

PERBANDINGAN FIKSASI MENGGUNAKAN GULA PASIR TEBU DAN *NEUTRAL BUFFER FORMALIN* TERHADAP KEUTUHAN SEL

Pratiwi, Nita Yulia¹; Durachim, Adang¹; Mahmud, Dani²; Gusnandjar, Agus²

¹ Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Bandung, Indonesia

² Rumah Sakit Hasan Sadikin, Indonesia

Email: nita.yulp@gmail.com

ABSTRAK

Formalin adalah zat fiksatif yang paling umum digunakan dalam diagnostik patologi. Ia mampu menampilkan morfologi, limfosit, detail inti, dan pewarnaan yang sangat baik. Namun, penggunaan formalin sebagai zat fiksasi rutin memberikan dampak buruk bagi penggunanya. Standar pengaturan OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) menyatakan bahwa formalin adalah zat yang berbahaya, Paparan secara akut dapat menyebabkan iritasi pada mata, hidung, dan tenggorokan. Selain itu ia juga dapat menimbulkan reaksi alergi dan karsinogenik pada pengguna. Oleh karenanya, dalam upaya untuk meminimalisir penggunaan formalin tersebut, beberapa penelitian menyebutkan bahwa pemanis alami seperti gula pasir dapat digunakan sebagai alternatif fiksasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan larutan gula pasir sebagai alternatif fiksasi dalam memfiksasi jaringan hati dilihat dari keutuhan sel berupa morfologi dan jumlah sel serta mencari konsentrasi optimum dari larutan tersebut dengan membandingkannya pada NBF 10%. Metode yang digunakan adalah *Static Group Comparison*. Penelitian ini menggunakan subjek hewan uji (kelinci) sebanyak 1 ekor. Data diperoleh dari hasil skoring pada saat pengamatan. Pengolahan data menggunakan *Kruskal Wallis Mann Whitney* pada konsentrasi glukosa 15% dan glukosa 5% menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada parameter jumlah vena sentral jika dibandingkan dengan NBF 10%. Sedangkan pada konsentrasi glukosa 10% jika dibandingkan dengan NBF 10% menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada parameter jumlah vena sentral dan *triad portal*, serta keutuhan vena sentral, *triad portal*, hepatosit, dan sinusoid. Dari analisis tersebut, dapat disimpulkan bahwa gula pasir dengan konsentrasi glukosa 10% dapat dijadikan sebagai alternatif fiksasi untuk mengamati keutuhan sel.

Kata kunci: Gula pasir, Hematoksin Eosin, Keutuhan Sel Hati

ABSTRACT

Formalin is the most common fixative agent used in diagnostic pathology. It is able to display excellent morphology, lymphocytes, core details, and color. However, the use of formaldehyde as a routine fixation has a detrimental effect to its users. The OSHA (Occupational Safety and Health Administration) standard states that formalin is a dangerous substance. Acute exposure can cause irritation to the eyes, nose and throat. In addition, it can also cause allergic and carcinogenic reactions to users. Therefore, in an effort to minimize the use of formalin, several studies said that natural sweeteners such as sugar can be used as an alternative fixation. The purpose of this study was to determine the ability of the sugar solution as alternative fixation to fix the liver tissue assessed from the cell integrity like form of morphology and amount of cells, also looking for the optimum concentration of the solution compared with 10% NBF. The method used was Static Group Comparison. This study used the subject of 1 animals test (rabbits). Data obtained from the results of scoring at the time of observation. Data processing using Kruskal Wallis Mann Whitney at concentration of 15% glucose and 5% glucose showed no significant difference in amount of central vein parameters when compared with 10% NBF. Whereas at 10% glucose concentration when compared with 10% NBF, there was no significant difference in the parameters of the number of central veins and portal triads, as well as central venous integrity, portal triads integrity, hepatocytes integrity, and sinusoids integrity. From the analysis, it can be concluded that sugar with a 10% glucose concentration can be used as an alternative fixation to observe cell integrity.

Keywords: Sugar, Haematoxylin Eosin, Liver Cell Integrity

PENDAHULUAN

Fiksasi merupakan tahapan awal yang sangat penting dalam pembuatan preparat histopatologi karena secara teknis bertujuan untuk mencegah terjadinya perubahan jaringan akibat autolisis atau dekomposisi yang berujung pada kematian sel dan penghancuran sel^{1,2}. Preparat histopatologi dikatakan baik apabila dalam sediaan tersebut mampu memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma sel, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan saat dalam kondisi hidup³. Standar waktu fiksasi yang umum digunakan adalah 24 jam.

