

## **Kualitas Morfologi Sel Asites Setelah Dilakukan Fiksasi Alkohol 96% dan NBF 10% pada Sediaan Sitologi Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)"**

**Yohanes Ardian<sup>1\*</sup>, Eviomitta Rizki<sup>2</sup>, Adinugraha Amarullah<sup>3</sup>, Marinta<sup>4</sup>**

<sup>1\*,2,4</sup>Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

<sup>3</sup>Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

Email: <sup>1\*</sup>yohanes.ardian@uam.ac.id

### **Abstract**

*Ascitic fluid is an important specimen in diagnostic cytology for detecting malignancy and inflammation within the peritoneal cavity. The accuracy of cytological interpretation depends on cellular morphology, which is influenced by the type and effectiveness of fixation. Fixatives help preserve cellular integrity prior to Hematoxylin–Eosin (HE) staining. Alcohol 96% acts as a coagulative fixative that rapidly denatures proteins, whereas 10% Neutral Buffered Formalin (NBF) is a non-coagulative fixative that forms protein cross-links, providing greater structural stability but requiring longer fixation time. This study aimed to evaluate and compare the morphological quality of ascitic fluid cells fixed with 96% alcohol and 10% NBF on HE-stained cytological preparations to determine the most optimal fixative. A quantitative comparative design with a laboratory-based observational approach was used. Six ascitic fluid specimens were fixed with 96% alcohol for 15 minutes and 10% NBF for 24 hours. Thin smear preparations were stained with HE and assessed for nuclear clarity, cytoplasmic integrity, and staining artifacts using an ordinal score of 1–4. Data were analyzed using the Mann–Whitney U test at a 95% confidence level ( $\alpha = 0.05$ ). Results showed that 96% alcohol produced clearer nuclear details, sharper cytoplasmic borders, and fewer artifacts than 10% NBF. Although NBF provided stable cellular structures, nuclei appeared darker and cytoplasmic homogeneity decreased due to prolonged fixation. Statistical analysis showed a significant difference ( $p < 0.05$ ). Thus, 96% alcohol offers superior ascitic cell morphology and serves as an efficient alternative fixative for body fluid cytology.*

**Keywords:** Fixation, 96% Alcohol, 10% NBF, Ascitic Fluid, Cytology, Hematoxylin-Eosin.

### **Abstrak**

Cairan asites merupakan spesimen penting dalam pemeriksaan sitologi diagnostik untuk mendeteksi keganasan maupun peradangan pada rongga peritoneum. Keberhasilan interpretasi sitologi sangat dipengaruhi oleh kualitas morfologi sel yang bergantung pada jenis dan efektivitas fiksasi. Fiksatif berperan mempertahankan integritas struktur sel sebelum pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Alkohol 96% bekerja sebagai fiksatif koagulan dengan mendenaturasi protein secara cepat, sedangkan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% merupakan fiksatif non-koagulan yang membentuk ikatan silang antarprotein sehingga memberikan stabilitas morfologi lebih baik namun membutuhkan waktu fiksasi lebih lama. Penelitian ini bertujuan menilai dan membandingkan kualitas morfologi sel asites yang difiksasi menggunakan alkohol 96% dan NBF 10% pada sediaan sitologi HE untuk menentukan fiksatif yang memberikan hasil paling optimal. Penelitian menggunakan desain komparatif kuantitatif dengan pendekatan observasional laboratorik. Enam spesimen cairan asites difiksasi dengan alkohol 96% selama 15 menit dan NBF 10% selama 24 jam. Sediaan apus tipis diwarnai HE dan dinilai berdasarkan kejernihan inti, keutuhan sitoplasma, serta artefak pewarnaan menggunakan skor ordinal 1–4. Analisis dilakukan dengan uji Mann–Whitney U pada tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Hasil menunjukkan bahwa alkohol 96% menghasilkan morfologi inti lebih jelas, batas sitoplasma lebih tegas, dan artefak pewarnaan minimal dibandingkan NBF 10%. Fiksasi NBF memberikan struktur sel stabil, namun warna inti lebih pekat dan homogenitas sitoplasma menurun akibat waktu fiksasi lebih panjang. Analisis statistik menunjukkan

perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kedua fiksatif. Dengan demikian, alkohol 96% memberikan kualitas morfologi sel asites yang lebih baik dan dapat menjadi fiksatif alternatif yang efisien serta diagnostik untuk pemeriksaan sitologi cairan tubuh.

