

ARTIKEL PENELITIAN

Variasi Konsentrasi Larutan Fiksasi Etanol Terhadap Kualitas Hasil Pewarnaan Hematoksilin Eosin pada Jaringan Histologi Ginjal Mencit

*Muti'ah Nur Azizah¹⁾, Yuyun Nailufar¹⁾, Yeni Rahmawati¹⁾

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

*Corresponding author: Muti'ah Nur Azizah, mutiah.azizah93@gmail.com, Yogyakarta, Indonesia

Abstrak

Fiksasi merupakan tahap penting dalam pembuatan preparat histologi, yang berperan mempertahankan struktur jaringan agar tetap seperti kondisi aslinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan fiksasi etanol terhadap kualitas hasil pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) pada jaringan histologi ginjal mencit (*Mus musculus*). Penelitian eksperimental laboratorik ini menggunakan tiga variasi konsentrasi etanol (60%, 70%, 80%) dan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% sebagai kontrol, dengan total 24 preparat ginjal mencit. Penilaian kualitas preparat dilakukan berdasarkan parameter warna inti sel, warna sitoplasma, keutuhan morfologi, keseragaman warna, dan pembengkakan inti sel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fiksasi dengan etanol 60% menghasilkan kualitas preparat "Kurang Baik", sedangkan etanol 70% dan 80% menghasilkan kualitas "Baik" yang setara dengan kontrol NBF 10%. Uji statistik *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok etanol 60% dengan kelompok lain ($p < 0,05$), namun tidak terdapat perbedaan signifikan antara etanol 70%, 80%, dan NBF 10%. kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa etanol 70% dan 80% berpotensi sebagai alternatif fiksatif yang efektif dan lebih aman dibandingkan formalin.

Kata kunci : Etanol, Fiksasi, Ginjal mencit, Hematoksilin Eosin

Abstract

*Fixation is a crucial step in the preparation of histology slides, working in maintaining the tissue structure in its original condition. This study aims to determine the effect of variations in the concentration of ethanol fixation solution on the quality of hematoxylin eosin (HE) staining results in mouse (*Mus musculus*) kidney histology tissue. This laboratory experimental study utilized three variations in ethanol concentrations (60%, 70%, 80%) and 10% Neutral Buffered Formalin (NBF) as a control, with a total of 24 mouse kidney slides. The quality of the preparations was assessed based on the parameters of nuclear color, cytoplasmic color, morphological integrity, color uniformity, and nuclear swelling. The results showed that fixation with 60% ethanol produced a preparation of poor quality, while 70% and 80% ethanol produced good quality, equivalent to the 10% NBE control. The Kruskal-Wallis and Mann-Whitney statistical tests showed a significant difference between the 60% ethanol group and the other groups ($p < 0.05$), but there was no significant difference between 70%, 80%, and 10% NBF. The conclusion of this study indicates that 70% and 80% ethanol have the potential to be effective and safer alternative fixatives compared to formalin.*

Keywords: Ethanol, Fixation, Hematoxylin and Eosin, Mouse Kidney

PENDAHULUAN

Histoteknik adalah prosedur yang diperlukan untuk membuat sediaan histologi. Prosedur histoteknik memungkinkan pengamatan fitur mikroskopis sel serta visualisasi jaringan, sehingga mempermudah identifikasi perubahan struktur mikroskopis. Hasil dari proses ini memperlihatkan bentuk, susunan, sitoplasma, inti sel, serat jaringan ikat, jaringan otot, dan komponen lainnya yang dapat dibandingkan dengan jaringan normal (Anggrawati, 2018).

Pengolahan jaringan melibatkan serangkaian prosedur yang saling berkaitan dan saling memengaruhi satu sama lain, seperti fiksasi, dehidrasi, penjernihan, penerapan blok, pemotongan blok, dan pewarnaan. Tujuan utama dari rangkaian proses ini adalah untuk menghasilkan potongan jaringan yang sangat tipis, seringkali dengan ketebalan antara 2 hingga 7 mikrometer, yang kemudian dapat diwarnai dan diperiksa di bawah mikroskop. Media penanaman seperti parafin sangat penting karena memberikan konsistensi yang cukup padat namun memungkinkan pemotongan presisi ini, menghasilkan bagian-bagian jaringan yang jernih dan utuh untuk analisis morfologi (Suvarna, Layton, and Bancroft 2018). Salah satu teknik yang sering digunakan untuk mewarnai jaringan adalah pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE), karena mampu mewarnai inti sel, sitoplasma, serta jaringan ikat. Hematoksilin berfungsi sebagai pewarna bersifat basa, sedangkan Eosin merupakan pewarna yang bersifat asam (Tyas T.; Nuroini, F., 2018).

