

PERBANDINGAN EFEKTIVITAS FIKSASI MENGGUNAKAN MADU DAN NBF 10% PADA KUALITAS PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN: TINJAUAN LITERATUR SISTEMATIS

Ratna Anggun Kristiani Ndruru¹, Joy Miracle Tumigolung Kawer²

ratnaanggunn21@gmail.com¹, joymiracle2006@gmail.com²

Universitas Pelita Harapan

ABSTRAK

Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% adalah standar utama fiksasi jaringan untuk pewarnaan Hematoksin-Eosin, namun bersifat karsinogenik dan toksik. Madu berpotensi menjadi alternatif alami yang aman dan murah karena kandungan bioaktif serta sifat asamnya mampu mempertahankan morfologi jaringan secara sebanding. Karena hasil penelitian terdahulu masih bervariasi dalam konsentrasi, waktu, dan jenis jaringan, Studi Literatur Sistematis ini bertujuan untuk mengidentifikasi serta mengevaluasi efektivitas madu dibandingkan NBF 10% sebagai agen fiksatif secara komprehensif. Penelitian Studi Literatur Sistematis menggunakan model PRISMA untuk memperoleh artikel penelitian dari tahun 2016–2026 dari Google Scholar dan ScienceDirect yang diseleksi berbasis kriteria inklusi-eksklusi spesifik. Data yang terkumpul kemudian dianalisis secara deskriptif-komparatif guna memberikan gambaran komprehensif terkait pengaruh konsentrasi madu terhadap kualitas pewarnaan H&E sediaan histologis. Hasil menunjukkan bahwa Madu berpotensi sebagai fiksatif alternatif alami pengganti NBF 10% dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin karena sifat antimikroba, antioksidan, dan kemampuannya membentuk ikatan silang protein. Secara mikroskopis, madu mampu menghasilkan pewarnaan inti sel yang baik mendekati NBF 10%. Namun, kualitas pewarnaan sitoplasma dan preservasi makroskopisnya bervariasi karena jaringan cenderung lebih lembek. Efektivitas madu sangat bergantung pada konsentrasi, durasi fiksasi, dan jenis jaringan. Konsentrasi rendah berisiko memicu lisis sel, sedangkan konsentrasi terlalu tinggi dapat menyebabkan dehidrasi jaringan. Oleh sebab itu, diperlukan penelitian eksperimental lebih lanjut dengan protokol yang terstandarisasi untuk memperoleh bukti efektivitas madu sebagai alternatif NBF 10%.

Kata Kunci: NBF, Madu, Fiksasi Histologi, Fiksasi Jaringan.

ABSTRACT

Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% is the primary standard for tissue fixation in Hematoxylin-Eosin staining, but it is carcinogenic and toxic. Honey has the potential to be a safe and inexpensive natural alternative because its bioactive compounds and acidic properties can preserve tissue morphology comparably well. Since previous research results have varied in terms of concentration, duration, and tissue type, this Systematic Literature Review aims to comprehensively identify and evaluate the effectiveness of honey compared to 10% NBF as a fixative. This Systematic Literature Review used the PRISMA guidelines to identify research articles published between 2016 and 2026 from Google Scholar and ScienceDirect, selected based on specific inclusion and exclusion criteria. The collected data were then analyzed using descriptive and comparative methods to provide a comprehensive overview of the effect of honey concentration on the quality of H&E staining in histological specimens. The results indicate that honey has the potential to serve as a natural alternative fixative to 10% NBF in Hematoxylin-Eosin staining due to its antimicrobial and antioxidant properties, as well as its ability to form protein cross-links. Microscopically, honey produced good nuclear staining comparable to 10% NBF. However, the quality of cytoplasmic staining and macroscopic preservation varied because the tissue tended to be softer. The effectiveness of honey is highly dependent on concentration, fixation duration, and tissue type. Low concentrations have the risk of causing cell lysis, while concentrations that are too high can cause tissue dehydration. Therefore, further experimental research using standardized protocols is needed to establish evidence of honey's effectiveness as an alternative to 10% NBF.

Kata Kunci: NBF, Honey, Histology Fixation, Tissue Fixation.