**Kata Kunci:** : Fiksasi, Alkohol 96%, NBF 10%, Cairan Asites, Sitologi, Pewarnaan HE.

## 1. PENDAHULUAN

Cairan asites merupakan salah satu spesimen penting dalam pemeriksaan sitologi diagnostik, terutama untuk mengidentifikasi adanya proses keganasan, infeksi, atau peradangan kronis pada rongga peritoneum. Ketepatan interpretasi mikroskopis sel dalam cairan asites sangat bergantung pada kualitas morfologi yang dihasilkan selama proses fiksasi dan pewarnaan. Fiksasi yang tidak optimal dapat menyebabkan kerusakan inti, perubahan bentuk sitoplasma, atau bahkan kehilangan sel, sehingga hasil diagnosis dapat menurun akurasinya (Bancroft & Gamble, 2019; Inderati & Pratiwi, 2021). Oleh karena itu, pemilihan jenis fiksatif menjadi tahap krusial untuk menjamin hasil preparat yang representatif.

Dalam praktik laboratorium histopatologi dan sitologi, dua bahan fiksatif yang paling sering digunakan adalah alkohol 96% (etanol absolut) dan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%. Kedua fiksatif ini memiliki mekanisme kerja berbeda yang memengaruhi hasil morfologi dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Alkohol bekerja dengan mendenaturasi protein dan menghilangkan air dari jaringan, menghasilkan efek koagulasi yang cepat serta memperjelas struktur inti dan sitoplasma (Ireka et al., 2019; Rahman et al., 2021). Sebaliknya, NBF 10% berperan melalui proses cross-linking antara protein, yang dapat memperkuat struktur jaringan dan menjaga integritas morfologi jangka panjang, namun proses fiksasinya lebih lambat dan memiliki risiko artefak apabila durasi fiksasi berlebihan (Zhou et al., 2020; Koomen et al., 2022).

Secara prinsip, fiksatif dibedakan menjadi dua kategori utama, yaitu koagulan dan non-koagulan (cross-linking), berdasarkan mekanisme interaksi kimianya terhadap komponen seluler. Fiksatif Koagulan – Alkohol 96% bekerja dengan cara mendenaturasi dan mengkoagulasi protein melalui proses dehidrasi sel. Molekul etanol menarik air dari jaringan, menyebabkan protein kehilangan struktur tiga dimensi alaminya dan membentuk agregat koagulan. Reaksi ini menghasilkan perubahan pada permeabilitas membran sel dan keluarnya lipid dari sitoplasma (Ireka et al., 2019). Pada komponen inti, alkohol menyebabkan presipitasi nukleoprotein dan pengendapan kromatin, yang dapat menghasilkan gambaran inti tampak padat (pyknosis) dan batas kromatin kurang homogen. Hal ini sering menimbulkan artefak berupa inti yang lebih gelap atau pecah bila fiksasi berlangsung terlalu cepat atau terlalu lama. Sementara pada sitoplasma, koagulasi protein menyebabkan sitoplasma tampak lebih eosinofilik pada pewarnaan HE, namun sering kali kehilangan detail organela dan batas antar sel tidak jelas (Rahman et al., 2021).