Fiksasi merupakan langkah awal dalam pembuatan preparat histologi. Tujuan utama dari proses ini adalah untuk menjaga dan mempertahankan kondisi struktur serta komponen jaringan agar tetap menyerupai keadaan aslinya (D. Rusmiatik, 2019). Fiksasi yang optimal sangatlah krusial untuk menghasilkan pewarnaan preparat histologi yang berkualitas. Oleh karena itu, seluruh proses pembuatan preparat histologi harus dilakukan dengan cermat dan tanpa kesalahan (Khristian, 2017). Sumber kesalahan dalam pembuatan spesimen jaringan adalah fiksasi pada jaringan yang terlalu lama. Hal ini merusak sel-sel di dalam jaringan sehingga tidak mudah dibaca di bawah mikroskop. Kesalahan lain yang dapat terjadi adalah salah memotong organ dan tidak segera memperbaiki jaringan. Akibatnya, larutan fiksatif yang diserap ke dalam jaringan menjadi lebih sedikit (Mescher, 2018).

Secara umum, larutan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% dapat digunakan untuk memfiksasi berbagai jenis jaringan, baik yang lunak maupun keras. Namun, penggunaan larutan fiksatif NBF 10% dalam waktu yang terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan. Selain itu, kandungan formaldehida dalam NBF 10% bersifat toksik, baik bagi kesehatan manusia maupun lingkungan. Mengatasi masalah tersebut, diperlukan alternatif larutan fiksatif yang dapat menggantikan peran NBF 10% (Salsabila D.; Wijaya, R., 2023). Variasi konsentrasi etanol dalam

fiksasi dapat mempengaruhi berbagai aspek kualitas preparat histologi, termasuk integritas struktural jaringan, preservasi antigen, dan afinitas pewarnaan. Konsentrasi yang terlalu rendah mungkin tidak cukup untuk menghentikan aktivitas enzim dan mencegah autolisis, sementara konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pengerasan berlebihan pada jaringan (Suvarna *et al.*, 2018).

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan laboratorium yang efisien dan banyak dimanfaatkan dalam berbagai penelitian. Hewan ini mudah dipelihara, memerlukan ruang yang terbatas, memiliki durasi kehamilan yang singkat, serta mampu menghasilkan keturunan dalam jumlah besar (Ngatidjan L., 2016). Ginjal mencit (*Mus musculus*) kerap digunakan sebagai model dalam penelitian karena memiliki kesamaan fisiologis dengan ginjal manusia, khususnya dalam mekanisme pengaturan ekskresi dan menjaga keseimbangan homeostasis (Sari R.; Fitriani, L., 2021). Oleh karena itu, menemukan konsentrasi optimal menjadi tantangan tersendiri yang memerlukan pendekatan sistematis dan analisis yang cermat. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi larutan fiksasi etanol terhadap kualitas hasil pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) pada jaringan histologi ginjal mencit. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan dalam pemilihan konsentrasi etanol yang paling efektif untuk menghasilkan preparat histologi dengan kualitas terbaik, sehingga dapat meningkatkan akurasi dalam analisis histopatologi ginjal.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan kuantitatif kriteria penelitian deskriptif analitik menggunakan objek penelitian berupa eksperimen. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Panembahan Senopati Bantul pada bulan Maret 2025. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan mencit, alat bedah (gunting, pinset, scalpel), *tissue processor*, *embedding cassette*, mikrotom, kaca objek, *cover glass*, mikroskop cahaya, gelas ukur, *waterbath*, pipet, penggaris, alat staining otomatis dan wadah spesimen. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel ginjal mencit jantan, etanol konsentrasi 60%, 70% dan 80%, pewarna hematoksilin, pewarna eosin, paraffin, *xylol*, aquades, bahan anestesi (kolorofom) dan Canada balsam. Prosedur penyiapan preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) diawali dengan pembedahan untuk mengisolasi organ ginjal, kemudian dilanjutkan dengan serangkaian tahapan fiksasi hingga terbentuk sediaan histologis yang siap diamati di bawah mikroskop cahaya. Penelitian ini menggunakan 24 preparat organ ginjal mencit sebagai sampel. Sampel-sampel ini dibagi menjadi empat kelompok perlakuan: fiksasi dengan etanol 60%, 70%, 80%, dan kontrol menggunakan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%. Setiap kelompok

perlakuan terdiri dari 6 preparat ginjal mencit (*Mus musculus*). Penentuan jumlah total sampel didasarkan pada rumus Federer. Selanjutnya, setiap preparat diamati pada satu lapang pandang. Analisis data dilakukan menggunakan *Statistical Program for Social Science* (SPSS) versi 27. Analisis Uji Normalitas digunakan untuk mengevaluasi sebaran data. Didapatkan data tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan Uji *Kruskal wallis*. Penelitian ini telah layak etik dengan nomor *ethical clearance* No.DP.04.03/e- KEPK.1/293/2025 disetujui oleh tim etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

Tabel 1. Skor Histomorfologi (Mawarni F. D. J. 2025; Putri and Sofyanita 2023).