PENDAHULUAN

Pemeriksaan histopatologi merupakan gold standard dalam mengevaluasi perubahan morfologi jaringan patologis (Musyafirah & Agus., 2018). Kualitas hasil pemeriksaan sangat dipengaruhi oleh setiap tahapan pemrosesan jaringan terutama proses fiksasi yang berperan dalam mempertahankan struktur sel dan jaringan sebelum dilakukan pewarnaan Hematoksilin Eosin (Narwal et al., 2023; Zerlina et al., 2025). Pemilihan bahan fiksasi yang tepat menjadi faktor penting untuk menghasilkan preparat histologi yang berkualitas dan mendukung interpretasi mikroskopis secara akurat (Alwahaibi et al., 2023). Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% merupakan gold standard sebagai bahan fiksasi dalam pemeriksaan histopatologi (Brilian, 2021). NBF 10% mampu mempertahankan komponen jaringan, mengeraskan jaringan sehingga memudahkan proses pembedahan, memiliki pH yang mendekati netral, serta menghasilkan kualitas preparat yang baik untuk pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Namun, International Agency for Research on Cancer (IARC) menyatakan formaldehida sebagai komponen utama formalin yang diklasifikasikan sebagai karsinogen bagi manusia (Alwahaibi et al., 2023). Paparan formalin dalam jangka panjang dapat menimbulkan berbagai efek toksik, seperti iritasi pada mata, kulit, dan saluran pernapasan atau reaksi alergi (Brilian, 2021). Selain itu, formalin dapat menyebabkan terbentuknya ikatan silang (cross-linking) pada protein dan asam nukleat yang berpotensi memicu neoplasma atau risiko kanker sehingga mendorong berbagai penelitian untuk mengembangkan bahan fiksasi alternatif yang aman tanpa mengurangi kualitas preparat histologi (Kuriachan, 2017; Narwal, 2023).

Salah satu bahan alami yang diteliti sebagai alternatif pengganti formalin adalah madu (honey). Madu mengandung fruktosa, glukosa, vitamin, mineral, enzim, antioksidan serta berbagai senyawa bioaktif yang memberikan sifat antimikroba, antioksidan dan autolisis yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan pembusukan jaringan (Alwahaibi et al., 2023; Narwal, 2023). Selain itu, pH madu yang bersifat asam berperan dalam pembentukan senyawa aldehida seperti formaldehida sehingga membantu mempertahankan integritas dan morfologi jaringan (Bright et al., 2023). Madu tidak bersifat toksik, mudah diperoleh, relatif murah dan ramah lingkungan dibandingkan dengan formalin. Karakteristik tersebut menjadikan madu sebagai salah satu bahan fiksasi alternatif yang dapat digunakan dalam pemeriksaan histopatologi (Alwahaibi et al., 2023). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa penggunaan madu sebagai bahan fiksasi mampu mempertahankan morfologi jaringan serta menghasilkan kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin yang sebanding dengan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%.

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan bahwa madu berpotensi sebagai bahan fiksasi alternatif yang efektif menghasilkan kualitas preparat histologi yang sebanding dengan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% tetapi temuan tersebut menghasilkan karakteristik yang berbeda-beda seperti konsentrasi madu, lama waktu fiksasi dan jenis jaringan. Oleh karena itu, penelitian ini merupakan suatu Systematic Literature Review yang bertujuan untuk mengidentifikasi, mengevaluasi hasil penelitian yang telah dilaporkan mengenai efektivitas madu dibandingkan dengan NBF 10% sebagai bahan fiksasi pada jaringan histologi menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai potensi penggunaannya dalam pemeriksaan histopatologi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode Systematic Literature Review untuk menelaah efektivitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin terhadap sediaan histologis yang difiksasi menggunakan madu. Peneliti mengumpulkan artikel- ilmiah yang relevan dengan topik menggunakan model PRISMA. Pencarian artikel dilakukan dengan artikel penelitian asli (original research) yang diperoleh dari Google Scholar dan ScienceDirect dan kemudian diseleksi dan dinilai kelayakannya sebelum terpilih menjadi artikel untuk dianalisis. Artikel yang dipilih adalah artikel yang memiliki data jelas mengenai perbandingan fiksasi menggunakan Madu dengan NBF 10% dan sediaan histologi yang diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin dari tahun 2016-2026.