Interaksi alkohol dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) juga cukup khas. Karena etanol menghilangkan sebagian besar lipid dan air, maka afinitas eosin terhadap protein meningkat, menghasilkan pewarnaan merah muda cerah pada sitoplasma. Namun, karena struktur kromatin mengalami presipitasi kasar, hematoksilin sering menempel tidak merata, menghasilkan variasi warna inti dari biru tua hingga ungu tidak homogen (Charisma et al., 2023). Kelebihan fiksasi alkohol adalah prosesnya cepat, sederhana, dan menghasilkan kontras warna yang tajam. Namun, kekurangannya terletak pada efek dehidrasi berlebih yang dapat mengubah morfologi sel, terutama pada spesimen cair dengan densitas rendah seperti asites. Hal ini dapat mengakibatkan sel tampak mengerut, inti memadat, dan sitoplasma terlepas dari membran sel.

Berbeda dengan alkohol, NBF 10% merupakan fiksatif non-koagulan yang bekerja melalui mekanisme cross-linking antara gugus aldehid ( $-CHO$ ) dari formaldehid dengan gugus amino ( $-NH_2$ ) pada protein dan asam nukleat. Proses ini membentuk ikatan kovalen yang menstabilkan struktur protein, menjaga hubungan antara inti dan sitoplasma, serta mempertahankan morfologi sel secara lebih alami (Zhou et al., 2020; Koomen et al., 2022). Pada komponen inti, formalin bereaksi dengan protein nukleoprotein dan DNA, menghasilkan struktur kromatin yang tetap kompak namun jelas. Pewarnaan hematoksilin pada preparat yang difiksasi formalin biasanya lebih homogen karena ikatan protein tidak terdenaturasi secara ekstrem. Sementara pada sitoplasma, formalin menjaga integritas protein struktural seperti aktin dan miosin, sehingga batas sel tampak tegas dan warna eosin yang dihasilkan lebih merata.

Dalam pewarnaan HE, NBF memberikan hasil pewarnaan inti yang biru terang dan seragam, dengan sitoplasma yang berwarna merah muda lembut. Hal ini terjadi karena jaringan tetap terhidrasi dengan baik dan gugus amino tetap dapat berinteraksi dengan zat warna basa dan asam secara seimbang. Meski demikian, waktu fiksasi yang terlalu lama dapat menyebabkan pembentukan artefak formalin pigment (asidosis formalin) yang tampak seperti granula coklat halus di sekitar inti (Bancroft & Gamble, 2019). Secara keseluruhan, mekanisme cross-linking pada formalin menghasilkan morfologi sel yang lebih stabil, detail nukleus yang lebih terjaga, dan intensitas pewarnaan HE yang lebih seimbang dibandingkan dengan alkohol 96%. Inilah yang menjadikan NBF 10% lebih unggul dalam menjaga kualitas morfologi sel cairan tubuh, termasuk asites.

Penelitian mengenai fiksasi dan pewarnaan sel cairan tubuh telah banyak dilakukan, namun sebagian besar fokusnya masih terbatas pada spesimen jenis lain seperti cairan pleura, bronkoalveolar, atau sputum, serta menggunakan metode cell block sebagai pendekatan utama (Charisma et al., 2023; Nathan et al., 2022). Metode cell block memiliki keunggulan karena menghasilkan preparat menyerupai jaringan histologis melalui proses pengendapan, pemadatan dalam parafin, dan pemotongan dengan mikrotom. Teknik ini memungkinkan pemeriksaan yang lebih terstruktur dan mudah untuk imunositokimia, tetapi tidak selalu merepresentasikan kondisi morfologi alami sel cairan, khususnya pada cairan tubuh yang memiliki densitas sel rendah seperti asites.

Sementara itu, penelitian yang secara spesifik menilai pengaruh jenis fiksatif terhadap morfologi sel asites pada sediaan apus langsung (direct smear) masih sangat terbatas. Asites memiliki karakteristik unik, yakni mengandung berbagai jenis sel epitel, mesotel, dan inflamasi yang rentan terhadap lisis dan artefak selama proses fiksasi. Oleh karena itu, pemilihan jenis fiksatif sangat menentukan keberhasilan pewarnaan dan interpretasi morfologi seluler. Beberapa studi terdahulu memang mencantumkan istilah “cell block” dalam abstrak atau pendahuluan, namun pada bagian metode ternyata menggunakan sediaan apus tipis langsung (smear preparation) tanpa proses pembentukan blok parafin. Hal ini menimbulkan inkonsistensi terminologi dan potensi bias dalam membandingkan hasil antar penelitian, karena paparan fiksatif, kedalaman penetrasi, serta waktu kontak bahan berbeda signifikan antara cell block dan apus tipis.

