

PERBANDINGAN VARIASI WAKTU FIKSASI JARINGAN HISTOLOGI MENGGUNAKAN 10% NEUTRAL BUFFERED FORMALIN PADA PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN: SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW

Suseno Adi Putra¹, Alessandro Stefano Kamengon², Fransisca Probo Setyoningrum³
01091240006@student.uph.edu¹, 01091240012@student.uph.edu²,
fransisca.setyoningrum@uph.edu³
Universitas Pelita Harapan

Abstrak

Pemeriksaan histopatologi merupakan metode diagnostik utama untuk menilai morfologi jaringan melalui tahapan histoteknik, dengan fiksasi sebagai langkah awal yang paling krusial. Fiksasi mengawetkan struktur sel menggunakan larutan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% yang bekerja membentuk ikatan silang antarprotein guna mencegah autolisis. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dan membandingkan pengaruh variasi waktu fiksasi NBF 10% terhadap kualitas hasil pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Manfaat dari kajian ini adalah memberikan acuan ilmiah berbasis bukti bagi tenaga laboratorium patologi anatomi dalam menetapkan durasi fiksasi yang optimal guna meningkatkan akurasi diagnosis medis. Metode penelitian menggunakan pendekatan Systematic Literature Review (SLR) berbasis panduan PRISMA dengan menelaah artikel jurnal primer bereputasi terbitan tahun 2016–2026. Hasil sintesis dari studi terdaftar menunjukkan bahwa fiksasi berdurasi sangat singkat (1–5 jam) pada jaringan prostat menghasilkan gambaran mikroskopis yang belum optimal, di mana fiksasi 1 jam memberikan hasil terburuk (70% sampel tidak jelas) dan fiksasi 5 jam memberikan hasil terbaik (80% sampel jelas), meskipun secara statistik tidak signifikan ($p = 0,074$). Sebaliknya, penelitian pada jaringan mioma uteri dengan variasi durasi lebih panjang menunjukkan perbedaan kualitas yang signifikan secara statistik ($p = 0,006$). Fiksasi selama 24 jam dan 48 jam menghasilkan morfologi sel, kejelasan inti, serta kontras warna yang jauh lebih unggul dibandingkan fiksasi 12 jam ($p < 0,05$), tanpa ada perbedaan signifikan antara kelompok 24 jam dan 48 jam ($p = 1,000$). Kesimpulannya, waktu fiksasi NBF 10% yang terlalu singkat (<12 jam) dapat menurunkan kualitas mikroskopis preparat, sedangkan durasi fiksasi ideal berkisar antara 24 hingga 48 jam untuk menghasilkan preparat HE bermutu tinggi yang mendukung ketepatan diagnosis.

Kata Kunci: Fiksasi, Neutral Buffered Formalin 10%, Pewarnaan Hematoxylin Eosin, Histopatologi, Waktu Fiksasi.

ABSTRACT

Histopathological examination is the primary diagnostic method for assessing tissue morphology through histotechnical procedures, with fixation serving as the most crucial initial step. Fixation preserves cellular structures using a 10% Neutral Buffered Formalin (NBF) solution, which works by forming cross-links between proteins to prevent autolysis. This study aims to examine and compare the effects of varying fixation times with 10% NBF on the quality of Hematoxylin-Eosin (HE) staining results. The benefit of this study is to provide evidence-based scientific guidance for anatomical pathology laboratory personnel in determining the optimal fixation duration to improve the accuracy of medical diagnoses. The research method employed a Systematic Literature Review (SLR) approach based on the PRISMA guidelines, analyzing reputable primary journal articles published between 2016 and 2026. The results of the synthesis of the included studies indicate that very short fixation durations (1–5 hours) in prostate tissue yield suboptimal microscopic images, with 1-hour fixation yielding the worst results (70% of samples were unclear) and 5-hour fixation yielding the best results (80% of samples were clear), although this difference was not statistically significant ($p = 0.074$). In contrast, a study on uterine fibroid tissue with longer fixation durations showed statistically significant differences in quality ($p = 0.006$). Fixation for 24 hours and 48 hours produced significantly superior cell morphology, nuclear clarity, and color contrast compared to

12-hour fixation ($p < 0.05$), with no significant difference between the 24-hour and 48-hour groups ($p = 1.000$). In conclusion, a fixation time with 10% NBF that is too short (<12 hours) can reduce the microscopic quality of the specimen, whereas the ideal fixation duration ranges from 24 to 48 hours to produce high-quality HE-stained specimens that support accurate diagnosis.

