

## ARTIKEL PENELITIAN

### Variasi Waktu Larutan Fiksasi Bouin terhadap Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin pada Jaringan Histologi Ginjal Mencit

\*Titi Pramesti<sup>1)</sup>, Yuyun Nailufar<sup>1)</sup>, Yeni Rahmawati<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan,  
Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia

**\*Corresponding Author:** Titi Pramesti, titipramesti28@gmail.com, Yogyakarta, Indonesia

#### Abstrak

Tahap fiksasi adalah proses pengawetan jaringan untuk mempertahankan struktur jaringan sedekat mungkin sama seperti saat jaringan masih di dalam tubuh. Larutan fiksasi yang digunakan adalah larutan fiksasi bouin, memiliki keunggulan seperti kemampuan penetrasinya cepat ke dalam nukleus dan jaringan ikat akan terpulas dengan baik. Pewarna Hematoksilin Eosin merupakan pewarna histologi yang paling sering digunakan. Hematoksilin akan mewarnai inti menjadi biru sedangkan eosin akan mewarnai sitoplasma menjadi oranye. Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan yang paling sering digunakan untuk percobaan karena memiliki banyak keunggulan, ginjal mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu organ yang paling sering digunakan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kualitas pewarnaan pada inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna berdasarkan variasi waktu fiksasi. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan desain penelitian eksperimental, dan *random sampling* untuk teknik pengambilan sampel. Penelitian ini telah mendapatkan izin etik dari Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Penelitian ini menunjukkan bahwa 24 jam adalah variasi waktu fiksasi terbaik karena menunjukkan inti dan sitoplasma yang jelas dan terwarnai dengan baik, dengan keseragaman warna pada jaringan merata. Hasil Uji *Kruskal Wallis* dan Uji *Man Whitney* menunjukkan adanya perbedaan kualitas pewarnaan dengan signifikan  $p= 0,002$ . Kesimpulan penelitian ini fiksasi selama 24 jam menggunakan larutan bouin merupakan pilihan waktu optimal.

**Kata kunci :** Fiksasi, Larutan bouin, Ginjal mencit, Variasi waktu

#### Abstract

The fixation stage is a tissue preservation process to maintain the tissue structure as close as possible to when the tissue is still in the body. The fixation solution used is Bouin's fixation solution which has advantages such as its ability to penetrate quickly into the nucleus and the connective tissue will be stained well. Hematoxylin Eosin dye is the most commonly used histological dye. Hematoxylin will color the nucleus blue while eosin will color the cytoplasm orange. Mice (*Mus musculus*) are the animals most often used for experiments because they have many advantages, the kidneys of mice (*Mus musculus*) are one of the most frequently used organs. The purpose of this study was to determine the differences in the quality of staining in the nucleus, cytoplasm, and color uniformity based on variations in fixation time. This study uses an experimental research type with an experimental research design and random sampling for the sampling technique. This study shows that 24 hours is the best fixation time variation because it shows a clear and well-stained nucleus and cytoplasm, with uniform color in the tissue evenly. The results of the *Kruskal Wallis* and *Man Whitney* tests showed a significant difference in staining quality with  $p= 0,002$ . This study concludes that 24-hour fixation using Bouin's solution is optimal time.

**Keywords:** Fixation, Bouin solution, Kidney of mice, Time variations

## PENDAHULUAN

Histologi adalah ilmu yang mempelajari tentang penyusunan tubuh yang terdiri dari organ, sel, dan jaringan. Kemudian pengamatan dilakukan dengan metode analitik mikroskopik dan kimia menggunakan mikroskop cahaya atau elektron (Harjana, 2011). Tahapan proses dalam histologi bertujuan memberikan sediaan preparat yang berkualitas agar dapat diamati dan dievaluasi adanya perubahan jaringan manusia atau hewan secara mikroskopis. Umumnya jaringan difiksasi dengan *Neutral Buffered Formalin* 10% (NBF 10%), kemudian dilakukan penanaman dalam parafin cair yang dibiarkan memadat lalu dipotong tipis setebal 3-5  $\mu\text{m}$  secara manual menggunakan mikrotom. Bagian tersebut kemudian dilakukan pewarnaan dengan Hematoksilin Eosin atau metode pewarnaan lain. Semua proses dalam tahapan dan prosedur histologi sangat penting untuk memberikan gambaran jaringan yang berkualitas (Slaou & Fiette, 2011).

