol 30%, 50%, 60%, dan 70%. Jaringan direndam

dalam larutan pewarna yang kedua yaitu Eosin Y 0,5% (dalam alkohol 70%). Jaringan yang sudah diwarnai, kemudian dicelupkan ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut lalu direndam dalam xilol. Tahap berikutnya yaitu penutupan dengan cara meneteskan jaringan dengan larutan entelan kemudian ditutup dengan kaca penutup.

Preparat diberi label dengan keterangan yang jelas. Preparat yang telah selesai diproses kemudian dianalisis secara diskriptif dengan mengamati gambaran preparat histologi menggunakan Optilab Advance Plus Microscope Camera

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil penelitian yang ditunjukkan pada gambar 1. Preparat mikroskopik yang dibuat dengan metode parafin pewarnaan Hematoksilin-Eosin dengan fiksatif Etanol menunjukkan hepatosit mengecil dengan ukuran  $12 \pm 0,4 \mu\text{m}$ , tidak menunjukkan susunan radier yang teratur, jarak antar sel longgar, banyak sel tidak berinti, sitoplasma terwarnai merah. Perry (2016) menyatakan Etanol sebagai fiksatif menghasilkan penyusutan yang lebih besar dengan gambaran sitologi yang lebih buruk dibandingkan dengan NBF. Etanol kadang-kadang digunakan untuk mengawetkan glikogen pada sel tetapi akan menyebabkan distorsi detail inti dan sitoplasma (Rolls, 2024). Hasil penelitian Fajrina (2018) menunjukkan fiksasi menggunakan larutan fiksatif alkohol menunjukkan sitoplasma mengalami penyusutan. Jiang (2020) menyatakan ukuran normal sel hepatosit tikus berkisar  $15 \mu\text{m} - 20 \mu\text{m}$ . Berdasar pernyataan Jiang (2020) tersebut hepar yang difiksasi dengan etanol 50% berukuran di bawah normal. Banyaknya sel yang mengalami penyusutan itu mungkin menyebabkan jarak antar sel nampak longgar. Banyak sel tampak mengecil berinti hitam, hal tersebut memperlihatkan terjadinya atrofi pada hepatosit. Penelitian Fajrina menggunakan fiksatif pada pembuatan preparat hepar menunjukkan atrofi (Fajrina, 2018).

Hasil penelitian yang ditunjukkan pada gambar 2. Preparat mikroskopik yang dibuat dengan metode parafin pewarnaan Hematoksilin-

Eosin dengan fiksatif Bouin menunjukkan hepatosit berukuran normal  $15 \pm 0,9 \mu\text{m}$  tersusun radier dengan jarak yang rapat, inti sel terwarnai ungu, nampak beberapa inti sel berwarna kehitaman, sitoplasma terwarnai merah.

Asam pikrat selain sebagai komponen fiksatif, juga digunakan sebagai pewarna pada beberapa metode pewarnaan. Asam pikrat bersifat asam dan memberikan warna kuning pada jaringan. Fiksatif asam pikrat harus dicuci dari jaringan dengan etanol 70% sebelum diproses lebih lanjut. Sisa asam pikrat yang tertinggal di jaringan, akan mempengaruhi karakteristik pewarnaan jaringan dan akan memburuk seiring berjalannya waktu (Rolls (2024).

Hematoksilin bersifat kationik dan berfungsi sebagai pewarna dasar. Hematoksilin bermuatan positif, sehingga dapat berikatan dengan komponen sel basofilik yang bermuatan negatif, seperti asam nukleat di dalam nukleus. Inti sel pada preparat mikroskopik terwarnai hematoksilin berwarna biru (Parry, 2023)

Fiksatif Bouin yang salah satu komponennya asam pikrat bersifat asam yang tertinggal pada jaringan saat proses pewarnaan akan dimungkinkan bergabung dengan hematoksilin yang bersifat basa yang mewarnai inti sel. Bergabungnya fiksatif Bouin dengan zat warna hematoksilin menyebabkan inti sel berwarna kehitaman.