Formalin adalah zat fiksatif yang paling umum digunakan dalam diagnostik patologi karena ia mampu menampilkan morfologi, limfosit, detail inti, dan pewarnaan yang sangat baik⁴. Pada fiksasi kimia, zat yang biasa digunakan adalah formaldehid dalam bentuk *buffer netral formalin 10%* (NBF 10%)⁴. Alasan digunakannya cairan ini karena penggunaannya lebih mudah dan dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam kurun waktu yang cukup lama.

Namun, penggunaan formalin sebagai zat fiksasi rutin memberikan dampak buruk bagi penggunanya. Standar pengaturan OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) menyatakan bahwa formalin adalah zat yang berbahaya, Paparan secara akut dapat menyebabkan iritasi pada mata, hidung, dan tenggorokan. Selain itu, ia juga dapat menimbulkan reaksi alergi dan karsinogenik pada pengguna⁵. Penelitian yang dilakukan Lu, dkk menunjukkan bahwa inhalasi formalin dapat mengakibatkan terjadinya modus aksi genotoksik dan sitotoksik untuk karsinogenik pada epithelium nasal⁶. Selain itu, formalin juga bersifat tidak ramah lingkungan⁷.

Oleh karenanya, dalam upaya untuk meminimalisir penggunaan formalin sebagai zat fiksatif, beberapa studi menyatakan bahwa pemanis alami seperti madu, larutan gula pasir, dan larutan gula tebu dapat digunakan sebagai pengganti alternatif dari formalin ini.

Saccarum officinarum merupakan spesies tebu yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia⁸. Gula pasir merupakan produk utama dari nira tebu yang umum ditemui dimasyarakat. Harga yang ditawarkanpun tergolong murah dan tentu saja bersifat ramah lingkungan karena ia merupakan salah satu jenis pemanis alami. Selain sebagai pemanis, gula juga umum digunakan sebagai stabilizer dan pengawet⁹. Gula pasir ini umumnya mengandung sukrosa dengan kadar 97,1%, gula reduksi 1,24%, air 0,61%, dan senyawa organik bukan gula sebanyak 0,7%¹⁰.

Sukrosa akan terhidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa lalu dalam suasana asam akan berubah menjadi aldehyde yang kemudian akan berikatan silang dengan asam amino pada jaringan dan memfiksasinya. Hal ini sesuai dengan mekanisme fiksasi yang dilakukan oleh formaldehyde¹¹.

Melihat kandungan sukrosa yang cukup tinggi yang dimiliki oleh gula pasir dan bagaimana mekanisme dari pengawetan jaringan tersebut, maka dilakukan perbandingan fiksasi rutin antara gula pasir dari tebu dan *neutral buffer formalin* 10% dilihat dari keutuhan sel hati.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental, dengan desain metode *Static Group Comparison* dan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari variabel independen dan variabel dependen. Variabel independen dalam penelitian ini adalah larutan

gula pasir dari tebu dengan konsentrasi glukosa 5%, 10%, dan 15% yang digunakan sebagai larutan fiksasi alternatif pada jaringan hati kelinci, sedangkan variabel dependennya adalah keutuhan sel dilihat dari jumlah vena sentral dan *triad portal* serta kualitas morfologi vena sentral, *triad portal*, sinusoid, dan hepatosit.

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) dewasa galur New Zealand white dengan kisaran umur 4-5 bulan dan berat badan 2-3 gram. Sedangkan sampel yang digunakan adalah 1 buah hati kelinci dengan jumlah unit eksperimennya 27 unit.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Mei 2019 meliputi pengumpulan data pustaka, pemilihan hewan uji, penentuan nilai skoring, uji kadungan glukosa pada gula pasir, persiapan sampel hati dari hewan uji, proses jaringan, proses pewarnaan jaringan, pengamatan jaringan dan analisis hasil pengamatan dalam bentuk skoring. Uji kadungan glukosa pada gula pasir dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar jurusan Analis kesehatan Poltekkes Bandung. Proses jaringan, proses pewarnaan jaringan, serta pengamatan jaringan dilakukan di Laboratorium Histologi jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Bandung.