Dengan demikian, penelitian ini berupaya mengisi celah pengetahuan tersebut dengan secara eksplisit membandingkan dua fiksatif primer — Alkohol 96% (koagulan) dan NBF 10% (cross-linking) — pada sediaan apus langsung cairan asites. Fokus penelitian diarahkan pada pengaruh perbedaan mekanisme fiksasi terhadap morfologi inti dan sitoplasma sel asites yang diwarnai menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih komprehensif tentang efektivitas masing-masing fiksatif dalam menjaga kualitas sel cairan tubuh, serta menjadi dasar pertimbangan pemilihan metode fiksasi yang lebih sesuai untuk pemeriksaan sitologi cairan asites di laboratorium.

Dengan demikian, penelitian ini memiliki urgensi ilmiah yang kuat karena berupaya mengisi kesenjangan pengetahuan mengenai kualitas morfologi sel asites antara fiksasi alkohol 96% dan NBF 10% pada sediaan sitologi pewarnaan HE, menggunakan penilaian mikroskopis yang terukur untuk menilai kejelasan nukleus, sitoplasma, dan artefak pewarnaan HE. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memberikan rekomendasi metodologis bagi laboratorium histopatologi dalam memilih fiksatif paling efisien, aman, dan diagnostik untuk pemeriksaan sitologi cairan tubuh.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Desain Penelitian dan Sampel

Penelitian ini menggunakan rancangan kuantitatif komparatif yang bertujuan untuk menganalisis perbedaan morfologi sel asites yang difiksasi menggunakan alkohol 96% dan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% pada pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Pendekatan komparatif ini dipilih untuk menilai sejauh mana jenis fiksatif memengaruhi kualitas morfologi seluler, khususnya pada aspek inti, sitoplasma, dan artefak pewarnaan.

Sampel penelitian berupa enam (6) spesimen cairan asites yang diperoleh dari pasien dengan indikasi medis tertentu di instalasi laboratorium patologi anatomi. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan teknik purposive sampling, yakni pemilihan spesimen secara sengaja berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan, seperti kondisi cairan masih segar ( $\leq 2$  jam setelah pengambilan), tidak bercampur darah berlebihan, dan memiliki kepadatan sel cukup untuk pengamatan mikroskopis.

Meskipun jumlah sampel relatif kecil, penggunaan enam spesimen dianggap representatif dalam penelitian awal (preliminary study) karena setiap sampel difiksasi menggunakan dua jenis fiksatif berbeda (total 12 preparat), sehingga tetap memungkinkan analisis komparatif berbasis data berpasangan. Selain itu, penelitian dengan jumlah terbatas ini difokuskan pada pengamatan morfologi seluler secara mendalam menggunakan penilaian kualitatif-kuantitatif (skoring ordinal), bukan analisis inferensial berskala besar. Pendekatan ini sesuai dengan karakteristik penelitian histopatologi yang menekankan presisi morfologi mikroskopis, bukan generalisasi populasi.

### 2.2 Prosedur Fiksasi

Setiap spesimen cairan asites terlebih dahulu disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh endapan sel (cell sediment). Endapan kemudian dibagi menjadi dua bagian yang difiksasi menggunakan fiksatif berbeda, yaitu:

1. Alkohol 96% (Etanol absolut) — fiksasi dilakukan selama 15 menit pada suhu kamar. Durasi ini merupakan standar fiksasi cepat dalam sitologi, karena alkohol bekerja dengan mekanisme koagulasi protein dan penghilangan air dari jaringan, sehingga mampu mempertahankan morfologi inti dengan waktu singkat tanpa menyebabkan autolisis sel (Bancroft & Gamble, 2019).
2. Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% — fiksasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar. Durasi ini mengikuti standar fiksasi histopatologi untuk memastikan terbentuknya ikatan silang (cross-linking) antara protein formaldehid dan gugus amino pada protein jaringan, yang memberikan stabilitas struktural tinggi pada sel (Zhou et al., 2020).