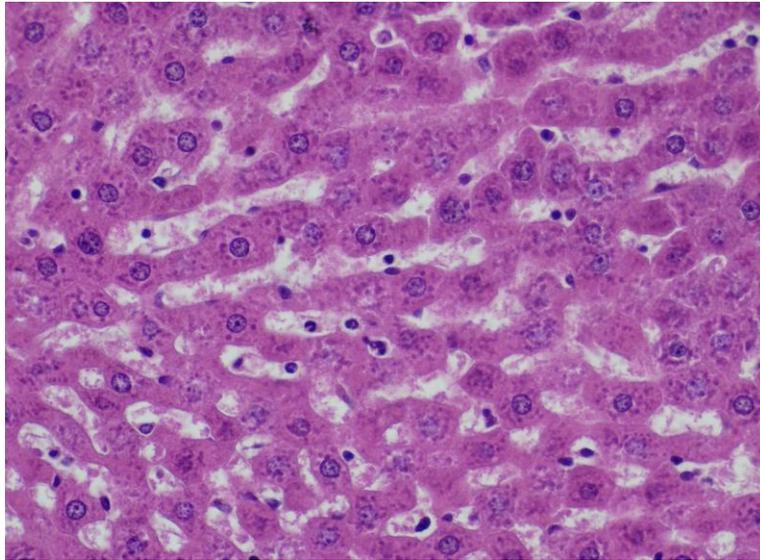
Hasil penelitian yang ditunjukkan pada gambar 3. Preparat mikroskopik yang dibuat dengan metode parafin pewarnaan Hematoksilin-Eosin dengan fiksatif NBF 10% menunjukkan hepatosit tersusun radier, inti sel terwarnai ungu, sitoplasma terwarnai merah, hepatosit berukuran normal  $16 \pm 0,2 \mu\text{m}$  dengan jarak yang rapat.

Preparat mikroskopik hepar dengan fiksatif NBF 10% difiksasi selama 24 jam menunjukkan gambaran yang paling bagus diantara ketiga jenis fiksatif. Hal ini mungkin disebabkan penetrasi NBF 10 % berlangsung sampai 24 jam. Setelah 24 jam difiksasi dilakukan pencucian (*washing*) sehingga efek merusak dari formalin pada hepar dapat dihindari. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nowacek *et al.* (2010) yang menyatakan secara umum fiksasi dilakukan selama 12-24jam. Waktu fiksasi tergantung dari jenis fiksatifnya, larutan formalin harus membutuhkan waktu minimal 24

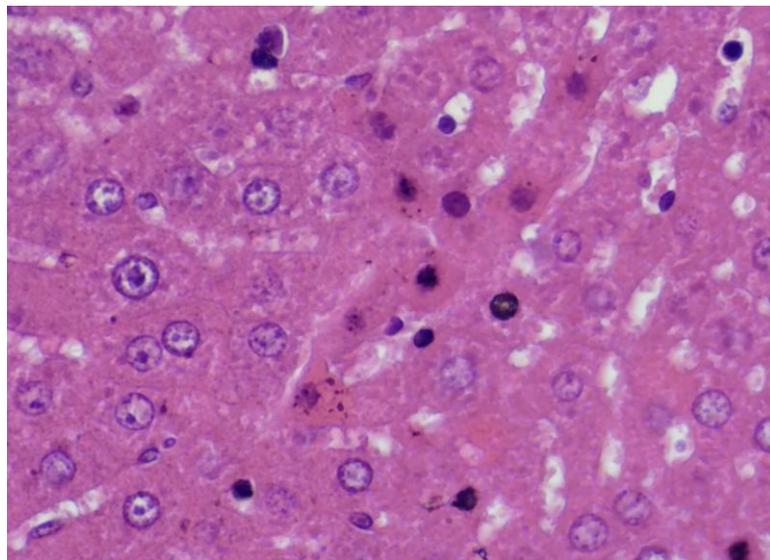
jam baru bisa dilakukan pencucian. Jaringan yang difiksasi dengan formalin selama 24 jam kemudian dilakukan pencucian maka sebagian besar dari formalin tersebut akan luruh.

Pada penelitian ini pencucian dilakukan selama 4 kali 30 menit. Lama pencucian tersebut

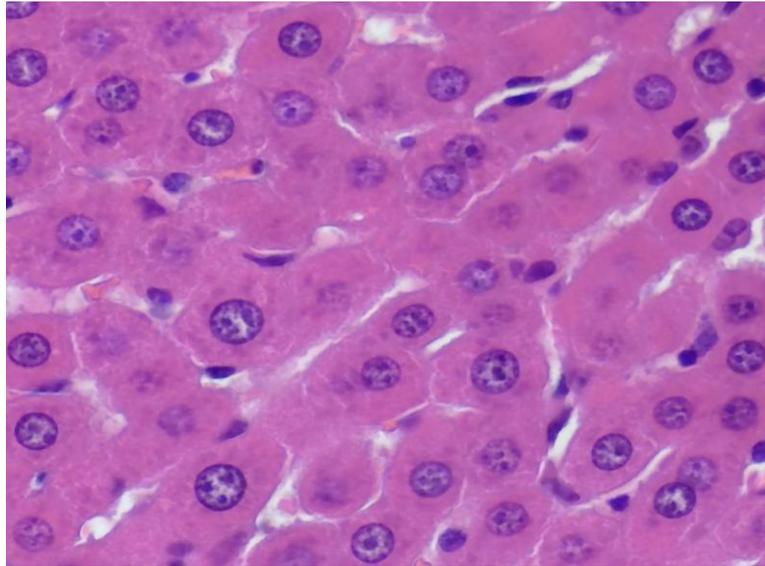
kemungkinan belum cukup lama untuk membersihkan fiksatif bouin yang berlebih pada preparat namun dapat membersihkan fiksatif yang berlebih untuk preparat yang di fiksasi dengan fiksatif NBF 10%.



