

Analisis Gambaran Sel Glomerulus *Rattus norvegicus* melalui Proses Pencucian setelah fiksasi dengan NBF 10%, Bouin, dan Etanol 50% Selama Satu Minggu

Analysis of Glomerular Cell Image of *Rattus norvegicus* through Washing Process after Fixation with 10% NBF, Bouin, and 50% Ethanol for One Week

Wulandari Putri Maharani, 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 Juli 2025 / Disetujui 7 Januari 2026

ABSTRAK

Fiksasi merupakan proses kimia yang menjadi tahap penting dalam pembuatan preparat jaringan hewan. Larutan fiksatif yang umum digunakan yaitu NBF 10%, bouin, dan etanol 50%. Organ yang digunakan pada penelitian ini adalah *ren* yang merupakan jaringan lunak. Penelitian ini bertujuan menganalisis gambaran glomerulus melalui proses pencucian setelah difiksasi dengan menggunakan NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu. *Ren* difiksasi dengan NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu. Hasil menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) pada ruang kapsula bowman, ukuran sel glomerulus dan ukuran inti sel glomerulus. Tampak kerusakan yang signifikan terhadap keutuhan glomerulus, bentuk sel glomerulus, bentuk inti sel glomerulus, warna sel glomerulus, dan warna inti sel glomerulus. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tahap pencucian setelah fiksasi dapat meminimalisir kerusakan preparat yang difiksasi selama satu minggu dengan NBF 10%.

Kata kunci: fiksatif, ren, histologi

ABSTRACT

Fixation is a chemical process that is an important stage in the preparation of animal tissue preparations. Commonly used fixative solutions are 10% NBF, bouin, and 50% ethanol. The organ used in this study was the kidney, which is a soft tissue. This study aims to analyze the glomerular image through the washing process after being fixed using 10% NBF, bouin, and 50% ethanol for one week. The kidney was fixed with 10% NBF, bouin, and 50% ethanol for one week. The results showed significant differences ($P < 0.05$) in bowman's capsule space, the size of the glomerular cells and the size of the glomerular cell nucleus. There was significant damage to the integrity of the glomerulus, the shape of the glomerular cells, the shape of the glomerular cell nucleus, the color of the glomerular cells, and the color of the glomerular cell nucleus. In this study, it can be concluded that the washing stage after fixation can minimize damage to preparations fixed for one week with 10% NBF.

Keywords: fixative, ren, histology

PENDAHULUAN

Fiksasi merupakan proses kimia yang dilakukan untuk mengawetkan jaringan sehingga mencegah autolisis atau proses dekomposisi jaringan. Proses pengawetan jaringan biologis bertujuan untuk mempertahankan kondisi jaringan seperti saat jaringan masih hidup (Allimi dkk. 2023). Tahap fiksasi sangat menentukan langkah berikutnya dalam proses pembuatan preparat,

khususnya mempengaruhi tahap pencucian dan pewarnaan dalam pembuatan mikroteknik. Pembuatan preparat dengan tahap fiksasi membuat jaringan lebih mudah ditembus oleh reagen sehingga mempermudah proses pengamatan jaringan (Singh *et al.*, 2019). Proses fiksasi dilakukan dengan menggunakan larutan fiksatif.

Pemilihan fiksatif dilakukan berdasarkan komponen jaringan yang akan diamati serta jenis pewarnaan yang digunakan karena setiap fiksatif

memiliki mekanisme pengawetan yang berbeda terhadap komponen jaringan. Larutan fiksatif mampu menghambat terjadinya autolisis dan memberikan perbedaan gambaran mikroskopik yang baik (Musyarifah & Agus, 2018). Penggunaan larutan fiksatif yang berbeda akan memengaruhi proses pemberian reagen pada tahap berikutnya. Larutan NBF 10% memiliki daya penetrasi yang lama dan membuat pH jaringan menjadi netral untuk mencegah nekrosis sel dan kerusakan protein (Fajrina dkk., 2018). Larutan fiksatif bouin dapat memfiksasi jaringan atau organ lebih cepat yaitu selama 6 jam sampai 24 jam. Bouin mengandung asam pikrat sehingga jaringan atau organ yang difiksasi lebih dari 24 jam akan berwarna kuning (Howat & Wilson, 2014). Fiksatif etanol 50% merupakan larutan fiksatif koagulan yang memutus ikatan hidrogen sehingga mengendapkan protein dalam jaringan dan menghentikan aktivitas ezim serta mencegah kerusakan sel (Rahman *et al.*, 2022).

Pembuatan preparat mikroteknik pada beberapa literatur tidak melakukan tahap pencucian (*washing*) sehingga dalam pembuatan preparat langsung dilakukan tahap dehidrasi setelah fiksasi (Anthony & Mescher 2016; Harijati dkk., 2017). Tahap pencucian yang tidak dilakukan akan menyebabkan adanya residu larutan fiksatif di dalam jaringan yang dapat mengganggu proses pengamatan sehingga perlu dilakukan pengembangan penelitian melalui proses pencucian jaringan organ (*washing*) sebanyak 4x30 menit. Pencucian preparat histologi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jenis larutan yang berbeda sesuai dengan jenis pelarut bahan fiksatif yang digunakan. Preparat yang difiksasi dengan menggunakan NBF 10% dicuci dengan menggunakan akuades, preparat yang difiksasi dengan bouin akan dicuci dengan menggunakan alkohol 70% dan preparat yang difiksasi dengan etanol 50% akan dicuci dengan menggunakan alkohol 50%.

Preparat yang dibuat dengan larutan fiksatif yang berbeda pada durasi yang lama akan menghasilkan beberapa kerusakan yang berbeda-beda, sehingga dapat dilakukan analisis untuk menentukan perbedaan gambaran sel glomerulus

pada setiap preparat. Kerusakan pada preparat dapat diminimalisir dengan proses pencucian preparat setelah difiksasi karena tahap pencucian dapat membersihkan sisa fiksatif di dalam jaringan (Daningsih & Mardiyyaningsih, 2021). Kondisi ini memerlukan pengembangan penelitian untuk membuktikan pengaruh proses pencucian terhadap sel penyusun glomerulus *Rattus norvegicus* yang difiksasi dengan fiksatif berbeda selama satu minggu. Penelitian ini dilakukan melalui variabel keutuhan preparat, bentuk sel, ukuran sel, bentuk inti sel, ukuran inti sel, warna inti sel dan warna sitoplasma (Mahendra & Fitria, 2024).

Penelitian yang berfokus pada gambaran sel glomerulus *Rattus norvegicus* melalui proses pencucian setelah fiksasi dengan NBF 10%, Bouin, dan Etanol 50% selama satu minggu. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis gambaran sel glomerulus *Rattus norvegicus* melalui proses pencucian setelah fiksasi dengan NBF 10%, Bouin, dan Etanol 50% selama satu minggu. Penelitian ini diharapkan bermanfaat dalam memberikan informasi ilmiah yang dapat dijadikan acuan referensi untuk penelitian lebih lanjut mengenai gambaran sel glomerulus yang dibuat melalui proses pencucian (*washing*) setelah difiksasi dengan menggunakan fiksatif NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan (BSFH), Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Penelitian ini dilakukan selama 6 bulan. Penelitian ini merupakan penelitian eksplanasi dengan rancangan percobaan rancangan acak lengkap (RAL) menggunakan 10 potongan organ ren diambil dari 5 tikus putih dengan 3 perlakuan yaitu perendaman dengan larutan fiksatif NBF 10%, bouin, dan etanol 50% (tabel 1). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 10 kali. Setiap potongan organ dibuat menjadi 1 slide preparat sehingga diperoleh total preparat terdapat 30 slide preparat.

Isolasi organ

Isolasi organ merupakan tahap pengambilan organ yang diinginkan melalui proses pembedahan. Proses isolasi organ diawali dengan anestesi atau pembiusan secara inhalasi dengan pemberian kloroform pada kapas yang dimasukkan ke dalam toples. Tikus dimasukkan ke dalam toples dan ditutup lalu dibiarkan sampai tikus kehilangan kesadaran. Tikus yang sudah kehilangan kesadaran, diletakkan di atas bak parafin. Keempat kaki tikus ditahan dengan jarum supaya tidak bergeser. Isolasi organ dilakukan dengan membedah tikus dari aksis tubuh bagian posterior ke arah kolateral anterior (Nugraheni dkk., 2018). Organ yang telah diisolasi kemudian dimasukkan ke dalam NaCl 0,9% untuk membersihkan organ dari darah dan kotoran lainnya. Pembuatan preparat dilakukan sesuai dengan Harijati dkk., (2017) dan Anthony & Mescher, (2016) dengan modifikasi adanya penambahan tahap pencucian.

Fiksasi

Organ yang telah diisolasi dan dibersihkan dengan NaCl 0,9%, kemudian dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil untuk difiksasi. Tahap fiksasi dilakukan dengan memotong satu organ ren menjadi tiga bagian. Tebal potongan organ yaitu 5 mm sehingga larutan fiksasi dapat memfiksasi organ lebih cepat karena tebal jaringan sangat menentukan volume larutan dan kecepatan fiksasi yang diperlukan. Organ yang sudah dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil, dimasukkan ke dalam larutan fiksatif yang mempertahankan struktur sel dan jaringan (Anthony & Mescher, 2016).

Ren yang sudah dipotong, kemudian dimasukkan ke dalam 3 *glass jam* yang masing-masing berisi larutan NBF 10%, larutan bouin dan larutan etanol 50%. Organ yang telah dimasukkan ke dalam *glass jam* berisi larutan fiksatif, disimpan selama satu minggu.

Pembuatan preparat

Pembuatan preparat dilakukan dengan menggunakan metode parafin. Tahap pembuatan preparat secara garis besar yaitu fiksasi, dehidrasi

atau menghilangkan air di dalam jaringan, penjernihan, infiltrasi parafin ke dalam jaringan, penanaman organ dalam parafin parafin, pemotongan, penempelan, deparafinasi, rehidrasi, pewarnaan, dehidrasi, penjernihan dan penutupan preparat (Apriani dkk., 2023).

Pencucian merupakan tahap yang dilakukan setelah tahap fiksasi yang bertujuan untuk menghilangkan sisa fiksatif dari jaringan yang telah difiksasi. Larutan yang digunakan untuk proses pencucian disesuaikan dengan jenis larutan fiksatif yang digunakan. Fiksatif NBF 10% dicuci dengan menggunakan akuades, bouin dicuci menggunakan alkohol 70% dan etanol 50% dicuci dengan alkohol 50%. Tahap pencucian dilakukan dengan membuang larutan fiksatif kemudian diganti dengan menggunakan pelarut fiksatif. Pada penelitian ini, proses pencucian dilakukan dengan merendam potongan organ selama 12 jam di dalam pelarut fiksatif.

Dehidrasi dilakukan dengan memasukkan *tissue cassette* yang berisi jaringan organ, ke dalam perendam organ yang berisi alkohol bertingkat secara bertahap dengan urutan waktu sebagai berikut : alkohol 70% (2x 30 menit), alkohol 80% (2x 30 menit), alkohol 96% (2x 30 menit), alkohol absolut (2x 30 menit).

Penjernihan dilakukan untuk mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan menggunakan silol. Jaringan atau organ yang sudah melewati tahap dehidrasi direndam ke dalam larutan silol sebanyak 2 kali masing-masing selama 10 menit dengan menggunakan wadah kaca.

Infiltrasi merupakan tahap memasukkan media penanaman berupa parafin ke dalam jaringan. Tahap infiltrasi dilakukan dengan proses perendaman dalam parafin cair (60°C) : silol untuk mengisi jaringan dengan parafin. Perendaman parafin murni dilakukan selama 60 menit setelah itu *tissue cassette* dikeluarkan dan ditiriskan pada temperatur 60°C untuk sementara waktu sebelum pencetakan blok parafin dilakukan (Pawlina, 2016).

Penanaman merupakan proses saat jaringan yang telah diinfiltasi dengan parafin kemudian dimasukkan ke dalam cetakan yang berisi parafin cair lalu didinginkan sampai mengeras. Tahap penanaman organ dalam parafin dilakukan dengan menyiapkan cetakan yang sudah dihangatkan pada

suhu 60°C, lalu masukkan jaringan dan diatur letak jaringan di dalam setiap cetakan. Tuangkan parafin cair secara perlahan ke dalam cetakan sampai seluruh jaringan terendam. Parafin dibiarkan membeku diatas mesin pendingin. Blok parafin dilepas dari cetakan kemudian disimpan di *freezer* dengan suhu -20°C sebelum dilakukan tahap pemotongan (Harijati dkk., 2017).

Pemotongan merupakan tahap pemotongan organ yang telah dilapisi dengan blok parafin. Ketebalan pemotongan blok parafin yaitu 5 µm dengan menggunakan mikrotom putar. Potongan pita parafin diletakkan secara hati-hati dan dirapikan di atas permukaan air dalam *waterbath* bersuhu 40°C (Iriani & Yusfiati, 2015). Ambil potongan pita parafin dan ditempelkan pada kaca objek secara perlahan dan rapi. Jaringan yang sudah ditempelkan pada kaca objek kemudian disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 40°C selama 24 jam untuk memastikan jaringan sudah kering dan siap untuk diwarnai (Pawlina, 2016).

Pewarnaan bertujuan untuk mewarnai komponen jaringan sehingga dapat dibedakan komponen satu sel dan komponen sel lainnya. Tahap pewarnaan diawali dengan deparafinasi dengan menggunakan larutan silol sebanyak 3 kali selama 5 menit. Rehidrasi dilakukan secara bertahap dengan urutan waktu sebagai berikut : silol (3x 5 menit), alkohol absolut (1x 1 menit), alkohol 96% (1x 1 menit), alkohol 80% (1x 1 menit), alkohol 70% (1x 1 menit), air mengalir (1 menit), larutan hematoksin (10 menit), air mengalir (5 menit), larutan eosin (2 menit), air mengalir (1 menit). Dehidrasi dengan alkohol absolut (3x 5 celup). Tahap penjernihan dengan larutan silol sebanyak (3x 5 menit) (Pawlina, 2016).

Penutupan preparat menggunakan cairan perekat entelan dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Jaringan diamati dibawah mikroskop untuk melihat kerusakan organ yang difiksasi selama satu minggu (Pawlina, 2016).

Pengambilan data

Pengamatan preparat histologi ginjal *Rattus norvegicus* yang telah di fiksasi selama satu minggu dilakukan di Laboratorium Biologi Struktur dan

Fungsi Hewan. Preparat histologi diamati dengan menggunakan kamera optilab pada mikroskop fotomikrograf yang sudah terkoneksi dengan laptop perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan dengan mengamati 5 glomerulus pada setiap preparat yang dipilih secara acak pada masing-masing irisannya. Variabel ukuran inti sel dan ukuran sel dilakukan dengan analisis morfometri dengan cara mengukur diameter terpanjang ditambah dengan diameter terpendek, hasil penjumlahan diameter terpanjang dan terpendek dibagi dua (Purba dkk., 2021). Variabel keutuhan preparat, bentuk sel, bentuk inti sel, warna inti sel dan warna sel diamati secara deskriptif. Pengamatan dilakukan dengan mengamati preparat secara morfologi untuk mengetahui perbedaan hasil dari setiap perlakuan.

Analisis data

Analisis data kualitatif yang digunakan untuk variabel keutuhan potongan organ, bentuk sel, bentuk inti sel, dan tampilan zat warna dilakukan secara deskriptif dengan mendeskripsikan hasil penelitian. Analisis data kuantitatif untuk pengukuran variabel ukuran sel dan ukuran inti sel dilakukan validasi data, kemudian data diuji pola distribusinya dan homogenitas data.

Uji normalitas data dilakukan dengan uji shapiro-wilk. Hasil uji data yang mengikuti pola distribusi normal dan homogen selanjutnya diuji dengan one way ANOVA dengan $\alpha = 5\%$ (Santoso, 2020). Hasil uji ANOVA yang menunjukkan berbeda nyata antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan. Data yang tidak terdistribusi normal dan homogen, di uji dengan Kruskal wallis dan uji lanjut Mann Whitney U (Suyatno & Gio, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis variabel penelitian (tabel 1) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata mengenai ukuran sel dan ukuran inti sel yang difiksasi dengan NBF 10% dan pencucian dengan akuades, fiksasi bouin dengan pencucian alkohol 70% dan fiksasi etanol 50% dengan pencucian alkohol 50%. Ukuran sel dan inti sel glomerulus yang di fiksasi dengan etanol 50% memiliki ukuran

terkecil, berbeda nyata dengan ukuran sel yang difiksasi dengan NBF 10% dan bouin. Ukuran sel dan inti sel glomerulus yang difiksasi dengan NBF 10% lebih besar dari sel dan inti slyang difiksasi dengan etanol 50% dan ukuran lebih kecil dari sel yang difiksasi dengan bouin. Ukuran sel dan inti sel glomerulus yang difiksasi dengan bouin memiliki ukuran terbesar dibandingkan dengan sel dan inti sel glomerulus yang difiksasi menggunakan NBF

10% dan etanol 50%. Ukuran ruang kapsula bowman juga menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan. Ruang kapsula bowman terbesar pada perlakuan fiksatif etanol. Hal ini menunjukkan glomerulus pada kelompok perlakuan ini mengalami pengerutan. Ruang kapsula bowman pada kelompok perlakuan fiksatif bouin terlihat terkecil, hal ini akibat glomerulus pada kelompok perlakuan ini mengalami pembengkakan.

Tabel 1. Data hasil analisis ukuran sel dan ukuran nukleus glomerulus melalui tahap pencucian setelah difiksasi dengan NBF 10%, bouin, dan etanol 50% selama satu minggu.

Variabel	NBF 10% $\bar{x} \pm SD$	Bouin $\bar{x} \pm SD$	Etanol 50% $\bar{x} \pm SD$
Ukuran sel	11,92 ^b \pm 0,61	14,09 ^c \pm 0,33	10,34 ^a \pm 0,59
Ukuran inti sel	3,97 ^e \pm 0,14	4,71 ^f \pm 0,21	3,15 ^d \pm 0,30
Ruang kapsula Bowman	9,86 ^h \pm 0,45	7,24 ^g \pm 0,36	11,05 ⁱ \pm 0,55

Keterangan : data ditampilkan dalam bentuk rata-rata \pm standar deviasi. Hasil uji Anova menunjukkan berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% ($P < 0,05$). Angka yang diikuti superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata.

Perlakuan P1 (gambar 1) adalah gambaran histologi glomerulus yang difiksasi dengan NBF 10% pada keutuhan potongan jaringan tampak utuh dan tidak hancur. Bentuk inti sel tampak inti sel bulat dan tidak pecah. Snyder *et al.*, (2022) menyatakan bahwa NBF 10% mengandung buffer fosfat sehingga memiliki pH netral yaitu sekitar 7,2 sampai 7,4 sehingga dapat mencegah pembentukan artefak pada sel yang dapat mengganggu interpretasi histologis. Bentuk sel, tampak sitoplasma utuh. Fiksatif NBF 10% memiliki pH netral sehingga sel tidak mengalami kerusakan, perubahan morfologi, dan tidak terdapat artefak. Fajrina dkk., (2018) menjelaskan bahwa, NBF 10% memiliki daya penetrasi dalam waktu lama dan pH netral sehingga tidak menyebabkan kerusakan sel, perubahan morfologi, nekrosis sel dan tidak merusak protein. Sel yang difiksasi dengan NBF 10% tidak mengalami penyusutan karena struktur jaringan dipertahankan oleh formalin yang terdapat di dalam NBF 10%. Allimi dkk., (2023) menjelaskan bahwa formalin menjaga struktur jaringan tetap utuh.

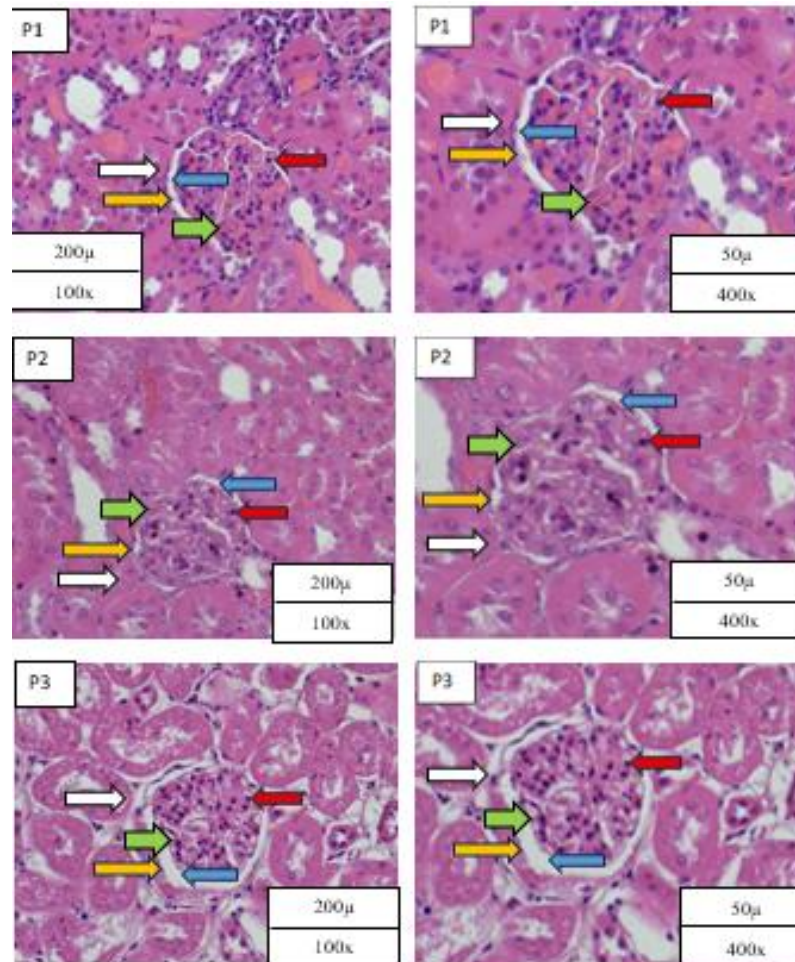
Warna inti sel glomerulus yang difiksasi dengan fiksatif NBF 10% tampak normal dan hasil pewarnaan baik yang ditunjukkan dengan inti

berwarna biru keunguan karena adanya pewarna hematoksilin yang berikatan dengan asam nukleat di dalam inti sel sehingga memberikan warna biru atau ungu pada inti. Badjuri dkk., (2023) menyatakan bahwa larutan hematoksilin mewarnai komponen basofilik yang mengandung asam nukleat sehingga menghasilkan warna biru atau ungu.

Warna sitoplasma, gambaran sitoplasma yang difiksasi dengan NBF 10% menghasilkan pewarnaan yang baik dan jelas yang ditunjukkan sitoplasma tampak berwarna merah muda karena adanya pewarna eosin yang bersifat asam sehingga memberikan warna merah muda pada sitoplasma. Peckham (2011) menjelaskan bahwa eosin merupakan pewarna yang bersifat asam yang berikatan dengan jaringan yang bersifat basa dalam sel sehingga jaringan yang terwarnai akan tampak merah atau merah muda. Proses pencucian fiksatif NBF 10% selama satu minggu dengan akuades dapat meminimalisir kerusakan fiksasi yang terlalu lama sehingga sel glomerulus tidak hancur dan hasil pewarnaan preparat terlihat dengan jelas. Suzuki *et al.*, (2012) menyatakan bahwa proses pencucian (*washing*) dapat meminimalisir kerusakan preparat yang disebabkan karena *over* fiksasi menggunakan

NBF 10% sehingga menjaga kondisi jaringan dan memberikan hasil pewarnaan yang optimal. Pencucian sel glomerulus yang difiksasi selama satu minggu dengan fiksatif NBF 10% dapat mengalami oksidasi dan perubahan pH sehingga proses pencucian dilakukan menggunakan menggunakan larutan akuades untuk menjaga

kestabilan pH di dalam NBF 10%. Grizzle (2009) menyatakan bahwa formalin di dalam NBF dapat teroksidasi menjadi asam format seiring waktu. Asam format bersifat asam dan dapat menyebabkan pembentukan artefak granular berwarna cokelat tua hingga hitam yang mengganggu interpretasi mikroskopis.



Gambar.1 Histologi glomerulus *Rattus norvegicus* umur 2 bulan setelah perlakuan fiksasi selama satu minggu dan melalui proses pencucian (*washing*) dengan pewarnaan hematoxilin eosin, pada perbesaran 100x dan 400x. Keterangan: P1. Perlakuan difiksasi dengan NBF 10%, P2. Perlakuan difiksasi dengan bouin, P3. Perlakuan difiksasi dengan etanol 50%. Panah hijau (sel glomerulus), panah merah (inti sel glomerulus), panah kuning (kapsula bowman), dan panah biru (rongga antara glomerulus dan kapsula bowman).

Perlakuan P2 (gambar 1) adalah gambaran histologi glomerulus yang difiksasi dengan bouin, keutuhan potongan jaringan tampak utuh dan tidak hancur. Bentuk inti sel tampak bulat. Warna inti sel tampak berwarna hitam dan beberapa inti sel tidak terwarnai dengan sempurna. Inti sel berwarna gelap disebabkan karena asam pikrat pada bouin bereaksi dengan komponen inti sel sehingga menyebabkan tampak lebih gelap atau hitam. Allimi dkk., (2023)

menjelaskan bahwa asam pikrat di dalam larutan bouin secara perlahan menembus ke dalam jaringan dan menyebabkan koagulasi asam nukleat sehingga inti sel tampak berwarna gelap. Inti sel yang tidak terwarnai dengan sempurna ada kemungkinan fiksasi berlebihan, yang dapat menghalangi penetrasi pewarnaan ke dalam struktur inti sel. Penggunaan larutan bouin yang *over* fiksasi meningkatkan jumlah ikatan silang ini, sehingga

menghambat akses pewarna hematoksilin ke asam nukleat. Musyarifah & Agus, (2018) menjelaskan bahwa fiksasi lebih dari 100 jam mengakibatkan pengerasan jaringan yang menyebabkan penyerapan cat hematoksilin eosin tidak sempurna.

Bentuk sel tampak sel utuh namun mengalami pembengkakan. Asam asetat yang terkandung di dalam bouin mampu menarik air ke dalam sel sehingga sel tampak membengkak. Bouin mengandung asam asetat (CH_3COOH) yang dapat mengurangi ikatan antar molekul kolagen di dalam sel sehingga struktur kolagen menjadi lebih terbuka dan mengakibatkan air masuk ke dalam serat kolagen yang menyebabkan pembengkakan sel. Musyarifah & Agus (2018) menjelaskan bahwa asam asetat yang terdapat di dalam larutan fiksatif dapat mengurangi penyusutan sel yang disebabkan oleh bahan lain seperti etanol dan menyebabkan kolagen membengkak akibat fiksasi yang terlalu lama. Asam asetat bersifat hipotonik sehingga cairan dapat masuk ke dalam sel. Hal ini di dukung dengan pendapat Ami *et al.*, (2014) menjelaskan bahwa asam asetat (CH_3COOH) memiliki sifat hipotonik terhadap sel karena dapat menyebabkan pergerakan air ke dalam sel melalui proses osmosis. Penggunaan bouin terlalu lama dapat menyebabkan *cross linking* berlebihan oleh formula Bouin menghasilkan ikatan kovalen yang terlalu banyak, menyebabkan protein menjadi kaku dan bentuk epitop antigenik tersembunyi. Lenz *et al.*, (2022) menyatakan bahwa, Asam pikrat yang terkandung di dalam bouin sangat reaktif sehingga menyebabkan aquaporin menjadi kaku dan tertutup. Warna sel tampak berwarna merah muda karena adanya pewarna eosin yang bersifat asam sehingga memberikan warna merah muda pada sitoplasma. Pewarnaan eosin pada sitoplasma memberikan hasil yang baik karena adanya tahap pencucian (*washing*) setelah fiksasi selama satu minggu sehingga zat warna dapat masuk ke dalam sel dengan sempurna. Proses pencucian fiksatif bouin dengan alkohol 70% dapat menghilangkan residu asam pikrat yang menyebabkan artefak serta menjaga kualitas pewarnaan histologis tetap optimal sehingga dapat diamati dengan baik dan jelas. Rusmiatik (2019) menyatakan bahwa pencucian dengan alkohol 70% setelah proses fiksasi menggunakan bouin bertujuan untuk menghilangkan residu asam pikrat

yang menyebabkan jaringan berwarna kuning sehingga pewarnaan hematoksilin-eosin tampak baik dan jelas. Sel glomerulus yang difiksasi dengan bouin selama satu minggu dilakukan pencucian (*washing*) dengan alkohol 70% karena lebih efektif dalam menghilangkan pigmen kuning dari asam pikrat daripada air biasa sehingga preparat histologi menjadi lebih jernih dan mudah dianalisis. Survarna *et al.*, (2019) menyatakan bahwa alkohol 70% membantu menetralkan reaksi kimia dari asam pikrat dan mengurangi risiko *over fixation* yang dapat menyebabkan pengerasan jaringan dan memperbaiki pewarnaan agar lebih optimal.

Perlakuan P3 (gambar 1) adalah gambaran histologi glomerulus yang difiksasi dengan etanol 50%, keutuhan potongan jaringan tampak utuh dan tidak hancur. Bentuk sel tampak sel mengalami penyusutan secara signifikan yang ditandai dengan adanya rongga antara glomerulus dan kapsula bowman. Fiksasi menggunakan etanol 50% yang terlalu lama dapat menyebabkan penyusutan spesimen karena adanya pengurangan volume cairan di dalam sel. Pencucian preparat dengan alkohol 50% pada jaringan yang difiksasi selama satu minggu dengan etanol 50% dapat mengakibatkan penyusutan signifikan karena efek *shrinking* pada alkohol. Putri dkk., (2023) menjelaskan bahwa alkohol dapat menyebabkan cairan di dalam sel keluar sehingga sel menjadi kering atau *shrinking*. Etanol adalah fiksatif koagulan yang bekerja dengan mereduksi kelarutan protein dan mengganggu interaksi hidrogen serta ikatan hidrofobik. Perry et al., (2016) menjelaskan bahwa, etanol meningkatkan fluiditas membran lipid, sehingga protein membran seperti aquaporin bisa terganggu atau terlepas. Bentuk inti sel tampak beberapa inti sel berbentuk bulat, menyusut dan memiliki bentuk yang tidak beraturan. Fiksasi etanol 50% dapat menyebabkan dehidrasi sehingga inti sel menjadi lebih kecil dan lebih padat. Penyusutan ini sering kali mengarah pada perubahan bentuk inti yang tidak normal. Carson & Cappellano (2015) menjelaskan bahwa penyusutan sel dan perubahan bentuk inti sel disebabkan karena fiksasi berlebihan dan dehidrasi berlebihan oleh fiksatif berbasis alkohol seperti etanol.

Warna inti terlihat lebih gelap atau lebih pekat karena kromatin yang mengalami dehidrasi akibat fiksatif etanol 50% terlalu lama akan menyerap lebih banyak zat warna sehingga menghasilkan warna inti sel yang lebih gelap. Carson & Cappellano (2015) menyatakan bahwa fiksasi berlebihan dalam alkohol dapat menyebabkan penyusutan inti dan peningkatan intensitas pewarnaan karena dehidrasi kromatin. Etanol 50% yang digunakan untuk fiksasi dalam waktu lama dan dilakukan pencucian dengan alkohol 50% cenderung mengendapkan protein dalam inti sel sehingga struktur halus seperti membran inti dan material kromatin di dalam inti menjadi sulit terlihat atau hilang sepenuhnya. Rahman *et al.*, (2022) menyatakan bahwa etanol 50% adalah fiksatif koagulasi yang memutus ikatan hidrogen untuk mengendapkan protein, mematikan aktivitas enzimatis dan dapat mengubah struktur inti sel. Warna sitoplasma, gambaran sitoplasma yang difiksasi dengan etanol 50% tampak baik dengan warna merah muda karena adanya pewarna eosin. Peckham (2011) menjelaskan bahwa eosin merupakan pewarna yang bersifat asam yang berikatan dengan struktur basa dalam sel sehingga jaringan yang terwarnai akan tampak merah atau merah muda. Sel glomerulus yang difiksasi dengan etanol 50% dilanjutkan dengan pencucian menggunakan alkohol 50% karena alkohol efektif dalam membersihkan residu etanol di dalam jaringan serta mencegah adanya perbedaan tekanan osmotik secara langsung. Survarna *et al* (2019)., menyatakan bahwa jaringan yang difiksasi dengan etanol 50% dicuci dengan menggunakan alkohol 50% karena memiliki konsentrasi yang sama sehingga menghindari perubahan osmotik secara langsung yang menyebabkan kerusakan sel.

Pencucian meminimalisir kerusakan keutuhan sel sehingga tampak utuh dan tidak hancur setelah difiksasi dengan NBF 10%, bouin, dan etanol 50%. Warna sel setelah difiksasi dengan NBF 10%, bouin, dan etanol 50% tampak berwarna merah muda sehingga dapat diamati dengan jelas di bawah mikroskop. Pencucian (*washing*) tidak dapat meminimalisir kerusakan pada warna inti sel preparat yang difiksasi dengan etanol 50% dan bouin sedangkan preparat yang difiksasi dengan

NBF 10% menunjukkan warna inti sel yang baik dan jelas. Bentuk inti sel preparat yang difiksasi dengan bouin dan NBF 10% tampak bulat dan inti sel yang difiksasi dengan etanol 50% tampak berubah secara morfologi. Bentuk sel preparat dengan fiksatif NBF 10% tidak mengalami penyusutan, preparat dengan fiksatif bouin tampak membengkak dan preparat dengan fiksatif etanol 50% tampak menyusut secara signifikan.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tahap pencucian setelah fiksasi dapat meminimalisir kerusakan preparat yang difiksasi selama satu minggu dengan NBF 10%.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiningsih, R., Rahmawati, Y., & Nailufar, Y. 2024. Potensi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai Pengganti Cat Hematoksin dalam Pewarnaan Rutin Jaringan. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(4): 12988-12997.
- Afrida, A. D., & Priyatno, D. 2021. Histology of Mice (*Mus musculus*) Liver Tissue Fixed with Carnoy's Solution with Variation of 4 Hours, 8 Hours and 12 Hours. *Jurnal Laboratorium Medis*, 3(1): 38-43.
- Agi, Y. A., & Titrawani, T. 2021. Kidney Histology of Wistar Rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) Due to White Coffee. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 9(2): 60-67.
- Agustin, M. 2021. Microscopic Profile of Mice Liver Tissue (*Mus musculus*) Fixed with Neutral Buffered Formalin (NBF 10%) and Helly Solution. *Jurnal Laboratorium Medis*, 3(2): 90-95.
- Al-Hajj, N. Q. M., Sharif, H. R., Aboshora, W., & Wang, H. 2016. In Vitro and In Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *Pulicaria inuloides*-Asteraceae. *Journal of Food and Nutrition Research*, 4(7): 461-470.
- Aisyah, S., Gumelar, A. S., Maulana, M. S., & Amallia, R. H. T. 2023. Identifikasi Karakteristik Hewan Vertebrata Mamalia Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) berdasarkan Morfologi dan Anatominya. *In Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 3.

- Allimi, H. S., Septhya, S. R. V., Apriliyani, T., Nuriliani, A., Retnoaji, B., Saragih, H., & Rohmah, Z. 2023. Larutan Fiksatif Makromolekul pada Sediaan Histologis. *Berkala Ilmiah Biologi*, 14(3): 41-49.
- Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M., & Mohammedsaleh, Z. M. 2015. Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science*, 8(3): 72-79.
- Ami, D., Di, S. M., Forcella, M., Meraviglia, V., Baccarin, M., Doglia, S. M., & Terzoli, G. 2014. Role of Water in Chromosome Spreading and Swelling Induced by Acetic Acid Treatment: A FTIR Spectroscopy Study. *European journal of histochemistry*, 58(1): 33-39.
- Anthony L., & Mescher, L. C. U. J. 2016. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas 14th Edition*. Mc Graw Hill Education, New York.
- Apriani., Andrianus., Marisca, S., & Diana, P. 2023. *Ez Prep Concentrate (Ez Prep)* sebagai Alternatif Reagen Deparafinasi pada Pewarnaan Hematoksin Eosin. *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan*, 7(1): 96-102.
- Atik, R. 2019. Perbandingan Fiksasi Larutan Bouin dan Formalin pada Sediaan Preparat Histologi Testis Marmut. *Jurnal Kedokteran*, 4(2): 5-9.
- Badjuri, F. Z., Durachim, A., Wiryanti, W., Riyani, A., & Dani, M. 2023. Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Virgin Coconut Oil pada Proses Deparafinisasi Pewarnaan Hematoksin Eosin terhadap Kualitas Preparat. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1): 172-181.
- Bani, R. F., Amalo, F. A., & Selan, Y. N. 2020. Gambaran Anatomi dan Histologi Ginjal dan Vesika Urinaria pada Musang Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) di Pulau Timor. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(1): 74-84.
- Baragoth, F. A., Ghazi, A. H., & Abdzaid, K. 2014. Histological Study to The Nephrons of The Kidney and Vesica Urinaria in Dogs (*Canis familiaris*) in Midlle of Iraq Kufa. *Journal for Veterinary Medical Sciences*, 5(1): 98-103.
- Bhat, A. H., & Hussein, S. 2021. Fixation and Different Types of Fixatives: Their Role and Functions: A Review. *International Journal Clinic Diagnosis Pathology*, 4(4): 113-119.
- Carson, F. L., & Cappellano, C. H. 2015. *Histotechnology. A Self-Instructional Text*. American Society Clinical Pathology, Chicago.
- Chaudhuri, P. 2023. Basic Histological Techniques (MicroTechniques) for Staining of Animal Tissue. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 44(24): 225-230.
- Chung, J. Y. Song J. S. Ylaya, K. Sears, J. D. Choi, L. Cho, H. Rosenberg, A. Z., & Hewitt, S. M. 2018. Histomorphological and Molecular Assessments of The Fixation Times Comparing Formalin and Ethanol-Based Fixatives. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 66(2):121-135.
- Dafrita, I. E., & Sari, M. 2020. Senduduk dan Ubi Jalar Ungu sebagai Pewarna Preparat Squash Akar Bawang Merah. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 5(1): 46-55.
- Daningsih, E., & Mardiyanningsih, A. N. 2021. Peningkatan Kompetensi Mahasiswa Prodi Pendidikan Biologi melalui Pembimbingan Pembuatan Preparat Awetan. *Pena Kreatif: Jurnal Pendidikan*, 10(2): 52-59.
- Dewi, G. A. M. L., Margiani, N. N., & Ayusta, I. M. D. 2019. Rerata Ukuran Ginjal Dewasa Normal dengan Computed Tomography di RSUP Sanglah Tahun 2017. *E-Jurnal Medika Udayana*, 8(11): 1-6.
- Dewi, A. K., & Komohara, C. A. 2020. Brain Structure Morphology after Being Fixedated with Ethanol on Electron Microscope. *International Journal Morphology*, 38(2): 305-308.
- Dey, P. 2023. *Fixation of Histology Samples: Principles, Methods and Types of Fixatives. In Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology*. Springer Nature Singapore, Singapore.
- Dju, F. 2020. Uji Aktivitas Analgesik Tunggal dan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L*) dan Daun Sirsak (*Annonam uricatal*) pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Asam Asetat. *Doctoral Dissertation*, Universitas Citra Bangsa.
- Fajrina, S. N., Ariyadi, T., & Nuroini, F. 2018. Gambaran Kualitas Sediaan Jaringan Hati Menggunakan Larutan Fiksatif NBF 10% dan Alkohol 70% pada Pewarnaan HE (Hematoksin-Eosin). *In Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*, 1.
- Faustinawati, B., Saebani., & Suharto, G. 2017. Pengaruh Pemberian Rantidin terhadap Gambaran Histopatologi Tubulus Proksimal Ginjal Tikus Wistar pada Pemberian Metanol Dosis Bertingkat. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 6(2): 366-376.

- Frianto, F., Fajriaty, I., & Riza, H. 2015. Evaluasi Faktor yang Mempengaruhi Jumlah Perkawinan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) secara Kualitatif. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura*, 3(1): 1-4.
- Gartner, L. P., Hiatt, & Lee, L. M. 2021. *Gartner & Hiatt's atlas and text of histology, 8th Edition*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Grizzle, W. E. 2009. Models of fixation and tissue processing. *Biotechnic & Histochemistry*, 84(5): 185-193.
- Harijati, N., Samino, S., Indriyani, S., & Soewondo, A. 2017. *Mikroteknik Dasar*. UB Press, Malang.
- Howat, W. J., & Wilson, B. A. 2014. Tissue Fixation and The Effect of Molecular Fixatives on Downstream Staining Procedures. *Methods*, 70(1): 12-19.
- Iriani, D., & Yusfiati. 2015. *Buku Ajar Mikroteknik*. UR Press, Pekanbaru.
- Iswara, A., & Wahyuni, T. 2017. Pengaruh Variasi Waktu Clearing terhadap Kualitas Sediaan Awetan Permanen *Ctenocephalides felis*. *Jurnal Labora Medika*, 1(1): 12-15.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2023. *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769). <https://www.gbif.org/species/102121574>. 7 Januari 2025.
- Jumardi, M., Iswara, A., Putri, G. S. A., & Ariyadi, T. 2023. Perbandingan Kualitas Hasil Pewarnaan Menggunakan Hematoxylin-Eosin dan Ekstrak Daun Jati Sebagai Pengganti Eosin. *In Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 6.
- Khristian, E., & Inderiati, D. 2017. *Sitohistoteknologi*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Jakarta
- Lam-Ubol, A., Kittrueangphatchara, K., Putthanuparp, T., Arayakhun, R., Kwanthong, R., & Choonhawarakorn, K. 2018. Nonformalin Fixative Agents: A Comparative Study of Fixative Efficacy and Histomorphology. *International Journal of Surgical Pathology*, 26(8): 701-706.
- Lenz, J., Macháčová, D., Konečná, P., Fiala, L., Kyllar, M., & Tichý, F. (2022). Effects of different fixatives over different fixation times, including Antigenfix, on immunohistochemical studies. *Acta Veterinaria Brno*, 91(2): 179-188.
- Li, Y., Li, N., Yu, X., Huang, K., Zheng, T., Cheng, X., Zeng, S., & Liu, X. 2018. Hematoxylin and Eosin Staining of Intct Tissues Via Delipidation and Ultrasound. *Scientific Reports*, 8(1): 1-8.
- Mahendra, I. M., & Fitria, M. S. 2024. Perbedaan Kualitas Preparat Jantung Tikus pada Proses Deparafinisasi menggunakan Xylol dan Minyak Pinus pada Pewarnaan HE. *In Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 7.
- Malini, D. M., Fitriani, N., Laila, A., Ratningsih, N., & Setiawati, T. 2021. Morphological and Histological Kidney Structure in Diabetic Rats Model Treated with Ethanol Extracts of Jengkol Fruit Peel (*Archidendron Pauciflorum*). *Jurnal Biologi Udayana*, 25(2): 208-217.
- Masala, J., Wahyuni, I., Rimbing, S. C., & Lopian, H. F. N. 2020. Karakteristik Morfologi Tikus Hutan Ekor Putih (*Maxomys hellwandii*) di Tangkoko Batu Angus Bitung. *Zootec*, 40(1): 207-213.
- Musyarifah, Z., & Agus, S. 2018. Proses Fiksasi pada Pemeriksaan Histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3): 443-453.
- Mutoharoh, L., Santoso, S. D., & Mandasari, A. A. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) sebagai Alternatif Pewarna Alami Sediaan Sitologi Pengganti Eosin pada Pengecatan Diff Quik. *Jurnal SainHealth*, 4(2): 20-16.
- Nadifah, F., Prasetyaningsih, Y., & Alhikmah, Y. T. 2022. Pengaruh Waktu Pra-Fiksasi terhadap Struktur Jaringan Ginjal *Mus musculus*. *In Basic and Applied Medical Science Conference*, 1(1): 92-96.
- Noor, R., Tika, N. Y., & Agustina, P. 2020. Preparat Jaringan Tumbuhan Dengan Menggunakan Pewarna Alami Sebagai Media Belajar Jaringan Tumbuhan Praktikum Biologi Sel. *Jurnal Lentera Pendidikan Pusat Penelitian LPPM UM METRO*, 5(2): 136-147.
- Nugraheni, B. C., Sunarno, S., & Mardiaty, S. M. 2018. Respon Histologis Hepar Tikus Wistar yang Mengalami Stres Fisiologis setelah Pemberian Pakan dengan Suplementasi Daging Ikan Gabus (*Channa striata*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 3(2): 173-180.
- Otali, D., Qinghua, H., & William, E. G. 2013. The Effect of Antigen Retrieval on Cells Fixed in 10% Neutral Buffered Formalin Followed by Transfer to 70% Ethanol. *Plos One*, 8(12): 1-9.
- Ozturk, O., Eroglu, H.A., Ustebay, S., Kuzucu, M., & Adali, Y. 2018. An Experimental Study on The Preventive Effects of N-acetyl Cysteine and Ozone Treatment Against Contrast-

- Induced Nephropathy. *Acta Cir Bras*, 33(6): 508-517.
- Parry, S. N. 2023. Non-Alcoholic Steatohepatitis with Fibrosis in Diabetes: Clinical Exploration and Targeting CCN Family Members in A Pre-Clinical Rodent Model. *Doctoral Dissertation*, University of Sydney.
- Peckham, M. 2011. *Histology at A Glance*. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Pawlina, W., & Drake, R. L. 2016. Authentic Learning in Anatomy: A Primer on Pragmatism. *Anatomical Sciences Education*, 9(1): 5-7.
- 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.
- Purba, E. E. D. A. M., Marbun, D. I., Lubis, A., Harianja, D., Herawati, N., & Sitorus, M. S. 2023. Perbandingan Efektivitas Fiksasi Alami Ekstrak Daun Kelor 75% dan NBF 10% pada Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Organ Manusia. *Mahesa : Malahayati Health Student Journal*, 3(9): 2858-2875.
- Purba, S. D., Tana, S., Saraswati, T. R. 2021. Pengaruh Air Rendaman Batang Balimo (*Zanthoxylum nitidum*) terhadap Histologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Diberi Ciu. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 6(1): 7-16.
- Putri, A., Mulia, Y. S., Sulaeman, S., & Wiryanti, W. 2023. Pengaruh Variasi Waktu Perendaman dengan Alkohol terhadap Kualitas Preparat Permanen Larva *Culex* sp. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 4(1): 340-345.
- Rahman, M. A., Sultana, N., Ayman, U., Bhakta, S., Afrose, M., Afrin, M., & Haque, Z. 2022. Alcoholic Fixation Over Formalin Fixation: A New, Safer Option for Morphologic and Molecular Analysis of Tissues. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1): 175-182.
- Rohman, J. H. F., Sunarno., Isdadiyanto, S., & Mardiaty, S. M. 2021. Efek Minuman Berenergi terhadap Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Media Bina Wilayah*, 15(7): 4835-4848.
- Rosidah, I., Ningsih, S., Renggani, T.N., Agustini, K., & Efendi, J. 2020. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley Jantan Umur 7 dan 10 Minggu. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 7(1): 136-145.
- Rusmiatik. 2019. Perbandingan Fiksasi Larutan Bouin dan Formalin pada Sediaan Preparat Histologi Testis Marmut. *Jurnal Kedokteran*, 4(2): 5-9.
- Salem, H., Tahoun, E., & Kamel, A. 2019. Morphopathological and Biochemical Changes Induced by Cisplatin as Anticancer Drug and The Protective Role of Moringa Leaf Ethanolic Extract and L-Carnitine in Rat. *Journal of Current Veterinary Research*, 1(1): 94-102.
- 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.
- Santoso, S. 2020. *Panduan lengkap SPSS 26*. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Saraswati, Rahmawati, Y. 2023. Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai Alternatif Bahan Pewarna Histologi. *Jurnal Sains dan Teknologi Laboratorium Medik*, 9(1): 22 – 26
- Sari, D. P., Fatmawati, U., Prabasari, R. M., & Word, K. 2016. Profil Hands on Activity pada Mata Kuliah Mikroteknik di Prodi Pendidikan Biologi FKIP UNS. *In Proceeding Biology Education Conference Biology Science Enviromental Learn*, 13(1): 476-481.
- Seely, J. C., Hard, G. C., & Blankenship, B. 2018. (Chapter 11-Kidney) *Boorman's Pathology of The Rat (Second Edition)*. Academic Press, Cambridge.
- Sherwood, L. 2011. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem*. Ed 6. Kedokteran EGC, Jakarta.
- Singhal, P., Singh, N. N., Sreedhar, G., Banerjee, S., Batra, M., & Garg, A. 2016. Evaluation of Histomorphometric Changes in Tissue Architecture in Relation o Alteration in Fixation Protocol–An Invitro Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 10(8): 28-32.
- Singh, G., & Nayak, B. 2022. Processing of Tissue Specimen with Special Reference to Fatty Tissue. *Tissue Scaffolds*, 2(2): 493-503.
- Singh, H.P., Bishen, K.A., Garg, D., Sukhija, H., Sharma, D., & Tomar, U. 2019. Fixation and Fixatives: Roles and Functions A Short Review. *Dental Journal of Advance Studies*, 7(1): 51-55.
- Snyder, J. M., Radaelli, E., Goeken, A., Businga, T., Boyden, A. W., Karandikar, N. J., & Gibson-

- Corley, K. N. 2022. Perfusion With 10% Neutral-Buffered Formalin is Equivalent to 4% Paraformaldehyde for Histopathology and Immunohistochemistry in A Mouse Model of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Veterinary Pathology*, 59(3): 498-505.
- Soesilawati, P. 2020. *Histologi Kedokteran Dasar*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Suyatno & Gio, P. U. 2017. *Statistika Nonparametrik dengan SPSS, Minitab, dan R*. USU press, Medan.
- Suprianto, A. 2014. Perbandingan Efek Fiksasi Formalin Metode Intravital dengan Metode Konvensional pada Kualitas Gambaran Histologis Hepar Tikus. *Doctoral Dissertation*, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Survarna, S. K., Layton, C., & Bancroft, J. D. 2019. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques, Ophthalmic Pathology: The Evolution of Modern Concepts*. Elsevier, Amsterdam.
- Suzuki, Y., Imada, T., Yamaguchi, I., Yoshitake, H., Sanada, H., Kashiwagi, T., & Takaba, K. 2012. Effects of Prolonged Water Washing of Tissue Samples Fixed in Formalin on Histological Staining. *Biotechnic & Histochemistry*, 87(4): 241-248.
- Tana, S., Shivaluhung, M. N., & Suprihatin, T. 2022. Gambaran Histologi Ren Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi Insulin. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 7(2): 126-134.
- Thavarajah, R., Vidya, K. M., Joshua, E., Umadevi, K., dan Kannan, R. 2012. Chemical and Physical Basics of Routine Formaldehyde fixation. *Journal of Oral & Maxillofacial Pathology*, 16(3): 400-405.
- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *Cerminan Dunia Kedokteran*, 43(2): 148-154.
- Veuthey, T. V., Herrera, M. G., & Dodero, V. I. 2014. Dyes and Stains: from Molecular Structure to Histological Application. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 19(1): 91-112.
- Wati, D. P., Ilyas, S., Yurnadi. 2024. *Prinsip Dasar Tikus sebagai Model Penelitian*. USU Press, Medan.
- Yohana, W. 2017. Perbandingan Cairan Fiksasi Bouin dengan Buffer Formalin terhadap Hepar Tikus Putih. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 2(2): 97-101.
- Yuriwati, F. N., Mardiaty, S. M., & Tana, S. 2016. Perbandingan Struktur Histologi Magnum Pada Itik Magelang, Itik Tegal dan Itik Pengging. *Buletin Anatomi dan Fisiologi Dh Sellula*, 24(1): 76-85.
- Zainuddin, Z., Syahputri, F. O., Masyitha, D., Aisyah, S., Iskandar, C. D., Rahmi, E., & Riandi, L. V. 2022. Gambaran Histologi dan Histomorfometri Ginjal Kalkun (*Meleagris gallopavo*) pada Tingkatan Umur Berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 7(1):13-21.