Parameter	Deskripsi	Kategori	Keterangan
1. Warna inti sel	Intensitas warna biru tidak jelas dan tidak bisa untuk diagnosis	1	Tidak baik
	Intensitas warna biru kurang jelas dan masih bisa untuk diagnosis	2	Kurang baik
	Intensitas warna biru jelas	3	baik
2. Warna Sitoplasma	Intensitas warna merah tidak jelas dan tidak bisa untuk diagnosis.	1	Tidak baik
	Intensitas warna merah kurang jelas dan masih bisa untuk diagnosis	2	Kurang baik
	Intensitas warna merah jelas.	3	baik
3. Keutuhan Morfologi	Warna tidak seragam ($>50\%$ warna inti sel dan sitoplasma sebagian jelas dan tidak jelas)	1	Tidak baik
	Warna kurang seragam ($<50\%$ warna inti sel dan sitoplasma sebagian jelas dan tidak jelas)	2	Kurang baik
	Warna seragam (Warna inti sel dan sitoplasma memiliki warna yang jelas dan seragam)	3	baik
4. Keseragaman Warna	Tidak utuh atau pecah-pecah hampir seluruh bagian jaringan dan tidak bisa untuk diagnosis	1	Tidak baik
	Sedikit tidak utuh atau sedikit pecah-pecah tetapi cukup untuk diagnosis	2	Kurang baik
	Relatif utuh atau tidak pecah-pecah dan dapat untuk diagnosis	3	baik
5. Pembekakan Intisel	Jumlah inti sel membengkak dari normalnya/ kontrol $>50\%$ dari sediaan	1	Tidak baik
	Jumlah inti sel membengkak dari normalnya/ kontrol $<50\%$ dari sediaan	2	Kurang baik
	Tidak ada inti sel yang membengkak	3	baik

Skor dari masing-masing kriteria dijumlahkan untuk memperoleh total skor. Total skor inilah yang menjadi dasar penilaian kualitas setiap preparat. Berdasarkan hasil tersebut, preparat dengan nilai total 5–8 dikategorikan sebagai tidak baik, 9–12 sebagai kurang baik, dan 13–15 sebagai baik. Penilaian skor dilakukan oleh dokter patologi anatomi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah melalui proses fiksasi selama 24 jam, keempat larutan uji - meliputi etanol 60%, etanol 70%, etanol 80%, serta NBF 10% sebagai kontrol - menunjukkan karakteristik makroskopis sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil Penilaian Makroskopis

Perlakuan	Konsentrasi						Pemotongan
	Sebelum Fiksasi			Sesudah Fiksasi			
Etanol 60%	Kenyal, lembek atau lunak, tidak keras mudah rapuh			Keras agak lunak			Mudah dipotong
Etanol 70%	Kenyal, lembek atau lunak, tidak keras mudah rapuh			Keras			Agak mudah dipotong
Etanol 80%	Kenyal, lembek atau lunak, tidak keras mudah rapuh			Keras seperti batu kerikil			Sulit dipotong
NBF 10% (Kontrol)	Kenyal, lembek atau lunak, tidak keras mudah rapuh			Agak keras			Mudah dipotong

Tabel 1 menunjukkan hasil penilaian makroskopis ginjal mencit pada setiap perlakuan saat sebelum difiksasi dan sesudah difiksasi. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan dalam karakteristik jaringan setelah fiksasi dengan berbagai konsentrasi etanol. Jaringan yang difiksasi menggunakan etanol 60% menunjukkan tekstur "keras agak lunak" dengan tingkat kemudahan pemotongan yang baik. Konsentrasi 70% menghasilkan jaringan yang lebih keras, tetapi tetap cukup mudah dipotong. Etanol 80% menyebabkan jaringan menjadi sangat keras seperti batu kerikil dan sulit dipotong, mengindikasikan fiksasi berlebihan. Sebagai pembanding, fiksasi menggunakan NBF 10% (kontrol) menghasilkan jaringan dengan kekerasan yang seimbang dan mudah dipotong. Hasil ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi etanol secara signifikan memengaruhi sifat fisik jaringan serta kemudahan pembuatan preparat histologis (Suvarna *et al.*, 2018).