Keywords: Fixation, 10% Neutral Buffered Formalin, Hematoxylin-Eosin Staining, Histopathology, Fixation Time.

PENDAHULUAN

Dalam bidang kedokteran, pemeriksaan histopatologi menjadi salah satu metode diagnostik utama untuk menilai perubahan morfologi jaringan, baik pada kondisi fisiologis maupun patologis, termasuk dalam penegakan diagnosis berbagai jenis keganasan. Kualitas preparat yang dihasilkan melalui serangkaian tahapan histoteknik mulai dari fiksasi, pemrosesan jaringan, pemotongan, hingga pewarnaan sangat menentukan ketepatan hasil pemeriksaan histopatologi tersebut. Fiksasi menjadi tahapan awal yang paling krusial di antara tahapan-tahapan tersebut, karena tahapan ini berfungsi mengawetkan struktur sel dan jaringan agar tidak mengalami autolisis, pembusukan, maupun perubahan bentuk akibat degradasi enzimatis setelah jaringan diangkat dari tubuh. Preparat dengan gambaran mikroskopis yang jelas akan dihasilkan melalui proses fiksasi yang baik, sehingga interpretasi oleh dokter spesialis Patologi Anatomi menjadi lebih mudah dilakukan.

Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% menjadi larutan fiksatif yang paling umum digunakan di laboratorium histopatologi, karena larutan ini mampu mempertahankan struktur jaringan secara stabil melalui pH yang seimbang tanpa merusak komposisi kimiawi maupun morfologi sel. Ikatan silang (cross-link) antar protein jaringan dibentuk oleh formaldehida dalam larutan ini, sehingga struktur sel dapat dipertahankan dalam kondisi yang mendekati keadaan alaminya. Waktu fiksasi yang optimal menggunakan NBF 10% umumnya berkisar antara 12 hingga 24 jam untuk mendapatkan hasil fiksasi yang baik (Ni Luh Ayu, 2026). Namun, waktu fiksasi sering kali tidak sesuai dengan standar dalam praktik pelayanan laboratorium sehari-hari, akibat tingginya volume sampel yang masuk setiap harinya, sehingga jaringan terkadang difiksasi dalam waktu yang lebih singkat maupun lebih lama dari yang direkomendasikan.

Kualitas hasil pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE), yang merupakan metode pewarnaan standar dalam pemeriksaan histopatologi, berpotensi dipengaruhi oleh variasi waktu fiksasi ini. Inti sel diwarnai oleh hematoxylin menjadi warna ungu kebiruan, karena sifatnya yang basa dan berikatan dengan struktur asam seperti asam nukleat, sementara sitoplasma dan jaringan ikat diberi warna merah muda oleh eosin yang berperan sebagai pewarna counterstain bersifat asam (Kayni et al., 2025). Kejelasan inti sel, sitoplasma, serta keseragaman warna pada seluruh bagian jaringan menjadi penanda kualitas pewarnaan HE yang baik, yang sangat menentukan akurasi diagnosis patologi.

Pengaruh signifikan waktu fiksasi terhadap kualitas gambaran mikroskopis jaringan telah dibuktikan oleh beberapa penelitian terbaru. Asmaniar et al. (2024), dalam penelitiannya pada jaringan prostat, menunjukkan bahwa kualitas pewarnaan HE meningkat seiring bertambahnya waktu fiksasi, di mana hasil terbaik diberikan oleh fiksasi selama 5 jam dengan mayoritas sampel menunjukkan inti dan sitoplasma yang jelas, dibandingkan dengan fiksasi 1 jam yang cenderung menghasilkan gambaran kurang optimal. Sejalan dengan hal tersebut, perbedaan kualitas preparat yang signifikan antar kelompok waktu fiksasi juga dilaporkan oleh Virgiawan et al. (2024) dalam penelitiannya yang membandingkan gambaran histopatologi jaringan prostat dengan perbedaan waktu fiksasi. Selain itu, skor kualitas pewarnaan yang jauh lebih rendah dibandingkan fiksasi tiga, lima, dan tujuh hari ditemukan pada fiksasi selama satu hari dalam penelitian pada jaringan terduga kanker payudara, dengan perbedaan yang secara statistik bermakna ($p = 0,000$),