Tabel 1 Kriteria Inklusi dan Eksklusi Artikel

KRITERIA	KRITERIA INKLUSI	KRITERIA EKSKLUSI
POPULASI	Jaringan histologis	Sampel selain jaringan histologi (sitologi, tulang, ataupun gigi).
INTERVENSI	Fiksasi menggunakan madu segala konsentrasi dan jenis.	Menggunakan fiksatif alami lain tanpa madu (larutan garam, cuka).
PERBANDINGAN	Menggunakan <i>Neutral Buffered Formalin</i> (NBF) 10%.	Menggunakan formalin tanpa <i>buffer</i> atau fiksatif lain seperti <i>Bouin's</i> .
HASIL (OUTCOME)	Menilai kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin atau morfologi sel sampel histologis.	Hanya menilai fiksasi untuk pemeriksaan imunohistokimia atau biologi molekuler tanpa pewarnaan Hematoksilin-Eosin.
DESAIN STUDI	Studi eksperimental laboratorium.	Artikel review, laporan kasus (<i>case report</i>), abstrak konferensi tanpa teks lengkap.

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan mengumpulkan dan menelaah artikel yang telah diidentifikasi berdasarkan judul, menyaring konteks abstrak, dan isi lengkap sebelum dianggap inklusi dalam penelitian tinjauan sistematis. Kemudian, artikel-artikel yang menjadi inklusi dilanjutkan ke analisis data secara deskriptif-komparatif, yaitu dengan membandingkan hasil dari berbagai artikel untuk melihat efektivitas Madu dengan berbagai konsentrasinya terhadap kualitas hasil pewarnaan sediaan histologis dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Dengan demikian, hasil tinjauan sistematis yang dilakukan akan memberikan gambaran yang jelas terhadap bagaimana efektivitas Madu sebagai agen fiksatif dalam kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin

HASIL DAN PEMBAHASAN

No	Penulis	Tahun	Jenis Sampel	n Madu	n NBF	Jenis Madu	Lama Fiksasi	Pewarnaan	Parameter yang dinilai
1	Brilian, T. V.	2021	Ginjal Mencit	16 Prepatat	16 Preparat	Madu 10%	24 Jam	Hematoksilin & Eosin	Pewarnaan inti sel, sitoplasma dan keseragaman warna
2	Majumdar	2017	Mukosa oral kambing	30 preparat	30 preparat	Madu 20%	24 jam	Hematoksilin & Eosin	Pewarnaan sitoplasma
3	Arapahni et al.,	2019	Jaringan Hati	9 preparat	9 preparat	Madu 10%, madu	24 jam	Hematoksilin & Eosin	Vena sentralis, Bile

						15%, madu 20%			ductules
4	Nuryani et al	2024	Jaringan hati, ginjal dan limpa mencit	6 preparat	6 preparat	Madu 10%, madu 15%, madu 20%	24 jam, 3 hari, 7 hari	Hematoksilin & Eosin	Inti sel, sitoplasma dan kerusakan sel
5	Alwahaibi et al	2023	Jaringan hati, ginjal dan lambung mencit	54 preparat	9 preparat	Madu 10%	24 jam	Hematoksilin & Eosin	Pewarnaan inti sel, sitoplasma, morfologi jaringan dan kejelasan pewarnaan
6	Zerlina et al	2025	Organ mencit	18 preparat	9 preparat	Madu 13%	24 jam	Hematoksilin & Eosin	Pewarnaan inti sel, sitoplasma dan keseragaman warna
7	Ozkan	2016	Jaringan payudara	8 preparat	8 preparat	Madu 10%	24 jam	Hematoksilin & Eosin	Pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, morfologi jaringan, kejelasan pewarnaan dan keseragaman pewarnaan
8	Udonkang	2018	Jaringan jantung, usus, paru- paru, ginjal, otak kambing	25 preparat	5 preparat	Madu 20%, 50%, 70%, 90% dan 100%	48 jam	Hematoksilin & Eosin	Pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, morfologi jaringan, kejelasan pewarnaan dan keseragaman pewarnaan