Perbedaan waktu fiksasi yang kontras (15 menit vs. 24 jam) sengaja dipertahankan sebagai variabel utama penelitian, karena mencerminkan perbedaan mekanisme dasar antara fiksatif koagulan (alkohol) dan non-koagulan/cross-linking (formalin) yang dapat memengaruhi detail morfologi dan intensitas pewarnaan HE

### 2.3 Teknik Preparat

Berdasarkan prosedur aktual di laboratorium, penelitian ini tidak menggunakan metode cell block, melainkan teknik sediaan apus langsung (direct smear). Setelah proses fiksasi selesai, endapan sel diambil menggunakan pipet Pasteur dan dibuat sediaan apus tipis di atas kaca objek, kemudian dikeringkan pada suhu kamar.

Sediaan yang telah difiksasi selanjutnya diwarnai menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) sesuai protokol standar:

1. Hematoksilin Mayer untuk pewarnaan inti selama 5 menit.
2. Pencucian air mengalir dan perendaman alkohol asam untuk diferensiasi.
3. Pewarnaan Eosin selama 3 menit untuk menampilkan sitoplasma.
4. Dehidrasi, clearing dengan xilena, dan penutupan dengan media mounting.

Apabila di masa mendatang penelitian ini dikembangkan menggunakan metode cell block, maka perlu ditambahkan langkah-langkah berikut: pembentukan clot (menggunakan agar/trombin), pemrosesan jaringan dalam kaset, infiltrasi parafin, pemotongan mikrotom, dan pewarnaan HE. Namun, dalam penelitian ini seluruh pengamatan didasarkan pada sediaan apus tipis langsung.

### 2.4 Pengamatan Mikroskopis dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan 1000x. Setiap preparat diamati pada lima lapang pandang representatif untuk menilai tiga parameter morfologi utama, yaitu:

1. Kejelasan Inti (Nukleus): ketajaman struktur kromatin, integritas membran inti.
2. Kejelasan Sitoplasma: homogenitas warna, batas antar sel, dan artefak vakuolasi.
3. Artefak Pewarnaan: adanya presipitasi, retakan, atau distorsi warna latar belakang.

Penilaian dilakukan menggunakan lembar observasi terstandar dengan sistem skor ordinal 1–4:

1. Skor 4 (Sangat Baik): struktur inti dan kromatin tampak jelas, membran inti utuh, sitoplasma homogen, artefak minimal.
2. Skor 3 (Baik): detail inti dan sitoplasma masih jelas, terdapat sedikit artefak ringan.
3. Skor 2 (Kurang Baik): detail inti mulai kabur, sitoplasma tidak homogen, terdapat artefak sedang.
4. Skor 1 (Buruk): inti sulit dikenali, sitoplasma lisis, pewarnaan tidak homogen atau berlebihan.

Data hasil scoring setiap parameter dianalisis menggunakan uji statistik non-parametrik Mann–Whitney U test, karena data bersifat ordinal dan jumlah sampel relatif kecil (<30). Analisis dilakukan dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel distribusi skor rata-rata  $\pm$  standar deviasi, disertai interpretasi perbandingan morfologi antar fiksatif.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Hasil

Penelitian ini dilakukan untuk menilai kualitas morfologi sel cairan asites yang difiksasi menggunakan dua jenis fiksatif, yaitu alkohol 96% dan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10%, pada pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Parameter morfologi yang dinilai meliputi kejelasan inti sel (nukleus), integritas sitoplasma, dan artefak pewarnaan, menggunakan skor ordinal 1–4, di mana skor 4 menunjukkan kualitas morfologi terbaik dan skor 1 menunjukkan morfologi sangat buruk.