meskipun perbedaan yang signifikan tidak ditemukan antara durasi tiga, lima, dan tujuh hari. Temuan tersebut turut diperkuat oleh studi Arlyco (2022) mengenai pengaruh lama waktu fiksasi terhadap gambaran mikroskopis jaringan dengan pewarnaan HE, yang menunjukkan bahwa kejernihan struktur inti sel dan sitoplasma pada hasil akhir preparat dapat dipengaruhi oleh durasi fiksasi yang tidak sesuai standar, baik terlalu singkat maupun berlebihan.

Berdasarkan uraian tersebut, dapat dipahami bahwa salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam proses histoteknik guna menghasilkan preparat HE dengan kualitas optimal adalah waktu fiksasi menggunakan NBF 10%. Kualitas gambaran mikroskopis berisiko menurun akibat ketidaksesuaian waktu fiksasi dengan standar yang berlaku, yang pada akhirnya dapat memengaruhi ketepatan diagnosis histopatologi. Oleh karena itu, penelitian mengenai perbandingan variasi waktu fiksasi NBF 10% terhadap hasil pewarnaan HE penting dilakukan, agar gambaran ilmiah mengenai waktu fiksasi yang paling optimal dapat diperoleh, sehingga acuan bagi tenaga laboratorium dalam meningkatkan mutu pelayanan pemeriksaan histopatologi dapat dihasilkan.