Perhitungan jumlah vena sentral dan *triad portal* yang difiksasi gula pasir dalam penelitian ini akan dikonversi ke dalam bentuk skoring setelah dilakukan perbandingan dengan jumlah yang ditemukan pada jaringan yang difiksasi oleh NBF10%. Sedangkan hasil perhitungan kualitas morfologi sel langsung ditetapkan nilai skoringnya berdasarkan hasil pengamatan.

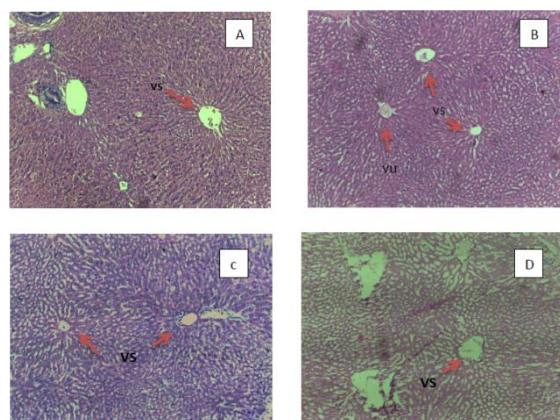
Analisis data yang digunakan adalah data primer hasil evaluasi metode skoring dari keutuhan sel yang difiksasi rutin oleh larutan gula pasir (5%, 10%, 15%) dibandingkan

dengan hasil evaluasi metode skoring yang difiksasi oleh NBF 10%, dimana perbandingan tersebut akan diolah oleh *Kruskals Wallis Mann Whitney* dan ditampilkan dalam bentuk tabel.

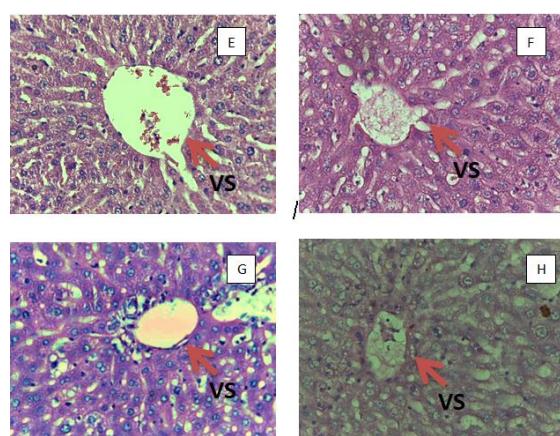
HASIL

Berikut adalah perbandingan preparat jaringan yang difiksasi oleh NBF 10% dan gula pasir berbagai konsentrasi beserta makna skoringnya dilihat dari kualitas keutuhan sel.

1. Kualitas morfologi vena sentral



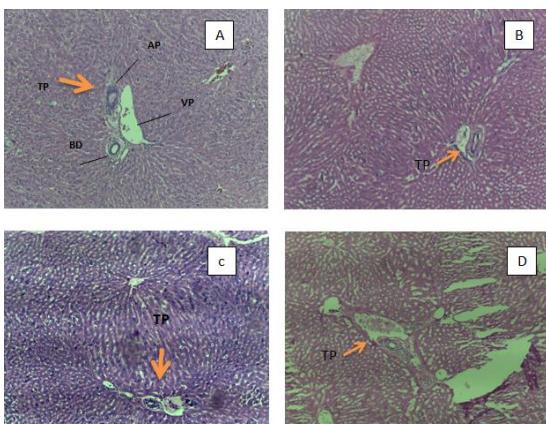
Gambar 1. Perbandingan kualitas morfologi vena sentral perbesaran lensa objektif 10x. A: difiksasi oleh NBF10%. B: difiksasi G15%. C: difiksasi G10%. D: difiksasi G5%.



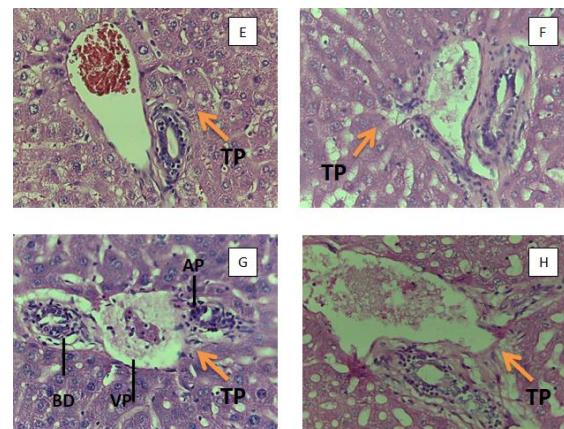
Gambar 2. Perbandingan kualitas morfologi vena sentral perbesaran lensa objektif 40x. E: difiksasi oleh NBF10%. F: difiksasi G15%. G: difiksasi G10%. H: difiksasi G5%.