Berdasarkan hasil penelitian, madu (honey) menunjukkan potensi sebagai bahan fiksasi alternatif pada pemeriksaan histopatologi menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Kemampuan tersebut berkaitan dengan sifat antimikroba, antioksidan dan anti-autolisis yang dimiliki madu sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme serta memperlambat proses degradasi jaringan selama fiksasi. Selain itu, suasana asam pada madu memungkinkan terbentuknya senyawa aldehida dan hydroxymethylfurfural (HMF) melalui reaksi Maillard yang membentuk ikatan silang (cross-linking) dengan protein jaringan melalui reaksi Schiff base. Mekanisme ini menyerupai cara kerja formalin dalam

mempertahankan struktur sel dan jaringan sehingga preparat tetap mampu menerima pewarnaan Hematoksilin dan Eosin dengan baik. Namun, hasil sintesis menunjukkan bahwa efektivitas madu masih dipengaruhi oleh berbagai faktor, terutama konsentrasi madu, jenis jaringan, jenis madu, lama fiksasi, serta metode evaluasi yang digunakan.

Hasil penelitian dari Arapahni et al. (2019), secara makroskopis menunjukkan bahwa proses fiksasi selama 24 jam menggunakan cairan kontrol NBF 10% menghasilkan jaringan hati kelinci yang lebih padat dan tetap mudah dipotong. Namun, fiksasi pada ketiga kelompok perlakuan madu dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% menghasilkan fisik jaringan yang lebih lembek dibandingkan kontrol, dengan tampilan warna organ yang cenderung pucat. Kemudian dalam hasil pengamatan secara mikroskopis dengan pewarnaan H&E, kelompok kontrol NBF 10% mampu mempertahankan seluruh keutuhan komponen jaringan hati dengan sangat optimal. Pada kelompok perlakuan madu, konsentrasi 15% merupakan kelompok yang mampu memberikan gambaran mikroskopis terbaik karena mampu mempertahankan keutuhan komponen struktural berupa vena sentralis dan bile ductules paling banyak, sehingga memiliki nilai yang mendekati kelompok kontrol. Kelompok madu 10% juga mampu mempertahankan vena sentralis dan hepatosit, namun jumlah komponen yang terjaga tidak sebanyak pada konsentrasi 15%. Sementara itu, kelompok madu 20% menunjukkan kualitas sediaan yang paling buruk secara visual dikarenakan tingginya osmolaritas gula pada konsentrasi ini sehingga menyebabkan jaringan mengalami dehidrasi ditandai dengan sel-sel hati mengkerut, jarak antar hepatosit berdekatan tanpa celah sinusoid, serta kendala teknis saat mikrotomi.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Brilian (2021), secara makroskopis hasil pengamatan organ ginjal mencit setelah tahap fiksasi 24 jam menunjukkan bahwa penggunaan larutan madu 10% menghasilkan organ dengan fisik yang lembek dan berwarna merah kekuningan, sedangkan fiksasi dengan kontrol NBF 10% menghasilkan organ yang keras dan berwarna merah kecoklatan. Namun, setelah melalui rangkaian pemrosesan jaringan hingga tahap embedding akhir, jaringan ginjal yang difiksasi dengan madu 10% mengalami perubahan fisik menjadi keras dengan warna coklat muda pudar, sementara kelompok kontrol NBF 10% menghasilkan jaringan yang keras dan berwarna coklat. Pada analisis mikroskopis dengan pewarnaan H&E, hasil evaluasi terhadap 80 lapang pandang sediaan yang difiksasi dengan madu 10% dikategorikan memiliki kualitas sediaan yang baik sebesar 87.5% dan kurang baik sebesar 12.5%, di mana munculnya artifak menjadi salah satu faktor yang menyebabkan visualisasi beberapa komponen sel terlihat kurang jelas. Jika ditinjau dari tiga parameter penilaian yang ada, intensitas pewarnaan inti sel pada sediaan yang difiksasi madu 10% memiliki kualitas yang setara dengan kontrol NBF 10%, yaitu 100% jelas. Perbedaan visual tampak pada struktur sitoplasma, di mana kelompok kontrol NBF 10% menghasilkan sitoplasma yang 98.8% jelas, sedangkan kelompok madu 10% hanya mencapai 59.6% jelas dengan visualisasi yang kurang tegas pada perbesaran 400x. Selain itu, tingkat keseragaman warna pada kelompok madu 10% adalah 85.4% dengan tampilan warna yang terlihat lebih gelap pada perbesaran 100x, dibandingkan kelompok kontrol NBF 10% yang memiliki keseragaman warna 100% sempurna.