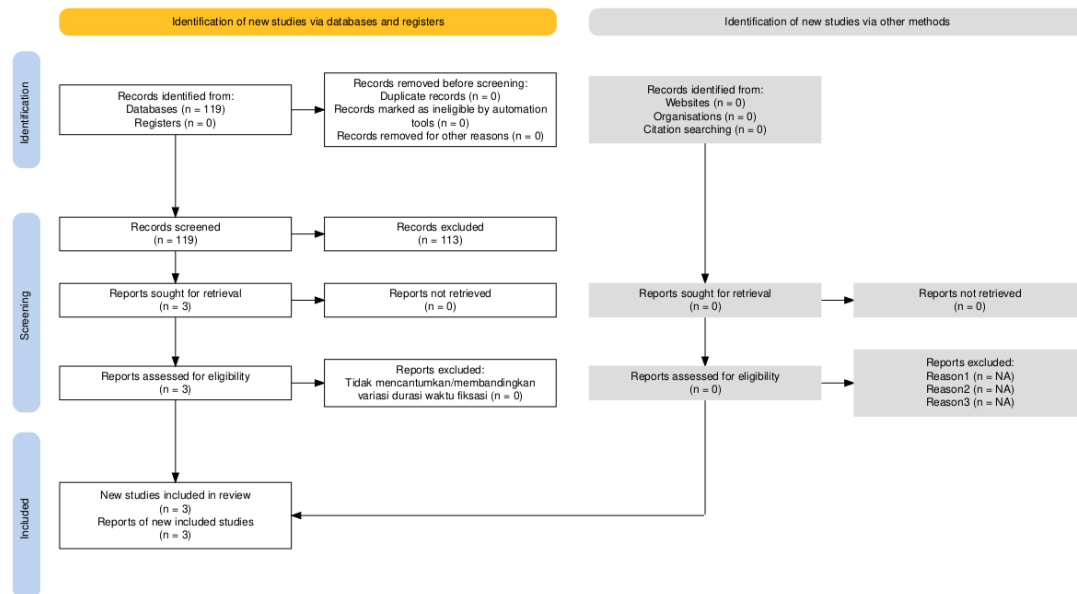
METODE PENELITIAN

Penelitian ini menerapkan pendekatan *Systematic Literature Review* (SLR) yang dilakukan secara sistematis melalui dua tahapan utama, yaitu proses pengidentifikasian dan penelaahan jurnal ilmiah berdasarkan panduan baku. Peneliti menggunakan panduan *Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses* (PRISMA) yang berbasis diagram alir dan bukti (*evidence-based*) untuk membantu menyusun tinjauan pustaka yang terstruktur. Selain itu, evaluasi kritis menjadi aspek krusial dalam metode SLR agar hasil kajian memberikan pemahaman yang komprehensif bagi pembaca. Oleh karena itu, peneliti menetapkan kriteria inklusi dan eksklusi secara jelas sebagai acuan dalam mengevaluasi setiap artikel yang ditelaah (Nur et al., 2024).

Tabel 1. Proses Pencarian Yang Digunakan Dalam Mengumpulkan Data

Pengambilan Data	Kata Kunci
<i>ScienceDirect</i>	("neutral buffered formalin 10%" OR NBF) AND ("fixation duration" OR "fixation time") AND ("H&E staining" OR morphology)

Pada tahap penyaringan, peneliti memilah literatur secara sistematis melalui penelaahan ringkasan dan simpulan untuk menentukan dokumen yang berpotensi dikaji. Selanjutnya, pada tahap kelayakan, peneliti menyaring kembali dokumen tersebut dengan menilai kesesuaian isi artikel terhadap fokus penelitian, sehingga artikel yang tidak memenuhi syarat akan dikeluarkan dari proses tinjauan. Penentuan kelayakan dokumen dalam penelitian ini mengacu pada dua kriteria utama, yaitu: 1) Peneliti membatasi artikel yang terbit dalam kurun waktu 10 tahun terakhir, yaitu antara tahun 2016 hingga 2026. Artikel yang dipublikasikan di luar rentang waktu tersebut tidak akan dimasukkan ke dalam analisis. 2) Penelitian ini hanya menggunakan artikel jurnal primer yang memuat data empiris. Dokumen berbasis data sekunder seperti *review article*, buku, dan *conference paper* dieksklusi dari penelitian. Berikut merupakan PRISMA flowchart pada Gambar 1 yang menjadi acuan dalam penelitian ini.



Gambar 1. PRISMA Flowchart (Haddaway et al., 2022)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah melalui PRISMA, Didapatkan hasil penelitian yang relevan terhadap pengaruh waktu fiksasi NBF 10% terhadap pewarnaan HE. Dari 119 artikel yang telah digunakan, terdapat 3 artikel relevan dengan topik yang dikaji. Proses pemetaan artikel dalam penelusuran literatur sistematis dilakukan berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan dari sumber publikasi jurnal yang relevan.

Tabel 2. Studi Terpilih

No.	Judul	Penulis	Tahun	Metode	Hasil
1	Pengaruh Variasi Waktu Fiksasi Netral Buffer Formalin 10% Terhadap Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin pada Jaringan Prostat	Asmaniar, Widarti, Alfin Resya Virgiawan, Yaumil Fachni Tandjungbulu	2024	Observasional deskriptif dengan pendekatan longitudinal. 10 sampel jaringan prostat (teknik <i>incidental sampling</i>) di RSUD Panembahan Senopati Bantul. Variasi waktu fiksasi NBF 10% selama 1 jam, 3 jam, dan 5 jam. Evaluasi kejelasan mikroskopis inti sel & sitoplasma (perbesaran 100x) serta pengujian statistik non-parametrik <i>Friedman</i> .	Kualitas pewarnaan HE meningkat seiring bertambahnya durasi fiksasi. Fiksasi 5 jam memberikan hasil terbaik (80% / 8 dari 10 sampel menunjukkan inti sel dan sitoplasma jelas). Fiksasi 3 jam menghasilkan 50% semua jelas, sedangkan fiksasi 1 jam memberikan hasil terburuk (70% sampel semua tidak jelas). Uji statistik <i>Friedman</i> menghasilkan nilai signifikansi $p = 0,074(p > 0,05)$, yang menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan. Kesimpulan: Lama waktu fiksasi memengaruhi hasil mikroskopis jaringan prostat. Waktu fiksasi yang terlalu singkat (<24 jam) menyebabkan penurunan kualitas gambaran mikroskopis, sehingga disarankan menggunakan