Penilaian morfologi keutuhan vena sentral diambil berdasarkan nilai skoring 0, 1, dan 2. Untuk makna dari skor 0, artinya tidak ditemukan vena sentral pada lapang pandang yang dimaksud, sehingga kualitas morfologi vena sentral tidak dapat dinilai. Untuk makna dari skor 1, secara bentuk keutuhan vena sentral dapat dikatakan utuh dilihat dari perbesaran lensa objektif 10x dengan diameter vena sentral $>1\text{cm}$ pada perbesaran 40x, namun garis tepi dari vena sentral kurang tegas ketika dilihat pada perbesaran lensa objektif 40x. (gambar F dan H) Sedangkan untuk nilai skoring yang menunjukkan skor 2 memiliki makna dari segi bentuk menunjukkan keadaan yang utuh dengan garis tepi sel yang tegas dan jelas dengan diameter vena sentral $>1\text{cm}$ pada perbesaran 40x (gambar E dan G).

2. Kualitas morfologi *Triad portal*



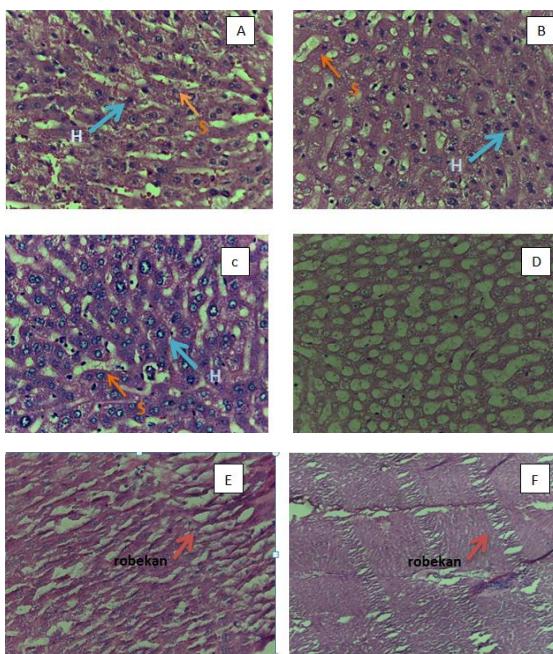
Gambar 3. Perbandingan kualitas morfologi *triad portal* perbesaran lensa objektif 10x. A: difiksasi oleh NBF 10%. B: difikasi G15%. C: difiksasi G 10%. D: difikasi G5%.



Gambar 4. Perbandingan kualitas morfologi *triad portal* perbesaran lensa objektif 40x. E: difiksasi oleh NBF 10%. F: difikasi G15%. G: difiksasi G 10%. H: difikasi G5%.

Penilaian kualitas morfologi *triad portal* diambil berdasarkan nilai skoring 0, 1, dan 2. Untuk makna dari skor 0, artinya tidak ditemukan *triad portal* pada lapang pandang yang dimaksud, sehingga kualitas morfologi *triad portal* tidak dapat dinilai. Untuk makna dari skor 1, secara bentuk morfologi *triad portal* dapat dikatakan utuh dilihat dari perbesaran lensa objektif 10x (gambar B dan D), namun ketika dilihat pada perbesaran lensa objektif 40x, terlihat gambaran garis tepi pada vena portal kurang tegas, keutuhan limfosit yang mengelilingi *biliary duct* pun kurang tersusun rapi dan tampak tidak jelas. (gambar F dan H) Sedangkan untuk nilai skoring yang menunjukkan skor 2 memiliki makna dari segi morfologi menunjukkan keadaan yang utuh dimana komponen penyusunnya yakni vena portal, *biliary duct*, dan arteri portal lengkap dengan masing-masing garis tepi yang terlihat jelas baik pada perbesaran lensa objektif 10x maupun 40x. (gambar A, C, E, dan G).

3. Kualitas morfologi hepatosit dan sinusoid



Gambar 5. Perbandingan kualitas morfologi hepatosit dan sinusoid perbesaran lensa objektif 40x. A: difiksasi oleh NBF 10%. B: difiksasi G15%. C: difiksasi G 10%. D, E, F: difiksasi G5%.