Tabel 2. Rekapitulasi Data Hasil Penilaian Lapang Pandang Preparat Sediaan Jaringan Ginjal Mencit (*Mus musculus*)

Kriteria Penilaian	Perlakuan 1 (Etanol 60%)						Perlakuan 2 (Etanol 70%)						Perlakuan 3 (Etanol 80%)						Kontrol NBF 10%					
	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	3	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3
Warna sitoplasma	2	2	2	2	2	2	3	2	3	2	3	2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3	2	2
Keutuhan Morfologi	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Keseragaman Warna	3	3	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Pembengkakan inti sel	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	3	3

Total Skoring	63	87	86	86
Rata-rata	11,2	14,5	14,5	14,3

Tabel 2 ini merangkum skor kualitas mikroskopis preparat berdasarkan lima parameter: warna inti sel, warna sitoplasma, keutuhan morfologi, keseragaman warna, dan pembengkakan inti sel. Preparat dengan etanol 60% secara konsisten mendapat skor rendah dan dikategorikan sebagai Kurang Baik, terutama karena warna inti sel dan sitoplasma yang kurang jelas. Sebaliknya, preparat dengan etanol 70% dan 80% memperoleh skor tinggi dengan kualitas Baik, setara dengan kontrol NBF 10%. Hasil ini menunjukkan bahwa etanol 70% dan 80% mampu mempertahankan integritas struktur jaringan dan kualitas pewarnaan yang optimal.

Tabel 3. Data Kelompok Kualitas Preparat Sediaan

Kriteria Penilaian	Etanol 60%			Etanol 70%			Etanol 80%			Kontrol (NBF 10%)		
	TB	KB	B	TB	KB	B	TB	KB	B	TB	KB	B
Warna Inti Sel	0%	83%	17%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	17%	83%
Warna Sitoplasma	0%	100%	0%	0%	50%	50%	0%	50%	50%	0%	17%	83%
Keutuhan Morfologi	0%	100%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	100%
Keseragaman Warna	0%	67%	33%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	0%	100%
Pembengkakan Inti sel	0%	100%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%	33%	67%
Total	0%	90%	10%	0%	10%	90%	0%	10%	90%	0%	13%	87%

Tabel 3 memperlihatkan perbandingan kualitas preparat jaringan ginjal mencit berdasarkan jenis fiksatif, yaitu etanol 60%, 70%, 80%, serta kontrol (NBF 10%). Hasil analisis menunjukkan bahwa etanol 70% dan 80% menghasilkan preparat berkualitas “Baik” pada 83% sampel, mendekati hasil kelompok kontrol (NBF 10%) yang mencapai kualitas “Baik” pada seluruh sampel (100%). Sebaliknya, semua preparat yang difiksasi dengan etanol 60% (100%) hanya mencapai kualitas “Kurang Baik”. Hal ini terutama disebabkan oleh ketidaktegasan warna inti sel dan sitoplasma, yang hanya memperoleh sekitar 50–67% dari skor maksimal. Data tersebut mengindikasikan bahwa etanol 70% dan 80% memiliki efektivitas tinggi dalam fiksasi jaringan, dengan tingkat keberhasilan sekitar 90% pada aspek keutuhan morfologi dan keseragaman warna (Rukminingsih, 2020). Persentase ini menunjukkan hasil yang stabil dan mendukung penggunaan etanol konsentrasi tinggi sebagai alternatif fiksatif yang mampu mempertahankan kualitas jaringan histologis. Perhitungan persentase keberhasilan dalam Tabel 4 diperoleh dari proporsi preparat yang mendapat skor 3 pada seluruh parameter terhadap total jumlah preparat di masing-masing kelompok.

Tabel 4. Hasil Uji Normalitas Data

Kualitas Preparat	p value	Keterangan
Etanol 60%	0,006	Normal
Etanol 70%	0,004	Tidak Normal
Etanol 80%	0,004	Tidak Normal
NBF 10% (Kontrol)	0,003	Tidak Normal

Berdasarkan uji normalitas yang tercantum pada Tabel 4 menggunakan metode *Shapiro-Wilk*, diperoleh nilai signifikansi sebesar $p = 0,003$ untuk kelompok kontrol kualitas preparat jaringan ginjal mencit. Karena nilai ini lebih kecil dari $0,05$ ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut tidak mengikuti distribusi normal. Mengingat bahwa distribusi data menunjukkan ketidaknormalan, analisis selanjutnya dilakukan menggunakan uji hipotesis non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Uji ini dipilih untuk membandingkan kualitas preparat di antara empat kelompok yang tidak berpasangan: etanol 60%, 70%, 80%, dan kelompok kontrol (NBF 10%). Selanjutnya, untuk membandingkan dua kelompok secara spesifik, digunakan Uji *Mann-Whitney*.

Tabel 5. Hasil Uji Kruskal Wallis

P value	Keterangan
0,003	Terdapat Perbedaan signifikan

Berdasarkan Tabel 5, hasil dari Uji hipotesis *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa, diperoleh nilai signifikansi sebesar $0,003$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis diterima, yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kualitas pewarnaan preparat jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) pada perlakuan dengan etanol konsentrasi 60%, 70%, 80%, serta kontrol (NBF 10%).