Rekapitulasi hasil penilaian morfologi sel asites setelah dilakukan fiksasi dengan kedua jenis larutan ditunjukkan pada Tabel berikut:

Parameter Morfologi	Fiksasi Alkohol 96% ( $\bar{x} \pm SD$ )	Fiksasi NBF 10% ( $\bar{x} \pm SD$ )	Nilai p	Interpretasi
Kejelasan Inti	$3.58 \pm 0.41$	$2.61 \pm 0.39$	< 0,05	Signifikan (Alkohol Lebih Baik)
Kebersihan Latar Belakang	$3.47 \pm 0.52$	$2.55 \pm 0.50$	< 0,05	Signifikan (Alkohol Lebih Baik)
Kejelasan Sitoplasma	$3.21 \pm 0.48$	$2.92 \pm 0.45$	> 0,05	Tidak Signifikan
Homogenitas Pewarnaan	$3.33 \pm 0.44$	$3.05 \pm 0.42$	> 0,05	Tidak Signifikan

Tabel ini menunjukkan bahwa fiksasi dengan alkohol 96% menghasilkan kejelasan inti dan kebersihan latar belakang yang secara signifikan lebih baik dibandingkan dengan fiksasi NBF 10% ( $p < 0,05$ ).

Sementara itu, perbedaan pada kejelasan sitoplasma dan homogenitas pewarnaan tidak signifikan ( $p > 0,05$ ), yang berarti kedua jenis fiksatif memberikan hasil yang relatif sebanding untuk dua parameter tersebut.

### 3.2 Pembahasan (Interpretasi Hasil)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fiksasi menggunakan alkohol 96% memberikan kualitas morfologi sel asites yang lebih baik dibandingkan NBF 10%, terutama pada parameter kejelasan inti dan kebersihan latar belakang (nilai  $p < 0,05$ ). Sementara itu, pada parameter kejernihan sitoplasma dan homogenitas pewarnaan, perbedaan yang dihasilkan antara kedua fiksatif tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Temuan ini memperkuat bahwa mekanisme dasar fiksatif berperan langsung terhadap hasil morfologi mikroskopis, terutama dalam pengikatan pewarna hematoksilin dan eosin (HE).

Secara prinsip, alkohol 96% bekerja sebagai fiksatif koagulan dengan mekanisme denaturasi protein dan dehidrasi cepat. Alkohol menarik air dari jaringan sehingga menyebabkan protein berkoagulasi dan struktur nukleoprotein tetap padat. Hal ini memfasilitasi ikatan yang kuat antara hematoksilin dengan komponen basa DNA dan kromatin, menghasilkan warna inti yang lebih gelap, jelas, dan homogen. Kecepatan dehidrasi alkohol juga mencegah difusi zat intraseluler, sehingga batas inti dan sitoplasma tetap tegas (Bancroft & Gamble, 2019; Ireka et al., 2019).

Sebaliknya, NBF 10% adalah fiksatif non-koagulan dengan mekanisme cross-linking antarprotein melalui pembentukan ikatan metilen oleh formaldehid. Mekanisme ini memang menjaga integritas struktural jaringan, tetapi menyebabkan modifikasi pada gugus amino protein nukleoprotein yang menjadi target hematoksilin. Akibatnya, pewarnaan inti pada sediaan NBF cenderung pucat, tidak homogen, atau tampak kabur, karena sebagian situs ikatan pewarna tertutupi oleh hasil reaksi formaldehid (Zhou et al., 2020). Selain itu, proses cross-linking yang lambat menyebabkan kemungkinan terjadinya autolisis parsial sebelum fiksasi sempurna, terutama pada cairan tubuh seperti asites yang kandungan proteolitiknya tinggi.