No.	Judul	Penulis	Tahun	Metode	Hasil
					durasi fiksasi yang optimal agar preparat dapat diinterpretasikan dengan akurat.
2	Variasi Waktu Fiksasi Netral Buffer Formalin 10% Terhadap Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin Pada Jaringan Prostat	Alfin Resya Virgiawan, Yaumil Fachni Tandjungbulu, Rahman, Widarti, Zulfian Armah	2024	Observasional deskriptif dengan pendekatan longitudinal. 10 sampel jaringan prostat (teknik <i>incidental sampling</i>). Waktu fiksasi NBF 10% selama 1 jam, 3 jam, dan 5 jam. Evaluasi kejelasan inti sel dan sitoplasma mikroskopis perbesaran 100x & Uji statistik <i>Friedman</i> .	Kualitas pewarnaan HE meningkat seiring bertambahnya waktu fiksasi. Fiksasi 5 jam memberikan hasil terbaik (80% sampel menunjukkan inti dan sitoplasma jelas). Fiksasi 3 jam menghasilkan 50% semua jelas, sedangkan fiksasi 1 jam memberikan hasil terburuk (70% semua tidak jelas). Hasil uji statistik <i>Friedman</i> menunjukkan nilai $p = 0,074 (p > 0,05)$, yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok. Kesimpulan: Lama waktu fiksasi memengaruhi kualitas mikroskopis jaringan prostat. Fiksasi singkat (<24 jam) cenderung menurunkan kualitas gambaran histologi.
3	Pengaruh Lama Fiksasi Neutral Buffered Formalin 10% Terhadap Hasil Pewarnaan Hematoksilin Eosin Jaringan Mioma Uteri di RSUD Wangaya	Ketut Devita, Anak Agung Ayu Eka Cahyani, Putu Gede Subhaktiyasa	2026	Kuantitatif eksperimen laboratorium (<i>posttest-only control-group design</i>). 45 sampel jaringan mioma uteri (15 sampel per kelompok). Waktu fiksasi NBF 10% selama 12 jam, 24 jam, dan 48 jam. Observasi mikroskopis (kejelasan inti, sitoplasma, dan keseragaman warna), Uji <i>Kruskal-Wallis</i> , & Uji Post-Hoc <i>Mann-Whitney</i> .	Terdapat perbedaan signifikan secara statistik antar kelompok fiksasi berdasarkan Uji <i>Kruskal-Wallis</i> ($p = 0,006; p < 0,05$). Uji lanjut <i>Mann-Whitney</i> menunjukkan perbedaan signifikan antara fiksasi 12 jam vs 24 jam ($p = 0,047$) dan 12 jam vs 48 jam ($p = 0,007$). Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok fiksasi 24 jam dan 48 jam ($p = 1,000$). Kesimpulan: Lama fiksasi NBF 10% berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan HE pada jaringan mioma uteri. Fiksasi selama 24–48 jam menghasilkan gambaran morfologi yang lebih optimal, jelas, dan kontras dibandingkan fiksasi 12 jam.

Proses fiksasi merupakan tahap yang sangat krusial dalam pembuatan preparat histopatologi untuk mempertahankan struktur selular dan jaringan agar mendekati kondisi aslinya. Cairan *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10% bekerja dengan cara membentuk ikatan silang antarprotein, sehingga menghentikan proses autolisis dan degradasi enzimatis pada jaringan. Berdasarkan data dari ketiga penelitian di atas, lama waktu fiksasi NBF 10% terbukti secara konsisten memengaruhi kejelasan morfologi sel, kontras sitoplasma, dan

kualitas pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

Pada durasi fiksasi yang sangat singkat, yaitu antara 1 hingga 5 jam, penelitian Asmaniar et al. (2024) dan Virgiawan et al. (2024) pada jaringan prostat menunjukkan gambaran mikroskopis yang belum optimal. Fiksasi selama 1 jam menghasilkan kualitas pewarnaan terburuk, di mana sebanyak 70% sampel tidak menunjukkan kejelasan struktur inti sel maupun sitoplasma. Kualitas visualisasi tersebut mengalami peningkatan ketika durasi fiksasi diperpanjang hingga 5 jam, yang ditandai dengan 80% sampel mencapai gambaran mikroskopis yang jelas. Namun demikian, analisis statistik dengan uji *Friedman* menghasilkan nilai $p = 0,074$ ($p > 0,05$), yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik di antara kelompok 1, 3, dan 5 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa waktu fiksasi kurang dari 5 jam pada dasarnya belum mampu memfiksasi jaringan prostat secara menyeluruh karena laju penetrasi formalin membutuhkan waktu yang cukup untuk mencapai bagian terdalam organ.