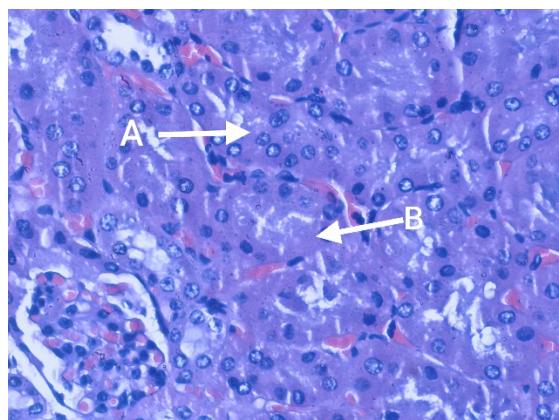
Tabel 6. Hasil Non-Parametrik Man Whitney

Perlakuan	P value	Keterangan
Etanol 60%-Etanol 70%	0,015	Terdapat Perbedaan Signifikan
Etanol 60%-Etanol 80%	0,015	Terdapat Perbedaan Signifikan
Etanol 60%-Kontrol	0,009	Terdapat Perbedaan Signifikan
Etanol 70%-Etanol 80%	1,000	Tidak Terdapat Perbedaan Signifikan
Etanol 70%-Kontrol	1,000	Tidak Terdapat Perbedaan Signifikan
Etanol 80%-Kontrol	1,000	Tidak Terdapat Perbedaan Signifikan

Tabel 6 menunjukkan hasil uji statistik *Mann-Whitney* untuk menentukan perbedaan kualitas preparat histologi ginjal mencit antar pasangan kelompok perlakuan. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok etanol 60% dengan etanol 70%, 80%, dan kontrol (NBF 10%) dengan nilai $p < 0,05$. Kualitas preparat yang dihasilkan oleh etanol 60% terbukti secara statistik lebih rendah dibandingkan dengan kelompok pembanding lainnya. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara etanol 70%, 80%, dan kontrol ($p = 1,000$),

menandakan bahwa ketiga perlakuan tersebut memberikan kualitas preparat yang serupa dan optimal. Hasil ini mendukung bahwa etanol pada konsentrasi 70% dan 80% bisa menjadi alternatif fiksatif yang setara dengan NBF 10%.

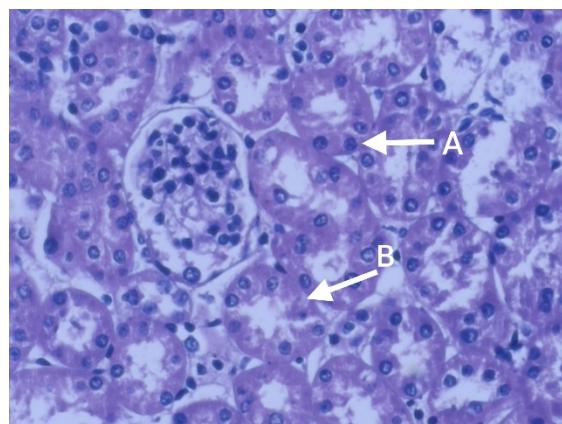
Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%



Gambar 1. Hasil mikroskopis histologi ginjal mencit yang difiksasi kontrol (NBF 10%) perbesaran 400x.
A) Inti Sel, dan B) Sitoplasma.

Gambar 1 menunjukkan gambaran hasil mikroskopis histologi ginjal mencit yang difiksasi dengan NBF 10% sebagai kontrol pada perbesaran 400x. Gambar tersebut menunjukkan struktur utama ginjal seperti inti sel, glomerulus, tubulus kontortus distal, tubulus kontortus proksimal, dan eritrosit tampak jelas dan utuh. Pewarnaan hematoksilin eosin menunjukkan kontras yang baik antara inti sel (A) yang berwarna biru-ungu dan sitoplasma (B) yang berwarna merah muda, serta keutuhan morfologi jaringan yang optimal. Hal ini menandakan bahwa proses fiksasi dengan NBF 10% mampu mempertahankan integritas jaringan, mencegah autolisis, dan memberikan hasil pewarnaan yang maksimal. Gambar tersebut terlihat inti sel dan sitoplasma yang terwarnai dengan baik dan keseragaman warna yang dihasilkan dari pewarnaan hematoksilin eosin. NBF 10% adalah standar emas dalam fiksasi jaringan histologi karena kemampuannya dalam mempertahankan struktur sel dan jaringan dengan baik serta menghasilkan kualitas pewarnaan HE yang optimal (Suwarna *et al.*, 2018). Selain itu, NBF 10% juga banyak digunakan di laboratorium histopatologi karena dapat digunakan untuk berbagai jenis jaringan, baik lunak maupun keras (Rusmiatik, 2019). Namun, penggunaan NBF 10% dalam waktu yang terlalu lama dapat menyebabkan pengerasan jaringan dan menurunkan kualitas morfologi, sehingga diperlukan waktu fiksasi yang tepat (Qatrunnada Salsabila *et al.*, 2023).

Etanol 60%

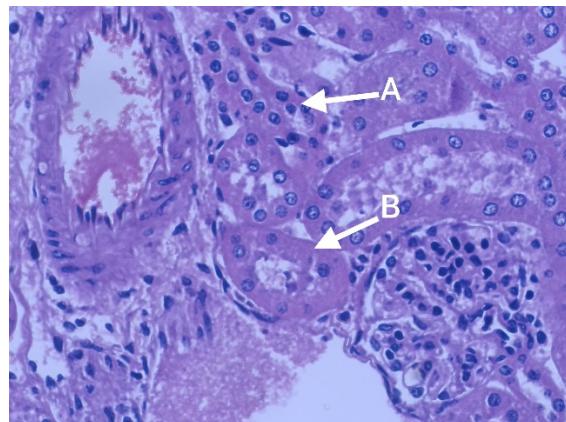


Gambar 2. Hasil mikroskopis histologi ginjal mencit yang difiksasi etanol 60%. perbesaran 400x.

A) Inti Sel, dan B) Sitoplasma.

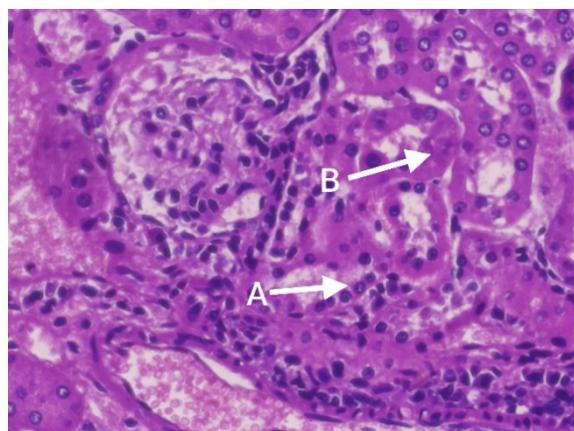
Gambar 2 menunjukkan hasil mikroskopis jaringan ginjal mencit yang difiksasi menggunakan etanol 60% pada perbesaran 400x. Gambar tersebut menunjukkan struktur inti sel dan sitoplasma masih dapat diidentifikasi, namun kualitas pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) tergolong kurang optimal. Warna inti sel (A) berwarna biru-ungu dan sitoplasma (B) berwarna merah muda tampak kurang tegas dan tidak homogen, serta terdapat indikasi pembengkakan inti sel dan kerusakan morfologi jaringan. Hal ini menunjukkan bahwa etanol 60% tidak mampu mempertahankan integritas struktur sel secara maksimal, sehingga menghasilkan preparat dengan kualitas Kurang Baik (Tabel 3). Konsentrasi etanol di bawah 70% kurang efektif dalam menghentikan aktivitas enzim dan mencegah autolisis, yang berpotensi menyebabkan degradasi jaringan (Suvarna C.; Bancroft, J. D., 2018). Temuan ini sejalan dengan penelitian yang melaporkan bahwa etanol 50% menghasilkan pewarnaan HE yang kurang tajam dibandingkan NBF 10% (Dewi, Muliarta, and Suwitra 2020). Fiksasi jaringan dengan etanol di bawah 70% menghasilkan preparat dengan warna inti sel dan sitoplasma yang tidak tajam serta keutuhan morfologi yang kurang baik jika dibandingkan dengan konsentrasi etanol yang lebih tinggi atau NBF 10% (Q Salsabila *et al.*, 2023).

Etanol 70%



Gambar 3. Hasil mikroskopis histologi ginjal mencit yang difiksasi Etanol 70% perbesaran 400x.
A) Inti Sel, dan B) Sitoplasma.

Gambar 3 menunjukkan hasil mikroskopis jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang difiksasi menggunakan etanol 70% dengan perbesaran 400x. Gambar tersebut menunjukkan bahwa struktur inti sel (A) berwarna biru-ungu dan sitoplasma (B) berwarna merah muda tampak jelas dan kontras, menunjukkan kualitas pewarnaan hematoksilin eosin yang optimal. Morfologi jaringan, termasuk glomerulus, tubulus kontortus distal, dan tubulus kontortus proksimal, terlihat utuh tanpa adanya kerusakan atau artefak yang signifikan. Hasil ini sejalan dengan temuan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa etanol 70% mampu mempertahankan integritas struktur sel dan jaringan serta menghasilkan pewarnaan yang setara dengan NBF 10% (Q Salsabila *et al.*, 2023; Suvarna C.; Bancroft, J. D., 2018). Keseragaman warna dan ketajaman detail morfologis pada preparat mengindikasikan bahwa etanol 70% efektif dalam mencegah autolisis dan mengawetkan komponen seluler. Etanol 70% dapat berperan sebagai fiksatif alternatif yang aman dan efektif untuk preparat histologi ginjal mencit, terutama dalam meminimalkan dampak toksisitas formalin tanpa mengurangi kualitas hasil.

Etanol 80%

Gambar 4. Hasil mikroskopis histologi ginjal mencit yang difiksasi Etanol 80% perbesaran 400x.
A) Inti Sel, dan B) Sitoplasma.