Dari hasil pengamatan, sediaan dengan fiksatif alkohol 96% menunjukkan latar belakang yang bersih dan jernih, tanpa banyak artefak. Hal ini disebabkan karena sifat volatil alkohol, yang mudah menguap tanpa meninggalkan residu. Sebaliknya, sediaan dengan NBF 10% memperlihatkan latar belakang yang berbutir atau berartefak, akibat

sisa residu formaldehid yang dapat bereaksi dengan komponen eosin atau protein bebas di medium cair. Reaksi ini menghasilkan presipitasi halus yang menimbulkan efek “grainy background”, mengganggu interpretasi mikroskopis (Koomen et al., 2022).

Meskipun perbedaan tidak signifikan secara statistik, kedua fiksatif memperlihatkan hasil sitoplasma yang cukup baik. Alkohol menghasilkan sitoplasma yang lebih kompak namun sedikit mengalami shrinkage akibat dehidrasi cepat, sedangkan NBF mempertahankan ukuran sel lebih stabil meskipun dengan warna yang sedikit lebih pudar. Variasi ini konsisten dengan prinsip fiksasi — bahwa fiksatif koagulan cenderung memperjelas detail struktural namun dengan risiko penyusutan, sedangkan fiksatif cross-linking menjaga bentuk sel tetapi memengaruhi intensitas pewarnaan.

Temuan penelitian ini bertentangan dengan hasil studi Nathan et al. (2022) yang melaporkan bahwa fiksasi menggunakan NBF 10% memberikan hasil morfologi yang lebih kontras pada preparat cell block cairan asites. Perbedaan ini dapat dijelaskan oleh perbedaan teknik preparasi yang digunakan. Studi Nathan et al. menggunakan metode cell block, di mana endapan sel diproses seperti jaringan padat menggunakan parafin. Proses ini melibatkan fiksasi yang lebih lama (24–48 jam) serta pemotongan mikrotom, sehingga efek preservasi NBF menjadi lebih optimal dan artefak akibat residu formaldehid dapat berkurang setelah tahap deparafinasi.

Sebaliknya, penelitian ini menggunakan metode apus sitologi langsung (direct smear), di mana durasi fiksasi jauh lebih singkat dan sampel tidak melalui tahap pemrosesan parafin. Dalam konteks ini, kecepatan penetrasi dan efek dehidrasi alkohol 96% menjadi faktor utama yang menjaga morfologi sel agar tetap utuh dan warna pewarnaan HE optimal. Oleh karena itu, hasil ini justru lebih sejalan dengan temuan Charisma et al. (2023) yang meneliti cairan pleura, di mana fiksasi alkohol memberikan hasil pewarnaan HE yang lebih baik daripada NBF atau fiksatif lain seperti hairspray atau alkohol 70%.

Perbedaan hasil ini menegaskan bahwa jenis preparasi dan durasi fiksasi sangat memengaruhi efektivitas fiksatif. Untuk sediaan apus cairan tubuh seperti asites, fiksasi cepat dengan alkohol 96% terbukti lebih efisien dalam menjaga integritas morfologi dan kualitas pewarnaan, dibandingkan NBF yang lebih cocok untuk jaringan padat atau metode cell block. Secara praktis, temuan ini memberikan dasar bagi laboratorium sitologi diagnostik untuk mempertimbangkan penggunaan fiksatif koagulan (alkohol 96%) sebagai pilihan utama dalam pemeriksaan cairan asites pewarnaan HE, terutama ketika dibutuhkan hasil cepat dan berkualitas tinggi.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis morfologi sel asites yang difiksasi menggunakan alkohol 96% dan NBF 10% pada sediaan sitologi pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE), dapat disimpulkan bahwa:

1. Fiksasi dengan alkohol 96% memberikan kualitas morfologi yang lebih baik dibandingkan NBF 10%, terutama pada aspek kejelasan inti dan kebersihan latar belakang, dengan perbedaan yang signifikan secara statistik ( $p < 0,05$ ).
2. Mekanisme koagulasi dan dehidrasi cepat pada alkohol 96% mampu menjaga integritas nukleoprotein dan meningkatkan afinitas hematoksilin terhadap inti sel, sehingga menghasilkan pewarnaan inti yang tajam dan homogen.
3. NBF 10%, sebagai fiksatif non-koagulan dengan mekanisme cross-linking, menyebabkan perubahan struktur protein yang menghambat ikatan pewarna dan meninggalkan residu formaldehid, sehingga menghasilkan warna inti yang lebih pucat dan latar belakang yang berartefak.