Sebaliknya, penelitian Devita et al. (2026) pada jaringan mioma uteri mengevaluasi durasi fiksasi yang lebih panjang, yakni 12, 24, dan 48 jam. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik ($p = 0,006$). Analisis lanjutan melalui uji *post-hoc Mann-Whitney* mengungkapkan bahwa fiksasi 24 jam dan 48 jam menghasilkan gambaran mikroskopis yang jauh lebih baik dan kontras jika dibandingkan dengan fiksasi 12 jam ($p < 0,05$). Sementara itu, perbandingan antara kelompok 24 jam dan 48 jam tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p = 1,000$). Hasil tersebut menandakan bahwa penetrasi dan reaktivitas kimia formalin telah mencapai kondisi jenuh dan optimal pada rentang waktu 24 hingga 48 jam.

KESIMPULAN

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa waktu fiksasi NBF 10% yang singkat (<12 jam) cenderung menurunkan kualitas mikroskopis preparat, sedangkan durasi fiksasi ideal berkisar antara 24 hingga 48 jam untuk menghasilkan diagnosis histopatologi yang akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Arlyco, Y. O. (2020). Studi Pengaruh Lama Waktu Fiksasi Terhadap Gambaran Mikroskopis Jaringan Dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (Doctoral dissertation, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional).
- ASMANIAR, A., Virgiawan, A. R., & Tandjungbulu, Y. F. (2024). PENGARUH VARIASI WAKTU FIKSASI NETRAL BUFFER FORMALIN 10% TERHADAP HASIL PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN PADA JARINGAN PROSTAT (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Makassar).
- Devita, K., Cahyani, A. A. A. E., & Subhaktiyasa, P. G. (2026). Pengaruh Lama Fiksasi Neutral Buffered Formalin 10% Terhadap Kualitas Hasil Pewarnaan Hematoksilin Eosin Jaringan Mioma Uteri di RSUD Wangaya. *Jurnal Analis Kesehatan Kendari*, 8(2), 62-69.
- Haddaway, N. R., Page, M. J., Pritchard, C. C., & McGuinness, L. A. (2022). PRISMA2020: An R package and Shiny app for producing PRISMA 2020-compliant flow diagrams, with interactivity for optimised digital transparency and Open Synthesis. *Campbell Systematic Reviews*, 18(2), e1230. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cl2.1230>
- Kayni, I. M. N., Nailufar, Y., & Rahmawati, Y. (2025). Variasi Konsentrasi Neutral Buffer Formalin Pada Proses Fiksasi Jaringan Histologi Ginjal Mencit. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 11(1), 111-122.
- Ni Luh Ayu, M. PENGARUH DURASI FIKSASI BUFFER FORMALIN 10% TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN HEMATOXYLIN EOSIN PADA JARINGAN TERDUGA KANKER PAYUDARA.

- Nur, N., Karim, F., Hambali, B., Jejak, R., & Kunci, K. (2024). SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW: PENINGKATAN KESEHATAN MENTAL MELALUI OLAHRAGA Keterangan. In Jurnal Olahraga dan Kesehatan Indonesia (JOKI) (Vol. 4, Number 2). <https://jurnal.stokbinaguna.ac.id/index.php/JOKI>
- Virgiawan, A. R., Tandjungbulu, Y. F., & Armah, Z. (2024). Variasi Waktu Fiksasi Netral Buffer Formalin 10% Terhadap Hasil Pewarnaan Hematoxylin Eosin Pada Jaringan Prostat. Jurnal Media Analisis Kesehatan, 15(2), 211-218.