Gambar 4 menunjukkan hasil mikroskopis jaringan ginjal mencit yang difiksasi menggunakan etanol 80% dan diwarnai dengan Hematoksilin Eosin (HE) pada perbesaran 400x. Gambar tersebut memperlihatkan struktur utama ginjal seperti inti sel (A) yang berwarna biru-ungu, sitoplasma (B) yang berwarna merah muda, glomerulus, tubulus kontortus distal, dan tubulus kontortus proksimal tampak jelas dan terdefinisi dengan baik, menunjukkan bahwa etanol 80% mampu mempertahankan integritas morfologi jaringan serta menghasilkan kontras warna yang optimal antara inti sel dan sitoplasma (Suvarna C.; Bancroft, J. D., 2018). Namun, meskipun kualitas pewarnaan dan detail morfologinya terjaga, fiksasi dengan etanol 80% menyebabkan jaringan menjadi lebih keras dan rapuh, sehingga meningkatkan risiko artefak seperti retakan atau penggerutan selama proses pemotongan dengan mikrotom (Rukminingsih, 2020). Jaringan yang menjadi keras dan sulit dipotong disebabkan oleh efek kuat etanol dalam mendehidrasi sel secara berlebihan serta kemampuannya dalam mendenaturasi protein secara permanen. Proses dehidrasi ekstrem ini mengakibatkan hilangnya air dari dalam sel, yang kemudian memicu penyusutan sel dan pemanjangan matriks ekstraseluler. Di sisi lain, denaturasi protein menyebabkan hilangnya struktur tiga dimensi alami pada protein, sehingga protein menggumpal dan membentuk jaringan yang kaku akibat ikatan silang. Kombinasi kedua mekanisme tersebut membuat jaringan ginjal kehilangan kelenturan, menjadi rapuh namun keras, dan menyulitkan pemotongan menggunakan mikrotom (Hasan T. S., 2018). Konsentrasi etanol di atas 70% dapat mengakibatkan pengerasan jaringan yang signifikan, meskipun tidak mengurangi kualitas pewarnaan (Qatrunnada Salsabila *et al.*, 2023). Meskipun etanol 80% efektif dalam mempertahankan struktur dan warna jaringan, kekurangan dalam hal kemudahan pemrosesan jaringan perlu dipertimbangkan dalam penerapannya di laboratorium histologi rutin (Dewi and Komohara, 2020).

Fiksasi dengan etanol bekerja melalui mekanisme dehidrasi dan denaturasi protein (koagulan), yang berbeda secara fundamental dari formalin yang bekerja dengan ikatan silang (cross-linking). Perbedaan mekanisme ini menjelaskan hasil pengamatan mikroskopis, di mana etanol 60% kurang efektif dalam mencegah autolisis dan degradasi jaringan dibandingkan NBF 10% (Suvarna C.; Bancroft, J. D., 2018). Sebaliknya, etanol 70% dan 80% menunjukkan efektivitas yang sebanding dengan NBF 10% karena konsentrasi yang lebih tinggi ini mampu mendenaturasi protein secara lebih efisien, sehingga menstabilkan struktur sel dan mencegah perubahan pasca-kematian (post-mortem) (Salsabila, 2023). Meskipun etanol 80% efektif, konsentrasi yang terlalu tinggi cenderung menyebabkan jaringan menjadi sangat keras seperti batu kerikil dan rapuh, yang dapat menimbulkan artefak pemotongan, sebuah pertimbangan penting dalam penerapan rutin di laboratorium histologi (Rukminingsih, 2020).

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa konsentrasi etanol berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan HE pada jaringan ginjal mencit. Preparat dengan NBF 10% (Gambar 1) dan etanol 70% (Gambar 3) menunjukkan hasil optimal, dengan morfologi terjaga serta warna inti sel dan sitoplasma yang jelas. Etanol 60% (Gambar 2) menghasilkan warna kurang tegas dan struktur tidak utuh, sedangkan etanol 80% (Gambar 4) memberikan pewarnaan baik namun jaringan terlalu keras dan sulit dipotong. Etanol 70% terbukti menjadi alternatif fiksatif yang efektif dan sebanding dengan NBF 10%, sedangkan etanol 80% memerlukan pertimbangan teknis. Preparat yang difiksasi dengan etanol 70% dan 80% memperlihatkan struktur mikroskopis yang utuh, sementara etanol 60% menunjukkan pewarnaan pudar dan kehilangan detail seperti eritrosit, menegaskan rendahnya kualitas fiksasinya.