Penelitian yang dilakukan oleh Nuryani et al. 2024, secara makroskopis, kelompok kontrol NBF 10% larutan terlihat tetap jernih, dan pada madu konsentrasi 10% dan 15% mengikuti konsentrasinya, tetapi pada perendaman fiksasi hari ke-3 dan ke-7, larutan madu 20% berubah menjadi keruh akibat kontaminasi bakteri dan lisisnya jaringan. Bahkan, pada organ intestinal hari ke-3, ditemukan adanya gelembung-gelembung gas di dalam larutan madu yang diakibatkan oleh kuman dari kotoran usus. Kemudian menilai dari segi visual sediaan, jaringan yang difiksasi dengan NBF 10% menghasilkan warna yang paling jelas dan hasil mikrotomi yang baik. Jaringan dengan fiksasi madu 20% selama 1 hari masih

mampu memperlihatkan detail yang cukup jelas, namun kualitas mikrotomi dan warna yang berubah drastis serta tidak jelas pada perendaman 3 dan 7 hari akibat organ hancur di dalam wadah. Dalam evaluasi mikroskopis terhadap parameter inti sel, sitoplasma, dan tingkat kerusakan sel menunjukkan bahwa kontrol NBF 10% memberikan hasil yang sempurna secara konsisten di seluruh organ uji yaitu lambung, intestinal, limpa, ginjal, hepar, dan testis. Sementara itu, performa fiksatif madu di semua konsentrasi dan durasi perendaman menghasilkan rata-rata skor di bawah NBF 10% yaitu Madu 10% perendaman 1 hari menghasilkan kualitas yang kurang optimal, detail organ spesifik seperti lambung dan testis memiliki nilai yang rendah terhadap integritas inti dan sitoplasmanya. Kelompok madu 15% perendaman 1 hari menunjukkan efisiensi tertinggi di antara kelompok madu, dan ada organ ginjal serta testis, visualisasi sitoplasma mampu menyamai NBF 10%. Kelompok madu 20% perendaman 1 hari mengalami penurunan kualitas di mana struktur intestinal dan lambung mulai mengalami penurunan kejelasan. Kelompok madu 20% perendaman 3 dan 7 hari mengalami kegagalan fiksasi yang parah akibat pengenceran madu bersifat hipotonis, menyebabkan difusi air berlebih yang memicu sel membengkak hingga lisis dan struktur organ tidak ditemukan lagi di bawah mikroskop.

Hasil penelitian dari Zerlina et al. (2025), evaluasi terhadap 27 preparat jaringan jantung tikus menunjukkan bahwa dari seluruh perlakuan, 16 preparat memperoleh skor kualitas baik, 9 preparat memperoleh skor cukup, dan 1 preparat dinilai tidak baik. Kelompok kontrol dengan agen fiksatif Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% selama 24 jam menghasilkan hasil histologis yang optimal, dengan 8 preparat yang ditandai dengan inti sel berwarna biru dan sitoplasma berwarna merah muda yang jelas, serta keseragaman warna di seluruh bagian. Kelompok agen fiksatif madu 13%, kualitas fiksasi bervariasi secara langsung dengan durasi fiksasi. Sampel yang difiksasi madu selama 24 jam menghasilkan 7 preparat berkualitas tinggi yang menampilkan inti sel biru dan sitoplasma merah muda yang terpisah dan jelas, serta keseragaman warna yang merata, sehingga menetapkan kualitas pelestarian jaringan setara dengan kelompok kontrol NBF 10% standar. Namun, variasi madu dengan durasi lebih singkat, yaitu 12 jam, menghasilkan 7 preparat yang cukup baik (fair). Meskipun perlakuan madu selama 12 jam berhasil memfiksasi jaringan tanpa kegagalan, secara mikroskopis hal ini ditandai dengan warna yang tidak merata serta pewarnaan sitoplasma yang tidak homogen dan kurang efektif akibat difusi larutan yang tidak sempurna serta ikatan silang protein yang tidak merata dalam jangka waktu yang terbatas.