Penilaian kualitas morfologi hepatosit dan sinusoid diambil berdasarkan nilai skoring 0, 1, dan 2. Makna dari skor 0 untuk hepatosit digambarkan bahwa inti sel hepatosit memadat dan mengecil, bahkan kebanyakan sudah tak memiliki inti. Kondisi sitoplasmanya pun tidak beraturan sebagaimana mestinya serta penyerapan terhadap warnanya pun kurang. Banyak pula ditemukan lubang-lubang kosong dalam satu lapang pandang (gambar D). Makna skor 1 untuk hepatosit terlihat gambaran inti yang dominan mulai mengecil, tidak ditemukan anak inti, dengan garis tepi sitoplasmanya kurang jelas, namun masih dapat diidentifikasi. Untuk makna skor 2 pada sel hepatosit terlihat inti sel bulat dengan garis tepi inti sel yang jelas (gambar B). Kondisi sitoplasmanya pun terlihat utuh dengan gambaran garis tepi yang tegas, sehingga sel hepatosit satu dan yang lainnya dapat terlihat jelas (gambar A dan C).

Sedangkan sinusoid yang memiliki skor 0 memiliki gambaran bentuk yang tidak beratuan dengan garis tepi pembatas pembentuk saluran sinusoid tidak jelas, sehingga bentuk sinuoid tidak dapat dibedakan dengan lubang-lubang kosong maupun robekan akibat pisau yang digunakan saat proses *sectioning* telah bergerigi. (gambar D, E, dan F)

Untuk makna skor 1 dari sinusoid terlihat gambaran garis tepi sinusoid kurang jelas, namun masih dapat diidentifikasi sebagai sinusoid. Ditemukan lubang kosong berbentuk bulatan-bulatan. (gambar B) Untuk nilai skor 2 pada sinusoid memiliki gambaran garis tepi saluran sinusoid jelas, bentuk saluran utuh, dan alur saluran terlihat jelas. (gambar A dan C).

Berikut Berikut adalah rekapitulasi nilai skoring untuk jumlah sel dan kualitas morfologi sel dari 9 pengulangan. (Tabel 1 dan 2)

Berdasarkan hasil rekapitulasi tersebut, terlihat data ekstrim terjadi pada pengulangan 1 untuk jaringan yang difikasi larutan gula pasir seluruh konsentrasi. Nilai skoring yang banyak muncul pada pengulangan tersebut adalah 0. Hal ini diakibatkan karena pada saat dilakukan proses pemotongan blok parafin oleh mikrotom menjadi lembaran, pisau yang digunakan bergerigi sehingga menghasilkan lembaran hasil pemotongan tampak adanya robekan. Hal ini tentunya akan sangat mempengaruhi kualitas pewarnaan dari HE. Karena adanya robekan jaringan tersebut, menyebabkan kondisi sel menjadi tidak utuh/rusak, sehingga saat dilakukan pewarnaan jaringan oleh HE penyerapan warna yang terjadi tidak maksimal, bahkan sel tidak dapat diidentifikasi karena adanya kerusakan tersebut.

Tabel 1. Rekapitulasi nilai skoring jumlah sel dari 9 pengulangan

Skoring jumlah sel									
Pengulangan	NBF 10%		G 15%		G 10%		G 5%		
	VU	TP	VU	TP	VU	TP	VU	TP	
1	2	2	0	0	2	1	1	0	
2	2	2	1	1	2	2	2	1	
3	2	2	2	1	2	2	2	1	
4	2	2	1	2	2	2	2	0	
5	2	2	2	2	2	2	2	1	
6	2	2	2	2	2	2	2	2	
7	2	2	2	2	2	2	2	2	
8	2	2	2	1	2	2	2	1	
9	2	2	2	2	1	2	2	2	

Tabel 2. Rekapitulasi nilai skoring kualitas morfologi sel dari 9 pengulangan

pengulangan	NBF 10%				G 15%				G 10%				G 5%			
	VU	TP	H	S	VU	TP	H	S	VU	TP	H	S	VU	TP	H	S
1	2	2	2	2	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
2	2	2	2	2	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	0	0
3	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	0	0
4	2	2	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	1	0	0	0
5	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	0	0
6	2	2	2	2	1	1	0	0	2	2	2	2	1	1	0	0
7	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	0	1
8	2	2	2	2	1	2	1	1	2	2	1	2	1	1	0	0
9	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1

Dari hasil rekapitulasi data tersebut selanjutnya dilakukan tahap pengolahan data menggunakan aplikasi SPSS Kruskal Walis Mann Whitney karena distribusi data yang ada tidak normal dan homogenitas data antar kelompoknya pun tidak homogen.

Berdasarkan output “Tes Statistics” untuk data skoring G15% yang dibandingkan dengan NBF10% diperoleh nilai Asymp. Sig. (2-tailed) sebesar 0,000 untuk parameter morfologi vena sentral, 0,001 untuk parameter morfologi *triad portal*, 0,000 untuk morfologi hepatosit, 0,001 untuk morfologi sinusoid, 0,066 untuk jumlah

vena sentral, dan 0,028 untuk jumlah *triad portal*.

Berdasarkan hasil tersebut, nilai untuk keseluruhan parameter menunjukkan <0,05, kecuali parameter jumlah vena sentral. Maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan keutuhan sel dilihat dari kualitas morfologi sel dan jumlah sel *triad portal* antara jaringan yang difiksasi oleh NBF 10% dan G15%. Dan tidak terdapat perbedaan antara jumlah vena sentral yang difiksasi NBF 10% dan G15%.

Berdasarkan output “Tes Statistics” untuk data skoring G10% yang dibandingkan dengan NBF10%

diperoleh nilai Asymp. Sig. (2-tailed) untuk semua parameter uji adalah $>0,05$. Ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara jumlah vena sentral dan *triad portal*, serta keutuhan vena sentral, *triad portal*, hepatosit, dan sinusoid antara jaringan hati yang difiksasi NBF 10% dan G10%.

Berdasarkan output "Tes Statistics" untuk data skoring G5% yang dibandingkan dengan NBF10% diperoleh nilai Asymp. Sig. (2-tailed) sebesar 0,000 untuk parameter morfologi vena sentral, 0,000 untuk parameter morfologi *triad portal*, 0,000 untuk morfologi hepatosit, 0,000 untuk morfologi sinusoid, 0,317 untuk jumlah vena sentral, dan 0,004 untuk jumlah *triad portal*. Berdasarkan hasil tersebut, nilai untuk keseluruhan parameter menunjukkan $<0,05$, kecuali parameter jumlah vena sentral. Berdasarkan hasil tersebut, nilai untuk keseluruhan parameter menunjukkan $<0,05$, kecuali parameter jumlah vena sentral. Maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan keutuhan sel dilihat dari kualitas morfologi sel dan jumlah sel *triad portal* antara jaringan yang difiksasi oleh NBF 10% dan G5%. Dan tidak terdapat perbedaan antara jumlah vena sentral yang difiksasi NBF 10% dan G5%.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini yang menjadi fokus penelitian adalah kandungan glukosa pada gula pasir yang digunakan sebagai alternatif fiksasi, dimana larutan gula pasir tersebut dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi glukosa yakni 5%, 10%, dan 15%. Kemudian dilakukan pengamatan keutuhan sel secara mikroskopik setelah dilakukan proses pewarnaan HE. Masing-masing jenis dan konsentrasi larutan dilakukan pengulangan sebanyak 9 kali, sehingga diperoleh jumlah total preparat jaringan yang diamati adalah 36 preparat. Pengamatan dilakukan pada 10 lapang

pandang dengan 2 perbesaran lensa objektif yakni pada 10x dan 40x. Keutuhan yang diamati pada penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok, yakni dilihat dari jumlah sel yang ditemukan dan kualitas morfologi dari sel-sel tersebut. Untuk jenis sel yang diamati pada kelompok jumlah, yakni vena sentral dan *triad portal*. Sedangkan pada kelompok kualitas morfologi, sel yang diamati adalah vena sentral, *triad portal*, hepatosit, dan sinusoid.

Berdasarkan hasil statistik dapat diketahui bahwa jaringan yang difiksasi oleh G15% dan G5% memiliki perbedaan keutuhan sel dengan NBF10% dilihat dari parameter morfologi vena sentral, *triad portal*, hepatosit, sinusoid, dan jumlah *triad portal*. Namun, ia tidak memiliki perbedaan dengan NBF10% jika dilihat dari parameter jumlah vena sentral. Untuk hasil statistik dari jaringan yang difiksasi oleh G10% terhadap NBF10% diperoleh hasil pada seluruh parameter menunjukkan hasil $>0,05$. Ini mengartikan bahwa tidak terdapat perbedaan keutuhan sel antara jaringan yang difiksasi oleh G10% dan NBF 10% dilihat dari jumlah vena sentral dan *triad portal*, serta keutuhan vena sentral, *triad portal*, hepatosit, dan sinusoid.

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi hasil keutuhan sel ini diantaranya adalah pada proses pemotongan blok parafin. Hasil pemotongan blok parafin tentunya akan sangat mempengaruhi proses pewarnaan yang terjadi, karena kerusakan jaringan akan terjadi apabila pisau mikrotom yang digunakan bergerigi oleh sisa parafin yang membekas sehingga membuat morfologi jaringan menjadi tidak utuh dan saat dilakukan proses pewarnaan, hasilnya tidak akan optimum. Hal ini tergambar pada hasil mikroskopis pada pengulangan 1. Terlihat bahwa pada pengulangan 1 hampir seluruh hasil mikroskopiknya menunjukkan skor 0 dan 1. Selain dari kualitas pisau yang digunakan, kondisi pH larutan gula pasir untuk memfiksasi juga

mempengaruhi hasil. Jika pH yang digunakan tidak sesuai, maka hasil pemecahan sukrosa dari larutan gula pasir tidak terjadi secara sempurna. Oleh karena ini dalam melakukan persiapan pembuatan larutan fiksasi ini perlu sangat diperhatikan kodisi pH nya.

SIMPULAN

Fiksasi jaringan menggunakan larutan gula pasir dengan konsentrasi glukosa 10% (G10%) dapat digunakan sebagai alternatif fiksasi karena mampu mempertahankan keutuhan sel dilihat dari jumlah vena sentral dan *triad portal*, serta keutuhan morfologi vena sentral, *triad portal*, hepatosit, dan sinusoid sesuai dengan gambaran pada jaringan yang difiksasi oleh NBF10%.

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk mengulang kembali penelitian ini menggunakan organ dan parameter yang berbeda, dengan memperhatikan proses pemotongan blok parafin dan persiapan dalam pengolahan larutan fiksasi.

DAFTAR RUJUKAN

1. Bajpai , R.N. 1989. *Histologi Dasar Edisi 4*. Jakarta : Binapura Aksara
2. Khristian, Erick and Inderiati, Dewi. 2017. *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis (TLM)*. Jakarta : Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan Pemberdayaan Sumber Daya Kesehatan Edisi 2017.
3. Ariyadi, Tulus dan Suryono, Hadi. 2017. *Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin*. Vol.1.e-ISSN.Semarang: JLabMed.
4. Rhodes, Anthony. Fixation of tissues. [pengar. buku] John D Bancroft, Christopher Layton dan S. Kim Suvarna. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. China : Elsevier Limited, hal. 70-78.
5. OSHA. *Formaldehyde*. s.l. : OSHA, 2011.
6. K, Lu, et al., et al. 2010. *Distribution of DNA adducts caused by inhaled formaldehyde is consistent with induction of nasal carcinoma but not leukemia*. Toxicological Sciences, hal. 441-451.
7. Lyon. 2006. *IARC Monographs on the Evaluation Formaldehyde, 2-Butoxyethanol*. France : WORLD HEALTH ORGANIZATION INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER
8. I KISAN. 2012. *Sugarcane*. I KISAN AgrilInformatiics & Services. Nagarjuna Group. <http://www.ikisan.com>. [artikel]. [Internet, diakses: 23 Februari 2019.]
9. Ratnasari, Zainona, Baehaki, Ace dan Supriadi, Agus. 2014. *Penggunaan Garam, Sukrosa, dan Asam Sitrat Konsentrasi Rendah untuk Mempertahankan Mutu Filet*. Indralaya : Fishtech, (1), Vol. III.
10. Hidayat, FMT. 2015. *Repository UNISBA*. Repository UNISBA. Univesitas Islam Bandung, repository.unisba.ac.id. [artikel]. [Internet, diakses: 23 February 2019.]
11. Patil, Shankargouda, et al., et al. 2013. *Revelation in the Field of Tissue Preservation–Preliminary Study on Natural Formalin Substitutes*. Journal of International Oral Health, hal. 31-38