Gambar 1. Gambaran struktur histologi hepar tikus putih (*Ratus norwegicus*) yang dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin menggunakan fiksatif Etanol 50%, perbesaran gambar 400x



Gambar 2. Gambaran struktur histologi hepar tikus putih (*Ratus norwegicus*) yang dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin menggunakan fiksatif Bouin, perbesaran gambar 400x



Gambar 3. Gambaran struktur histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin menggunakan fiksatif BNF 10%, perbesaran gambar 400x

#### KESIMPULAN

Proses pencucian selama 4 kali 30 menit belum mampu membersihkan kelebihan fiksatif Bouin pada preparat hepar, namun menghasilkan preparat histologi hepar dengan gambaran yang baik dengan fiksatif NBF 10%. Etanol 50% tidak sesuai dipakai sebagai fiksatif pada proses pembuatan preparat mikroskopik hepar.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih atas dukungan dana penelitian yang diberikan melalui PNPB DIPA Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro dengan kontrak penelitian nomor 25.IV.A/UN7.F8/PP/II/2024.

#### DAFTAR PUSTAKA

Dewi, A. K., C. Anwar, C. & Kumohiro, Y. (2020). Brain structure morphology after being fixated with ethanol on electron microscope. *Int. J. Morphol.*, 38(2):305-308.

Fajrina, S. N., Ariyadi, T., Nuroini, F. (2018). Gambaran Kualitas Sediaan Jaringan Hati Menggunakan Larutan Fiksatif NBF 10 % dan Alkohol 70% pada Pewarnaan HE (Hematoxilin-Eosin). *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus 1*: 60–65.

Hariyati, N., Samino, S., Indriyani, S & Soewondo. A. (2017). *Mikroteknik Dasar* (cetakan pertama) Hal. 85 - 94 Universitas Brawijaya Press

Nowacek, J.M., Kiernan, J. A., Kumar, J.L.(Ed.) (2010). *Education Guide: Special Stains and H&E* (2<sup>nd</sup> ed. Pp. 141-142). Dako North America. California

Jiang X, Xu J, Gore, J.C. (2020). Mapping hepatocyte size in vivo using temporal diffusion spectroscopy MRI. *Magn Reson Med.* 84 (5):2671-2683. doi: 10.1002/mrm.28299.

Mardiati, S.T. & Saraswati, T.R. (2014). *Buku Penuntun Praktikum Mikroteknik Hewan*. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Semarang. Hal. 2-10

Mescher, A. L. (2016). *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas* (14<sup>th</sup> ed.) McGrawHill. Lange. New York. Pp.2-4

Mujimin, M., Suratmi, S. (2013). Teknik mencampur larutan fiksasi untuk histologi. *Bul. Tek. Lit. Akuakultur.* 11 (2) :137-140

Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas.* 7(3): 443-452. <https://doi.org/10.25077/jka.v7i3.900>

Parry, N. 2024. A Beginner's Guide to Hematoxylin and Eosin Staining.

- <https://bitesizebio.com/13400/a-beginners-guide-to-haematoxylin-and-eosin-staining/>
- 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 and Cytochemistry*. 64 (7) 425 – 440.
- 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 J Biol Sci*. 29(1):175-182. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.08.075.
- Rastogi, V., Puri, N., Arora, S., Kaur, G., Yadav, L., & Sharma, R. (2013). Artefacts: a diagnostic dilemma - a review. *J Clin Diagn Res*; 7(10):2408–2413.
- Rolls, G. (2017). Process of fixation and the nature of fixatives [serial online] <https://www.leicabiosystems.com/pathology-leaders/fixation-and-fixatives-1-the-process-of-fixation-and-the-nature-of-fixatives>
- Rolls, G. (2024). Fixation and fixatives (3) – fixing agents other than the common Aldehydes <https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/fixation-and-fixatives-3-fixing-agents-other-than-the-common-aldehydes/>
- Rusmiatik, 2019. Perbandingan fiksasi larutan bouin dan formalin pada sediaan preparat histologi testis marmot. *Jurnal Kedokteran media informasi ilmu kedokteran dan kesehatan*.4(2): 5-9
- 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
- Suvarna, K.S., C.Layton, J. D. Bancroft. (2019) *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Elsevier. Pp. 56-59