SIMPULAN

Kualitas pewarnaan hematoksilin eosin pada jaringan histologi ginjal mencit bergantung pada konsentrasi etanol yang digunakan dalam proses fiksasi jaringan. Preparat yang difiksasi dengan etanol 70% dan 80% menunjukkan kualitas yang setara dengan fiksatif standar NBF 10%, baik dalam evaluasi makroskopis maupun mikroskopis, dengan skor penilaian tinggi dan struktur jaringan yang terdefinisi dengan baik. Sebaliknya, etanol 60% menghasilkan kualitas preparat yang kurang optimal. Oleh karena itu, etanol 70% dan 80% dapat digunakan sebagai alternatif fiksatif yang efektif dan lebih aman dibandingkan formalin.

REFERENSI

- Anggrawati, T. 2018. *Histoteknik: Panduan Praktis Prosedur Histologi*. Pustaka Medika.
- Dewi, A. K., and C. A. Komohara. 2020. "Brain Structure Morphology after Being Fixated with Ethanol on Electron Microscope." *International Journal of Morphology* 38(2 SP 305):308. doi:

- 10.4067/S0717-95022020000200305.
- Dewi, N. P. A., I. M. Muliarta, and K. Suwitra. 2020. "Perbandingan Efektivitas Fiksasi Eтанol 50% Dan NBF 10% Terhadap Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin Pada Jaringan Otak Mencit." *Jurnal Biomedik* 13(2):123–30.
- Hasan T. S., A. H. .. Al-Zehari. 2018. "Comparison of Different Fixatives on Tissue Structure and Staining Quality of Various Tissues." *Iraqi Journal of Veterinary Sciences* 32(2):263–68.
- Khristian, R. 2017. *Kesalahan Dalam Proses Histologi Dan Cara Menghindarinya*. Medika Science Press.
- Mawarni F. D. J., B. .. Sayekti. 2025. "Efek Nefroprotektif Jintan Hitam (Nigella Sativa L.) Terhadap Ginjal Rattus Norvegicus Yang Diinduksi Aspartam Berdasarkan Gambaran Histopatologi." *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains* 8(1):37–43. doi: 10.24246/juses.v8i1p37-43.
- Mescher, A. L. 2018. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*. 15th ed. McGraw-Hill Education.
- Ngatidjan L., R. .. Hakim. 2016. "Teknik Manajemen Dan Pengelolaan Hewan Percobaan." *Jurnal Kedokteran Hewan* 10(1):55–62.
- Putri, Rihanesa Diana, and Eko Naning Sofyanita. 2023. "Perbedaan Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin (He) Pada Histologi Kolon Mencit (Mus Musculus) Berdasarkan Ketebalan Pemotongan Mikrotom 3, 6, dan 9 Mm." *Jurnal Labora Medika* 7:31–38.
- Rukminingsih, D. 2020. "Efektivitas Eтанol 70% Dan 80% Sebagai Fiksatif Alternatif Pada Preparat Histologi Jaringan." *Jurnal Teknologi Laboratorium* 9(2):89–95.
- Rusmiatik. 2019. *Teknik Histologi Dasar*. Deepublish.
- Rusmiatik, D. 2019. *Prosedur Fiksasi Dalam Histologi*. Penerbit Kesehatan Nusantara.
- Salsabila D.; Wijaya, R., R. .. Nasution. 2023. "Pengaruh Variasi Waktu Dan Konsentrasi Eтанol Terhadap Kualitas Preparat Histologi Jaringan Ginjal." *Jurnal Ilmu Kesehatan* 12(1):45–52.
- Salsabila, D. 2023. "Pengaruh Variasi Waktu Dan Konsentrasi Eтанol Terhadap Kualitas Preparat Histologi Jaringan Ginjal." *Jurnal Ilmu Kesehatan* 12(1):45–52.
- Salsabila, Q, A. Durachim, W. Wiryanti, and M. Rahmat. 2023. "Comparison of the Quality of Kidney Tissue Histology." *Jurnal Kesehatan Siliwangi* 4(1):327–33.
- Salsabila, Qatrunnada, Adang Durachim, Wiwin Wiryanti, and Mamat Rahmat. 2023. "Comparison of the Quality of Kidney Tissue Histology." *Jurnal Kesehatan Siliwangi* 4(1):327–33.
- Sari R.; Fitriani, L., D. P. .. Utami. 2021. "Perubahan Histopatologi Ginjal Mencit (Mus Musculus) Akibat Pembatasan Pemberian Air Minum." *Jurnal Ilmu Kedokteran Hewan* 12(2):45–52.
- Suvarna C.; Bancroft, J. D., S. K. .. Layton. 2018. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques (8th Ed.)*. Elsevier Health Sciences.
- Suvarna, S. K., C. Layton, and J. D. Bancroft. 2018. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 8th ed. Elsevier Health Sciences.
- Tyas T.; Nuroini, F., R. .. Ariyadi. 2018. "Gambaran Mikroskopis Kualitas Sediaan Jantung Yang Difiksasi Dengan Alkohol 70% Dan NBF 10% Pada Pewarnaan HE." Universitas Muhammadiyah Semarang.