Pada parameter pewarnaan inti sel, sebagian besar penelitian menunjukkan hasil yang konsisten bahwa madu mampu mempertahankan detail inti dengan kualitas yang mendekati NBF 10%. Bright et al., (2023) melaporkan bahwa madu dengan konsentrasi 75–100% menghasilkan pewarnaan inti yang sangat baik serta integritas jaringan yang tetap terjaga. Temuan tersebut didukung oleh Udonkang et al., (2018), Abubakar et al., (20290), dan Ozkan et al., (2016) yang menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi madu (20–100%) menghasilkan intensitas pewarnaan inti yang baik sehingga preparat tetap layak digunakan untuk evaluasi histopatologi. Penelitian Alwahaibi et al., (2023) menunjukkan bahwa penggunaan madu menghasilkan pewarnaan inti yang setara dengan NBF 10% pada pemeriksaan Hematoksilin-Eosin.

Meskipun demikian, kualitas pewarnaan sitoplasma menunjukkan hasil yang lebih bervariasi dibandingkan pewarnaan inti. Bright et al., (2023) melaporkan bahwa madu berkonsentrasi tinggi mampu menghasilkan sitoplasma yang jelas dan utuh, sedangkan konsentrasi rendah menyebabkan perforasi sitoplasma dan nekrosis membran akibat autolisis yang belum sepenuhnya terhambat. Alwahaibi et al., (2023) juga menemukan bahwa meskipun pewarnaan inti setara dengan NBF 10%, intensitas pewarnaan eosin masih

lebih rendah dan belum dapat diperbaiki secara signifikan melalui modifikasi pH madu menjadi netral. Sebaliknya, Abubakar, Udonkang, dan Ozkan melaporkan bahwa batas sitoplasma masih dapat diamati dengan jelas sehingga kualitas pewarnaan eosin tetap memadai untuk menunjang diagnosis histopatologi. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa struktur sitoplasma tampaknya lebih sensitif terhadap variasi komposisi kimia madu dibandingkan struktur inti sel. Selain dipengaruhi oleh pembentukan ikatan silang protein, keberhasilan mempertahankan sitoplasma juga diduga dipengaruhi oleh aktivitas hidrogen peroksida alami yang dapat menyebabkan lisis eritrosit maupun perubahan pada komponen sitoplasma tertentu.

Kemampuan madu dalam mempertahankan morfologi jaringan juga menunjukkan hasil yang relatif baik, meskipun tidak seluruh penelitian memperoleh hasil yang sama. Abubakar et al., (2020) melaporkan bahwa jaringan otot skeletal mengalami pembengkakan dan fragmentasi walaupun organ viseral seperti hati, ginjal, paru-paru, dan jantung masih menunjukkan morfologi yang baik. Ozkan et al., (2016) juga menunjukkan bahwa efektivitas madu berbeda pada setiap organ, di mana preservasi jaringan endometrium lebih rendah dibandingkan plasenta, uterus, payudara, omentum, lambung, dan paru-paru. Variasi tersebut menunjukkan bahwa kemampuan penetrasi dan proses fiksasi madu dipengaruhi oleh karakteristik biologis masing-masing jaringan, seperti kepadatan sel, kandungan kolagen, komposisi protein, serta permeabilitas jaringan terhadap bahan fiksasi.