Pemrosesan jaringan adalah proses untuk tetap mempertahankan jaringan agar tetap sesuai ketika ditanamkan dalam parafin yang terdiri dari tiga langkah berurutan yaitu dehidrasi, clearing, dan infiltrasi. Pemrosesan jaringan dapat dilakukan secara manual ataupun otomatis. Spesimen jaringan yang akan diproses bisa didapatkan dengan cara yang berbeda yaitu sampel yang diangkat dari pasien biasanya kiriman spesimen sudah dalam fiksasi, artinya spesimen dikirim dalam larutan pengawet. Spesimen yang berasal dari hewan uji coba pada sebuah eksperimen dimulai dengan langkah pengambilan spesimen jaringan pada hewan uji coba yang determinasi. Tahapan proses jaringan dengan parafin yaitu *fixation-dehydration-clearing-embedding-sectioning-mounting* dan *labeling*. Tidak ada standar khusus variasi waktu fiksasi karena setiap SOP laboratorium memiliki variasi waktu yang juga bervariasi. Waktu fiksasi mempengaruhi gambaran kualitas jaringan, namun variasi waktu tidak selalu dapat digunakan sebagai standar dalam pewarnaan di laboratorium (Brilian, 2021).

Lamanya waktu fiksasi merupakan salah satu faktor yang memengaruhi kualitas sediaan, seperti pada fiksasi formalin yang terlalu lama dapat menurunkan kualitas pewarnaan (Likhithaswamy, 2020). Fiksasi adalah salah satu tahapan dalam pemrosesan jaringan yang penting dilakukan dalam histoteknologi karena mempertahankan morfologi, mencegah kerusakan jaringan, dan mencegah kematian sel lebih luas setelah pengambilan jaringan. Fiksasi

jaringan berfungsi untuk mempertahankan morfologi sel dan mempertahankan kondisi jaringan sama seperti saat di dalam tubuh tanpa mengubah bentuk maupun ukuran (Sherwood, 2011).

Larutan fiksasi memiliki dua jenis yaitu larutan sederhana dan larutan majemuk, pada larutan fiksasi sederhana hanya terdiri dari satu macam zat saja sedangkan pada larutan fiksasi majemuk mengandung lebih dari satu macam zat. Larutan fiksasi sederhana mengandung satu macam zat saja seperti formalin 10%, aseton, alkohol, dan metanol. Larutan fiksasi majemuk mengandung lebih dari satu zat seperti larutan fiksasi NBF 10 %, larutan bouin, larutan merkuri klorida, larutan asam asetat glasial (Bhat & Hussein, 2021). Larutan fiksasi bouin terdiri dari asam pikrat 75 ml, formaldehid 25 ml, asam asetat 5 ml, sedangkan untuk formalin menggunakan konsentrasi 40%. Asam pikrat merupakan kristal berwarna kuning cerah sehingga memberikan warna kuning pada larutan bouin (Rolls, 2017). Formaldehid yang dilarutkan dalam air hingga mencapai saturasi 37%-40% w/v umumnya disebut sebagai “formalin” atau “larutan formaldehid pekat”. Asam asetat merupakan salah satu larutan fiksatif yang cepat namun dapat melisiskan eritrosit (Zulda, 2018). Larutan bouin memiliki keunggulan yaitu mempunyai kemampuan penetrasi terhadap jaringan yang lebih cepat pada nukleus dan jaringan ikat akan terpulas dengan baik, namun fiksasi yang terlalu lama membuat jaringan menjadi rapuh sehingga sulit untuk diiris. Larutan bouin dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama sehingga dapat digunakan sewaktu-waktu (Atik, 2019).