4. Meskipun tidak terdapat perbedaan signifikan pada kejernihan sitoplasma dan homogenitas pewarnaan, secara keseluruhan alkohol 96% lebih unggul untuk preparat apus langsung cairan asites dibandingkan NBF 10%, yang lebih sesuai untuk preparat jaringan padat atau cell block.
5. Hasil ini menunjukkan bahwa pemilihan fiksatif harus disesuaikan dengan jenis sediaan dan tujuan pemeriksaan. Untuk sediaan sitologi cairan tubuh yang membutuhkan fiksasi cepat dan hasil pewarnaan optimal, alkohol 96% direkomendasikan sebagai fiksatif utama.

## REFERENCES

- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2019). *Theory and Practice of Histological Techniques* (8th ed.). Elsevier.
- Charisma, L., Hidayat, R., & Susanto, D. (2023). Comparative analysis of alcohol-based and formalin fixation on cytological morphology of effusion samples. *Journal of Cytopathology and Diagnostic Research*, 17(2), 145–152.
- Inderiati, E., & Pratiwi, S. (2021). Pengaruh jenis fiksatif terhadap kualitas morfologi sel pada sediaan sitologi cairan tubuh. *Jurnal Teknologi Laboratorium Medis Indonesia*, 6(2), 45–52.
- Ireka, A., Rahman, M. H., & Hasan, N. (2019). Evaluation of fixative agents for cytological specimen preservation and staining characteristics. *International Journal of Cytopathology and Laboratory Medicine*, 5(1), 12–18.
- Nathan, P. A., Kumar, S., & Lee, J. H. (2022). Evaluation of fixatives in preserving cellular details in body fluid cytology: A comparative study. *Diagnostic Cytopathology*, 50(5), 234–242. <https://doi.org/10.1002/dc.24910>
- Nathan, A. R., Thiru, M., & Josephine, C. (2022). Comparative assessment of formalin and alcohol-based fixatives in cell block preparation of ascitic fluid. *Journal of Cytology and Histopathology Research*, 11(1), 22–28. <https://doi.org/10.4103/jchr.2022.11.1.22>
- Rahman, F., Abdullah, M., & Nur, L. (2021). The effect of different fixation methods on the morphology and staining quality of cytological specimens. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*, 8(3), 22–28.
- Koomen, J. M., Wang, Y., & Patel, K. (2022). Impact of fixation duration and buffer composition on formalin-induced artifacts in cytology preparations. *Diagnostic Cytopathology*, 50(8), 421–429. <https://doi.org/10.1002/dc.24976>
- Kumar, A., Singh, R., & Patel, M. (2020). Comparative performance of formalin and ethanol fixatives in histopathological and cytological preparations. *International Journal of Laboratory Medicine Research*, 12(4), 67–74.
- Zhang, X., & Wang, Y. (2022). Influence of fixative type on nuclear morphology and chromatin preservation in cytopathology. *Journal of Histotechnology*, 45(3), 155–163. h
- Ranjan, S., & Thomas, A. (2020). Alternative fixatives for cytological samples: An eco-friendly approach. *Indian Journal of Cytology and Pathology*, 41(2), 90–96.
- World Health Organization (WHO). (2021). *Guidelines for Laboratory Quality and Biosafety in Cytopathology*. WHO Press.
- Zhou, Y., Chen, X., & Li, L. (2020). Mechanisms of cross-linking fixation and its influence on nucleic acid integrity in histopathological samples. *Journal of Histotechnology*, 43(2), 91–98. <https://doi.org/10.1080/0147885.2020.1723546>