Salah satu faktor yang paling banyak memengaruhi efektivitas madu adalah konsentrasi larutan yang digunakan. Bright et al., (2023) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi hingga 75–100% menghasilkan kualitas fiksasi terbaik karena kandungan air yang rendah memungkinkan pembentukan ikatan silang protein berlangsung lebih optimal sehingga autolisis dapat dicegah secara maksimal. Sebaliknya, konsentrasi 25% menyebabkan tingginya kadar air yang memicu pembengkakan sel, perforasi sitoplasma, dan degradasi jaringan. Akan tetapi, hasil tersebut tidak sepenuhnya sejalan dengan Udonkang et al. (2018) yang melaporkan bahwa pada pemeriksaan histologi mikroskopis, madu 20–50% justru menghasilkan kualitas preparat terbaik, sedangkan konsentrasi 70–100% lebih sesuai untuk preservasi spesimen makroskopis jangka panjang. Temuan Abubakar et al., (2020) dan Ozkan et al., (2016) juga menunjukkan bahwa madu 10–20% masih mampu menghasilkan preparat dengan kualitas yang baik pada sebagian besar organ viseral. Perbedaan tersebut mengindikasikan bahwa belum terdapat konsentrasi madu yang dapat dijadikan standar universal. Konsentrasi optimum tampaknya bergantung pada tujuan penggunaan, lama penyimpanan spesimen, jenis madu, serta karakteristik jaringan yang akan difiksasi.

Secara keseluruhan, seluruh penelitian menunjukkan bahwa madu merupakan salah satu bahan fiksasi alternatif pengganti NBF 10% karena mampu mempertahankan morfologi jaringan serta menghasilkan kualitas pewarnaan inti dan sitoplasma yang memadai pada pemeriksaan H&E. Namun, madu belum dapat direkomendasikan sebagai pengganti penuh NBF 10% karena efektivitasnya masih dipengaruhi oleh variasi konsentrasi, jenis madu, jenis jaringan, lama fiksasi, dan metode evaluasi yang digunakan. Inkonsistensi hasil pada beberapa penelitian, terutama terkait kualitas pewarnaan sitoplasma, preservasi jaringan tertentu seperti otot skeletal dan endometrium, serta stabilitas antigen pada pemeriksaan imunohistokimia, menunjukkan bahwa hingga saat ini belum tersedia protokol fiksasi madu yang terstandarisasi.

Oleh karena itu, masih diperlukan penelitian eksperimental dengan protokol yang lebih terstandarisasi, meliputi variasi jenis madu, konsentrasi, lama waktu fiksasi, jenis jaringan, serta metode evaluasi histopatologi yang seragam, sehingga dapat diperoleh bukti ilmiah yang lebih konsisten mengenai potensi madu sebagai alternatif Neutral Buffered

Formalin (NBF) 10% dalam pemeriksaan histopatologi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil Systematic Literature Review bahwa madu memiliki potensi sebagai bahan fiksasi alternatif yang mampu mempertahankan morfologi jaringan serta menghasilkan kualitas pewarnaan inti dan sitoplasma yang memadai pada berbagai jenis jaringan. Namun, kualitas preparat yang dihasilkan madu belum sepenuhnya menyamai NBF 10% pada seluruh penelitian. Efektivitas madu masih dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti konsentrasi dan jenis madu, jenis jaringan, lama waktu fiksasi, serta metode evaluasi yang digunakan. Secara umum, NBF 10% masih memberikan hasil yang paling konsisten dalam mempertahankan morfologi jaringan, kejelasan inti sel, intensitas pewarnaan sitoplasma, dan keseragaman warna pada preparat histologi. Oleh karena itu, diperlukan penelitian eksperimental lebih lanjut dengan protokol yang terstandarisasi mengenai jenis dan konsentrasi madu, lama waktu fiksasi, jenis jaringan, serta metode penilaian histopatologi agar diperoleh bukti yang lebih konsisten mengenai efektivitas madu sebagai bahan fiksasi alternatif.