Pewarnaan HE merupakan jenis pewarnaan yang paling sering dipakai pada pemrosesan jaringan, sebelum pewarnaan dilakukan ada beberapa tahapan yang harus dilakukan yaitu clearing dan deparafinisasi. Hematoksilin yang bersifat basa akan mewarnai inti sel atau yang bersifat asam sehingga terwarnai oranye-kemerahan. Hematoksilin bekerja sebagai pewarna basa dan eosin bekerja sebagai pewarna asam (Khristian & Inderiati, 2017). Organ yang sering digunakan pada hewan uji coba mencit salah satunya adalah organ ginjal. Ginjal mencit biasanya sering digunakan dalam berbagai jenis penelitian dikarenakan ukuran jaringan ginjal lebih besar dan tidak terlalu lunak dibandingkan dengan organ-organ lainnya seperti jantung, hati, testis dan lain-lain. Organ ginjal dipilih sebagai sampel karena memiliki jaringan ikat yang akan terpulas dengan baik (Nugroho, 2018). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kualitas pewarnaan HE pada variasi waktu fiksasi menggunakan larutan bouin. Kriteria penilaian adalah

kualitas pewarnaan pada inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna, yang diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 x.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah mendapatkan izin etik dari Poltekkes Kemenkes Yogyakarta No.DP.04.03/e-KEPK.1/292/2025. Rancangan penelitian berupa eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil kualitas fiksasi larutan bouin dengan memperhatikan inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna setelah pewarnaan HE.

**Tabel 1. Skoring Penilaian Kualitas Pewarnaan (Sofyanita *et al.*, 2022)**

No	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Skor
1	Warna biru pada inti sel tidak jelas, warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas serta warna pada preparat tidak seragam	Tidak baik	1
2	Warna biru pada inti sel kurang, warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang, serta keseragaman warna pada preparat kurang. Tetapi masih bisa didiagnosis	Kurang baik	2
3	Warna biru pada inti sel, warna merah (eosin) pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam	Baik	3

Penelitian dilakukan pada ginjal mencit yang diamati dibawah mikroskop. Penilaian berdasarkan nilai kontras warna dan keseragaman warna pada Tabel 1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Histologi Universitas Aisyiyah Yogyakarta untuk terminasi mencit dan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Panembahan Senopati untuk pemrosesan jaringan hingga penilaian yang dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi setempat pada bulan Maret 2025. Penelitian ini menggunakan sampel organ ginjal mencit (*Mus musculus*) yang

difiksasi dengan larutan bouin variasi waktu 6 jam, 12 jam, 24 jam, dan kontrol. Masing- masing perlakuan berjumlah 6 sampel organ ginjal. Total sampel yang digunakan 24, diamati menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400 x. Hasil pengamatan berupa *scoring* kualitas pewarnaan pada nukleus, sitoplasma, dan keseragaman warna. Data yang diperoleh dikumpulkan dan dicatat lalu diolah menggunakan Uji *SPSS* versi 27 dengan Uji *Normalitas Shapiro-Wilk* karena sampel  $\leq 50$ , Uji *Normalitas* dilakukan untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Uji hipotesis *Kruskal Wallis* untuk membandingkan penilaian antara 2 atau lebih kelompok tidak berpasangan dan uji *Man-Whitney* untuk membandingkan hasil antara 2 kelompok secara signifikan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan menggunakan organ ginjal mencit yang difiksasi menggunakan larutan bouin yang difiksaasi dengan variasi waktu, kemudian dilakukan pemrosesan jaringan, lalu diwarnai dengan pewarnaan HE.

**Tabel 2. Hasil Skoring Fiksasi Larutan Bouin**

Kriteria Penilaian	Perlakuan 1 (Bouin 6 Jam)						Perlakuan 2 (Bouin 12 Jam)						Perlakuan 3 (Bouin 24 Jam)						Kontrol (NBF 10% 24 Jam)					
Ulangan	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Warna Inti Sel	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	3	3	3	2	3	3	3	3	3
Warna Sitoplasma	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	1	2	1	2	2	3	2	2	2	3	3	3	3	3
Keseragaman Warna	2	3	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Total Skoring	32						31						44						52					
Rata-rata Total Skoring	5,33						5,17						7,33						8,67					

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa hasil fiksasi yang bagus ada pada variasi waktu 24 jam dengan skor yang paling tinggi. Nilai skor 3 menunjukkan nilai kualitas Baik, nilai skor

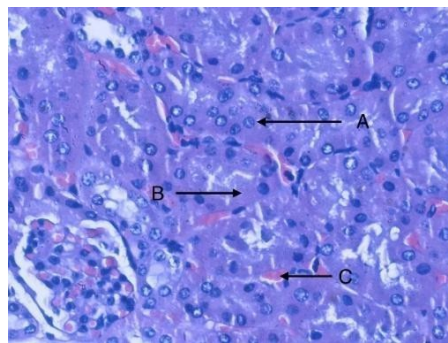
2 menunjukkan nilai kualitas Kurang Baik, nilai skor 1 menunjukkan nilai kualitas Tidak Baik. Total skoring perlakuan 1 (Bouin 6 jam) yaitu 32 dengan rata-rata total skoring 5,33, total skoring perlakuan 2 (Bouin 12 jam) yaitu 31 dengan rata-rata total skoring 5,17, total skoring perlakuan 3 (Bouin 24 jam) adalah 44 dengan rata-rata total skoring 7,33, total skoring kontrol (NBF 10% selama 24 jam) adalah 52 dengan rata-rata total skoring 8,67. Larutan Bouin memiliki kemampuan penetrasi yang cepat kedalam jaringan, namun pada penelitian ini variasi waktu fiksasi 24 jam menunjukkan hasil yang mendekati total skoring dan rata-rata total skoring pada jaringan yang difiksasi dengan NBF 10%. Variasi waktu fiksasi dengan larutan bouin selama 12 jam memiliki total skoring dan rata-rata total skoring yang paling rendah kemudian meningkat lagi pada variasi waktu fiksasi 24 jam dengan larutan bouin, tidak adanya buffer pada larutan bouin menyebabkan larutan ini kurang stabil tidak seperti larutan fiksasi NBF 10%.

**Tabel 3. Hasil Persentase dari Enam Preparat Ginjal Mencit**

<b>Tabel 3. Hasil Persentase dari 6 Preparat Ginjal Mencit</b>									
<b>Kriteria Penilaian</b>	<b>Perlakuan 1 (Bouin 6 Jam)</b>			<b>Perlakuan 2 (Bouin 12 Jam)</b>			<b>Perlakuan 3 (Bouin 24 Jam)</b>		
	<b>Tidak Baik</b>	<b>Kurang Baik</b>	<b>Baik</b>	<b>Tidak Baik</b>	<b>Kurang Baik</b>	<b>Baik</b>	<b>Tidak Baik</b>	<b>Kurang Baik</b>	<b>Baik</b>
Warna Inti Sel	33,33%	66,67%	0,00%	0,00%	100,00%	0,00%	0,00%	33,33%	66,67%
Warna Sitoplasma	50,00%	50,00%	0,00%	50,00%	50,00%	0,00%	16,67%	66,67%	16,67%
Keseragaman Warna	0,00%	83,33%	6,67%	33,33%	66,67%	0,00%	0,00%	33,33%	66,67%

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat pada perlakuan 1 (Bouin 6 jam) kualitas pewarnaan pada inti sel tidak baik 33,33% dan kurang baik 66,7%, kualitas pewarnaan pada sitoplasma tidak baik 50,00% dan kurang baik 50,00%, kualitas keseragaman warna kurang baik 83,33% dan baik 16,67%. Perlakuan 2 (Bouin 12 jam) kualitas pewarnaan pada inti sel kurang baik 100,00%, kualitas pewarnaan pada sitoplasma tidak baik 50,00% dan kurang baik 50,00%, kualitas keseragaman warna tidak baik 33,33% dan kurang baik 66,67%. Perlakuan 3 (Bouin 24

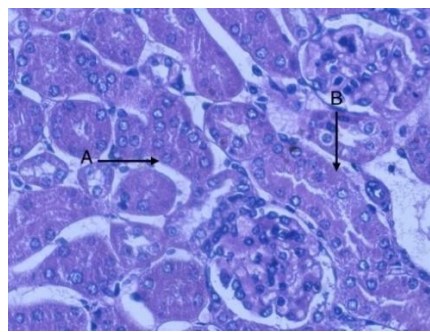
jam) dengan kualitas pewarnaan pada inti sel kurang baik 33,33% dan baik 66,67%, Kualitas pewarnaan pada sitoplasma tidak baik 16,67%, kurang baik 66,67%, baik 16,67%, kualitas keseragaman warna kurang baik 33,33% dan baik 66,67%. Kontrol (NBF 10% 24 jam) memiliki kualitas pewarnaan pada inti sel kurang baik 16,67% dan baik 83,33%, kualitas pewarnaan pada sitoplasma kurang baik 16,67% dan baik 83,33%, kualitas keseragaman warna baik 100,00%. Persentase Baik tertinggi dari kriteria inti sel, dan keseragaman warna, ada pada waktu 24 jam memiliki persentase baik yang paling tinggi walaupun pada kriteria sitoplasma persentase kurang baik sebesar 66,67%, meskipun begitu kualitas warna yang ditunjukkan pada waktu 24 jam tidak jauh berbeda dengan jaringan yang difiksasi dengan NBF 10%.



**Gambar 1. Hasil mikroskopis larutan NBF 10% selama 24 jam sebagai kontrol (400x). A) inti sel, B) sitoplasma, C) Eritrosit**

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan jaringan ginjal yang difiksasi dengan NBF 10% selama 24 jam dengan pewarnaan HE, digunakan sebagai kontrol. Penelitian ini menggunakan NBF 10% sebagai kontrol karena sering digunakan sebagai larutan fiksasi dalam pemrosesan jaringan dan memberikan kualitas warna yang baik pada pewarnaan HE, pada penelitian ini ginjal mencit yang difiksasi dengan NBF 10% menunjukkan kualitas warna yang baik ditunjukkan dengan inti sel terwarnai biru dengan jelas, sitoplasma terwarnai merah dengan jelas, keseragaman warna yang ditunjukkan merata dengan batas antar sel jelas berbeda dengan jaringan ginjal mencit yang difiksasi dengan larutan bouin dengan pewarnaan HE. Jaringan yang difiksasi dengan larutan bouin tidak menunjukkan keberadaan eritrosit karena lisis oleh larutan bouin mengingat adanya komposisi asam asetat pada larutan bouin berbeda dengan jaringan yang difiksasi dengan NBF 10%

menunjukkan adanya eritrosit karena tidak mengandung asam asetat, larutan NBF 10% juga lebih stabil karena adanya buffer sebagai larutan penyangga sehingga hasil pewarnaan lebih jelas dan kontras. Hasil ini sejalan dengan penelitian Fauzi (2018) yang memfiksasi jaringan ginjal dengan NBF 10% menunjukkan hasil bahwa inti sel memiliki warna biru terang, sitoplasma berwarna merah, dengan jaringan ikat dan warna pada preparat seragam. Keberadaan buffer berpengaruh, sehingga struktur sel jaringan yang difiksasi semakin jelas saat terwarnai oleh HE. Buffer merupakan larutan penyangga pada NBF 10% yang mempertahankan pH jaringan pada keasaman yang konsisten dan netral sehingga sifat dan struktur jaringan yang difiksasi tidak berubah (Khristian & Inderiati, 2017). Jaringan ginjal mencit yang difiksasi selama 24 jam dengan larutan NBF 10% digunakan sebagai kontrol dengan total skoring 52 dengan rata-rata total skoring 8,67.

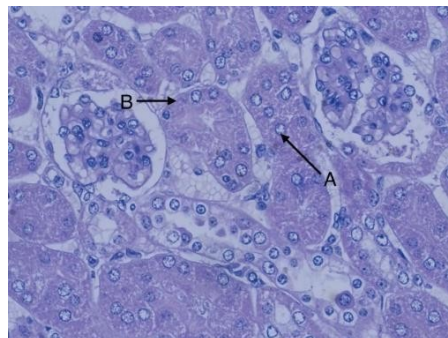


**Gambar 2. Hasil mikroskopis larutan bouin selama 6 jam (400x) A) inti sel, B) sitoplasma**

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan jaringan ginjal mencit yang difiksasi dengan larutan bouin selama 6 jam dengan pewarnaan HE. Inti sel terwarnai menjadi biru namun kurang jelas dengan sitoplasma terwarnai merah namun kurang jelas, walaupun begitu masih bisa digunakan untuk diagnosis. Keseragaman warna pada variasi ini tidak tersebar merata karena terdapat inti dan sitoplasma yang terwarnai dengan baik namun sebagian lainnya kurang terwarnai. Berbeda dengan Gambar 1 kromatin tampak memadat dengan nukleus yang utuh, sedangkan pada Gambar 2 menunjukkan kromatin yang mulai menggumpal walaupun nukleus tampak utuh. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Ellenburg (2020) pada jaringan testis yang difiksasi dengan larutan bouin selama 6 jam. Penelitian tersebut menunjukkan pembersihan nukleus dengan penggumpalan kromatin dalam sel, jaringan yang difiksasi juga menunjukkan lebih banyak variabilitas, kualitas



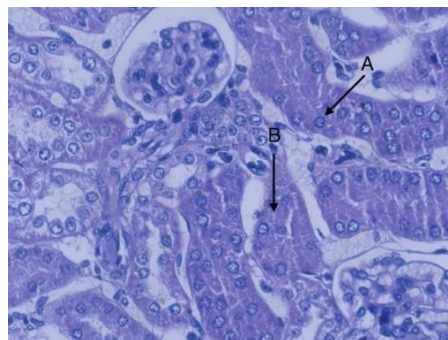
histologi yang lebih rendah untuk detail membran nukleus, granularitas nukleus, dan granularitas sitoplasma. Kualitas warna inti sel memiliki skoring yang paling rendah jika dibandingkan dengan nilai skoring keseragaman warna inti sel pada jaringan yang difiksasi selama 12 jam dan 24 jam dengan larutan bouin. Kualitas warna sitoplasma menunjukkan skoring yang imbang dengan jaringan yang difiksasi selama 12 jam dengan larutan bouin namun lebih rendah jika dibandingkan dengan jaringan yang difiksasi selama 24 jam dengan larutan bouin. Kualitas keseragaman warna pada jaringan ginjal mencit yang difiksasi selama 6 jam dengan larutan bouin memiliki skoring yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan jaringan yang difiksasi selama 12 jam namun tidak lebih bagus dengan jaringan yang difiksasi dengan selama 24 jam dengan larutan bouin. Jaringan ginjal mencit yang difiksasi selama 6 jam dengan larutan bouin memiliki total skoring 32 dengan rata-rata total skoring 5,33 menunjukkan skor yang lebih tinggi dari variasi waktu fiksasi 12 jam dengan larutan bouin namun lebih rendah dari variasi waktu fiksasi 24 jam dengan larutan bouin dan kontrol.



**Gambar 3. Hasil mikroskopis larutan bouin selama 12 jam (400x) A) inti sel, B) sitoplasma**

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan jaringan ginjal mencit yang difiksasi dengan larutan bouin selama 12 jam dengan pewarnaan hematoksin eosin menunjukkan inti sel terwarnai biru namun kurang jelas dan sitoplasma terwarnai merah namun kurang jelas, inti sel dan sitoplasma tidak tersebar merata sebagian terwarnai dengan baik sedangkan lainnya kurang terwarnai. Kromatin pada Gambar 3 menggumpal dipinggiran inti sel sehingga terdapat lubang (hole) pada nukleus. Larutan bouin memiliki penetrasi yang cepat (Atik, 2019), sehingga waktu fiksasi dan tidak adanya buffer pada bouin mempengaruhi struktur jaringan. Berdasarkan Gambar 3 kromatin pada nukleus

semakin menggumpal dan lubang di nukleus semakin jelas bila dibandingkan dengan kerapatan kromatin pada Gambar 2 yang baru mulai menggumpal tidak sebanyak Gambar 3. Kualitas warna inti sel pada jaringan ginjal mencit yang difiksasi selama 12 jam dengan larutan bouin memiliki skoring yang lebih tinggi daripada variasi waktu fiksasi 6 jam namun tidak lebih tinggi dari variasi waktu fiksasi 24 jam dengan larutan bouin. Kualitas warna sitoplasma memiliki skoring yang imbang dengan variasi waktu fiksasi 6 jam namun lebih rendah dari variasi waktu 24 jam dengan larutan bouin. Kualitas keseragaman warna pada jaringan ginjal mencit yang difiksasi selama 12 jam menunjukkan skoring yang paling rendah dari variasi waktu fiksasi 6 jam dan 24 jam dengan larutan bouin. Ginjal mencit yang difiksasi selama 12 jam dengan larutan bouin memiliki total skoring 31 dan rata-rata total skoring 5,17 menunjukkan skoring yang paling rendah daripada variasi waktu fiksasi 6 jam dan 24 jam dengan larutan bouin. Nilai skoring menggambarkan kualitas pewarnaan yang didapatkan dari hasil fiksasi semakin tinggi nilai skoring maka semakin baik kualitas pewarnaan yang diberikan pada variasi waktu tersebut.



**Gambar 4. Hasil mikroskopis larutan bouin selama 24 jam (400x) A) inti sel, B) sitoplasma**

Berdasarkan Gambar 4 menunjukkan jaringan ginjal yang difiksasi dengan larutan bouin selama 24 jam dengan pewarnaan HE menunjukkan kualitas yang lebih bagus dari Gambar 2 dan Gambar 3. Intensitas warna biru pada inti jelas dan intensitas warna merah pada sitoplasma jelas, serta memiliki keseragaman warna yang merata dan seragam. Terdapat inti sel dengan kromatin yang menggumpal sehingga terbentuk lubang (*hole*) di tengah inti namun tidak sebanyak pada Gambar 3. Kromatin tampak menggumpal pada Gambar 4 tidak jauh berbeda dengan Gambar 3, namun sangat jelas perbedaannya bila dibandingkan dengan Gambar 2. Walaupun kromatin tampak

menggumpal karena pengaruh waktu fiksasi, kontras warna pada Gambar 4 menunjukkan kualitas yang baik dengan resolusi yang tinggi bila dibandingkan dengan kontrol NBF. Hasil penelitian ini sebanding dengan penelitian yang dilakukan Atik, Rusmiatik (2019) yang menunjukkan jaringan yang difiksasi dengan larutan bouin terpulas dengan baik, batas antar sel jelas, kenampakan sediaan menunjukkan resolusi yang tinggi, bagian-bagian tubulus semineferus tampak sangat jelas, memiliki latar belakang berwarna merah gelap yang kontras dengan bagian-bagian lain dari jaringan testis. Kualitas warna inti sel pada jaringan ginjal mencit yang difiksasi selama 24 jam dengan larutan bouin menunjukkan skoring yang paling tinggi bila dibandingkan dengan variasi waktu fiksasi 6 jam dan 12 jam dengan larutan bouin. Kualitas warna sitoplasma pada variasi waktu fiksasi 24 jam dengan larutan bouin menunjukkan skoring yang paling tinggi bila dibandingkan dengan variasi waktu fiksasi 6 jam dan 12 jam dengan larutan bouin. Kualitas keseragaman warna variasi waktu fiksasi 24 jam dengan larutan bouin menunjukkan skoring yang paling tinggi bila dibandingkan dengan variasi waktu fiksasi 6 jam dan 12 jam dengan larutan bouin. Jaringan ginjal mencit yang difiksasi selama 24 jam dengan larutan bouin memiliki total skoring 44 dengan rata-rata total skoring 7,33 merupakan hasil skoring yang paling tinggi dan mendekati skoring kontrol NBF 10% bila dibandingkan dengan variasi waktu fiksasi 6 jam dan 12 jam dengan larutan bouin.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada jaringan histologi ginjal mencit yang difiksasi dengan larutan bouin pada variasi waktu 6 jam, 12 jam, dan 24 jam dengan kriteria penilaian adalah kualitas pewarnaan hematoxilin eosin pada inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna. Jaringan yang difiksasi pada Gambar 4 memberikan hasil yang lebih baik daripada Gambar 2 dan Gambar 3. Tidak ditemukan adanya eritrosit pada setiap variasi waktu karena lisis oleh larutan bouin. Asam asetat yang terdapat pada larutan bouin melisiskan eritrosit pada jaringan. Selain itu, Asam asetat juga berperan melarutkan endapan kecil zat besi dan kalsium pada jaringan (Prabandari, 2024). Kromatin pada nukleus juga tampak menggumpal menyisakan ruang kosong ditengah inti yang tampak seperti lubang (hole), lubang terlihat jelas pada jaringan yang difiksasi dengan larutan bouin daripada jaringan yang difiksasi dengan NBF 10%. Nukleus cenderung utuh walaupun terdapat nukleus yang hampir hilang pada Gambar 2 dan Gambar 3. Bouin memiliki penetrasi yang cepat walaupun begitu rentang waktu paling lama pada penelitian ini yaitu variasi waktu 24 jam-lah yang menunjukkan kualitas pewarnaan yang paling baik dari variasi waktu lainnya

mirip dengan kontrol NBF 10%. Total skoring dan rata-rata total skoring pada jaringan ginjal mencit yang difiksasi dengan larutan bouin selama 12 jam lebih rendah daripada variasi waktu fiksasi 6 jam, dan 24 jam dengan larutan bouin, tidak adanya buffer pada larutan bouin menjadikan larutan ini tidak stabil itulah mengapa skoring pada variasi waktu 6 jam lebih tinggi dari 12 jam. Asam pikrat memberikan warna kuning pada larutan bouin dan jaringan yang difiksasi namun dapat dihilangkan dengan dibilas etanol 70% (Leica, 2025). Formaldehid pada larutan bouin berperan sebagai pengawet jaringan.

## SIMPULAN

Kualitas warna inti sel, sitoplasma, dan keseragaman warna pada variasi waktu fiksasi 24 jam dengan larutan bouin menunjukkan hasil yang paling baik daripada variasi waktu fiksasi 6 jam dan 12 jam dengan larutan bouin. Kualitas warna yang ditunjukkan menyerupai jaringan yang difiksasi dengan larutan NBF 10% sebagai kontrol. Fiksasi jaringan dengan larutan bouin selama 24 jam merupakan pilihan waktu optimal serupa dengan jaringan yang difiksasi dengan NBF 10% selama 24 jam sebagai kontrol.

## REFERENSI

- Atik, Rusmiatik. (2019). Perbandingan Fiksasi Larutan Bouin dan Formalin pada Sediaan Preparat Histologi Testis Marmut. *Jurnal Kedokteran*, Vol. 4 (2): 5- 9
- Bhat, A. and S, Hussein. (2021). Fixation and different type of fixatives: Their role and function: A review, *International Journal of Clinical and Diagnostic Pathology Jurnal Labora Medika* Vol. 7 (1): 6-1. 4(4):113-119. DOI: 10.1055/s-0039-1693098,
- Brilian, T, V. (2021). Mikroskopis Jaringan Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) yang Difiksasi dengan Madu Konsentrasi 10 % Selama 24 Jam, *Jaringan Laboratorium Medis*, Vol. 3(02), 127 133.
- Ellenburg, James. (2020). Formalin Versus Bouin Solution for Testis Biopsies: Which Is the Better Fixative?, *Clinical Pathology*. 2020
- Fauzi, Risanto. (2018). Perbandingan Fiksasi BNF 10% dan Aseton pada Jaringan dengan Pewarnaan HE (*Hematoxilin Eosin*).
- Harjana, Tri. (2011). Buku Ajar Histologi Universitas Negeri Yogyakarta: Yogyakarta
- Khristian & Inderiati. (2017). Sitohistoteknologi. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Leica. (2025). Fiksasi dan Zat Fiksatif-Solusi Fiksatif yang Populer: Geoffrey Gulungan. *Leica Biostystem*.

- Likhithaswamy. Madhushankari. Selvamani. Kokila. Mohan Kumar. Chethana K. (2020). Comparison of staining adequacy between tissues stored in formalin and paraffin embedded blocks for prolonged duration. *Joral Maxillofac Pathol.* Vol. 24(3):586
- Nugroho, R. (2018). Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. Mulawarman University Press: Samarinda.
- Prabandari, dkk. (2024). Perbandingan Efektivitas Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dan Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L*) dalam Pemeriksaan Hitung Jumlah Leukosit. *Jurnal Analis Kesehatan*
- Rolls G. (2017). Process of fixation and the nature of fixative. Sherwood L. (2011). Fisiologi manusia: dari sel ke sistema. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Slaoui & Fiette. (2011). Histopathology Procedures: From Tissue Sampling To Histopathological Evaluation. *Methods in Molecular Biology*
- Yohana, Winny. (2017). Perbandingan Cairan Fiksasi Bouin Dengan Buffer Formalin Terhadap Hepar Tikus Putih. *Journal Of Syiah Kuala Dentistry Society* Vol 2 (2):97- 101.