DAFTAR PUSTAKA

Pustaka yang berupa judul buku

Pustaka yang berupa jurnal ilmiah

- İ Özkan, N., Şalva, E., Çakalağaoğlu, F., & Tüzüner, B. (2012). Honey as a substitute for formalin? *Biotechnic & Histochemistry*, 87(2), 148–153. <https://doi.org/10.3109/10520295.2011.590155>
- Abubakar, U., Ishaq, A., Okechi, O. O., Umar, A., Tsamiya, R. I., Mohammed, M. O., Muhammad, A. T., Bagudo, A. I. (2020). Efficacy of various concentrations of honey solution in the fixation of some selected tissues in Wistar rats. *Advances in Research*, 21(7), 34–40. <https://doi.org/10.9734/AIR/2020/v21i730217>
- Alwahaibi, N., Al Dhahli, B., Al Issaei, H., Al Wahaibi, L., & Al Sinawi, S. (2023). Effectiveness of neutral honey as a tissue fixative in histopathology. *F1000Research*, 11, 1014.
- Arapahni, S. J., Mahmud, D., Gusnandjar, A., & Durachim, A. (2019). Perbandingan Fiksasi Menggunakan NBF 10% Dan Madu Terhadap Keutuhan Komponen Jaringan Hati Dengan Pewarnaan HE. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(2), 224–231.
- Bright, O. A., Albert, O. S., Michael, A. K., Perez, Q., Dorcas, O. O., Ama, A. M., Ocran, T. J., Mensah, A. E., Brenya, A. G., Adu, A. J., Adjetey, C. S., & Agyemang, M.-K. P. (2023). A comparative study of the fixative properties of honey and formalin. *Diagnostic Pathology: Open Access*, 8(1), 209. <https://doi.org/10.4172/2476-2024.1000209>
- Brilian, T. V. (2021). Microscopic Profile of Mice (*Mus Musculus*) Kidney Tissue Fixed with 10% Honey Concentration for 24 Hours. *Jaringan Laboratorium Medis*, 3(2), 127–133.
- Kuriachan, D., Suresh, R., Janardhanan, M., Savithri, V., Aravind, T., & Thampy, L. M. (2017). Analysis of fixative properties of three eco-friendly substances: A comparison with formalin. *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*, 8(2), 79–84. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10037-1105>
- Majumdar, B., Rao, R. S., & Patil, S. (2016). Tissue preservation with natural fixatives: An immunohistochemical evaluation. *World Journal of Dentistry*, 7(2), 87–91. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10015-1371>
- Musyarifah, Z., & Agus, S. (2018). Proses fiksasi pada pemeriksaan histopatologik. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 443–453. <http://jurnal.fk.unand.ac.id/index.php/jka/article/view/880>
- Narwal, A., Singh, E., Duhan, J., Dhatarwal, S. K., Singh, V., Kamboj, M., Devi, A., & Gupta, S. (2023). Qualitative assessment of Aloe vera as natural tissue fixative: An institutional study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 27(1), 33–38. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_489_20

- Nuryani, S., Kasiyati, M., Sujono, Wikandari, R. J., Surati, & Hardisari, R. (2024). Hasil pewarnaan sediaan jaringandengan fiksatif normal buffer formalin 10% dan maduselama 1, 3, dan 7 hari. *INNOVATIVE: Journal of Social Science Research*, 4(1), 10877–10885. <https://j-innovative.org/index.php/Innovative>
- Sabarinath, B., Suresh, S., Protyusha, G. B., & Dhanarathna, S. (2024). Standardization of honey as a tissue fixative for histopathology: A morphometric study. *Dental Research Journal*, 21, 24.
- Srii, R., & Marla, V. (2016). Bee honey as a locum for routine formalin fixative. *International Journal of Scientific Research*, 5(10), 498–500.
- Udonkang, M. I., Ubi, K. A., & Inyang, I. J. (2018). Honey as fixative and safer substitute for formalin in histology. *International Journal of Medical Laboratory Research*, 3(3), 11–17.
- Zerlina, A. P., Christyaningsih, J., Utomo, R. T., & Suliati. (2025). Comparative quality of mice heart histology using NBF 10% and honey 13% with time variation as fixationagent. *International Journal of Advanced Health Science and Technology*, 5(4), 214–220. <https://doi.org/10.1109/ijahst.v5i4.515>

Pustaka yang berupa Prosiding Seminar:

Pustaka yang berupa disertasi/thesis/skripsi:

Pustaka yang berupa patent: