

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Histoteknik

Suatu langkah yang dilakukan sampai terbentuknya preparat histologi yang dapat digunakan untuk membantu diagnosa dan berasal dari spesimen tertentu disebut histoteknik. Biasanya spesimen yang digunakan untuk proses histoteknik berasal dari manusia atau hewan, khususnya dalam penggunaan spesimen dari hewan dapat dilakukan fiksasi dalam kondisi hidup atau kondisi sudah mati. Pemeriksaan preparat histologi, baik jaringan normal maupun jaringan yang memiliki bentuk abnormal atau dapat dikatakan patologis dapat membantu diagnosa apabila dilakukan proses histoteknik yang sesuai, sehingga dapat diamati sel-sel dan jaringan yang abnormal tersebut (Saputro dkk, 2024).

Sediaan Histopatologi yang mendapatkan skor baik maka harus memiliki kriteria mengenai bentuk, ukuran, susunan inti sel, sitoplasma, badan inklusi (glikogen, tetesan lemak, pigmen), susunan serat jaringan ikat, otot dan lainnya harus representatif seperti di dalam tubuh saat masih hidup (Jusuf, 2009)

2. Mencit

Mencit termasuk dalam famili Muridae dan diklasifikasikan hewan mamalia pengerat (redensia). Penelitian biologi, biomedis, reproduksi dan lainnya menggunakan hewan uji ini dan dipilih jenis albino (tikus warna putih). Hewan mencit ini dipilih sebagai hewan uji karena dari segi struktur anatomi dan fisiologinya mudah diamati, berkembang biak dengan cepat, dibandingkan hewan uji lain ukuran tubuhnya lebih kecil, siklus reproduksi yang panjang (2-14 bulan) dan variasi genetiknya termasuk besar (Saputro dkk, 2024).



Sumber : Abdullah, (2022)
Gambar 2.1 Mencit

Umur hidup mencit yaitu 1-3 tahun. Hewan uji ini sering dipakai untuk penelitian klinis karena struktur anatomi dan fisiologinya memiliki kesamaan dengan struktur anatomi dan fisiologi manusia. Mencit laboratorium memiliki satu spesies dengan mencit liar atau mencit rumah. Rata-rata mencit laboratorium menggunakan keturunan mencit liar yang dilakukan peternakan selektif. Mencit jantan yang sudah dewasa memiliki berat 20-40 gram sedangkan mencit betina yang sudah dewasa memiliki berat 18-35 gram (Abdullah, 2022).

Tikus dan mencit merupakan spesies berbeda memiliki ukuran mini, cepat dalam berkembang biak, memiliki gen yang 99% serupa dengan manusia. Mencit dikatakan representatif terhadap penyakit genetik manusia apabila digunakan untuk populasi dalam penelitian, memiliki kemudahan untuk direkayasa genetiknya memudahkan dalam menyerupai berbagai macam penyakit manusia. Keuntungan lain dalam menggunakan mencit yaitu mudah dari segi penanganan, penyimpanan, dan harganya relatif lebih murah (Stevani, 2019).

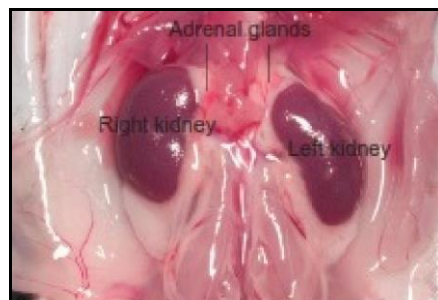
Jenis kelamin mencit jantan digunakan dalam penelitian ini karena beberapa faktor diantaranya beraktivitas dengan aktif, tidak terpengaruh secara hormonal seperti mencit betina, memiliki sedikit hormon estrogen bahkan tidak ada yang menyebabkan mencit jantan secara hormonal lebih stabil. Mencit betina memiliki kondisi stress yang lebih besar daripada mencit jantan dan mengalami siklus estrus, masa kehamilan, dan menyusui yang mempengaruhi keadaan hormonal dan kondisi psikologis hewan, hal tersebut dapat memberi pengaruh berbeda dalam penelitian. Mencit yang sehat berkarakteristik bulu berwarna putih bersih tidak berdiri, matanya

bersinar dan jernih, berat badan sekitar 20-30 gram (Yusuf dkk, 2022).

Klasifikasi ilmiah mencit (*Mus musculus*):

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Sub Family	: Murinae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i> (Nugroho, 2018)

3. Ginjal Mencit



Sumber : Nugroho, (2018)

Gambar 2.2 Ginjal Mencit

Organ ginjal memiliki anatomi yang mirip seperti bentuk kacang dan memiliki warna kemerahan, berada pada posisi retroperitoneal di tengah dinding peritoneum dan dinding posterior abdomen. Pada ginjal yang ada pada jaringan ikat di atasnya terdapat kelenjar adrenal. Ujung medial ginjal yang dalam adalah hilus, memiliki arteri renalis, vena renalis dan pelvis renalis memiliki bentuk seperti terompet. Irisan sagital ginjal, yaitu korteks terdapat di sisi luar. Medula pada ginjal terdapat di sisi dalam, medula memiliki pyramid renal dengan bentuk kerucut. Bagian bawah pyramid bersambung dengan korteks, apeks bundar pada setiap pyramid disebut papilla renalis, dikelilingi kaliks minor seperti terompet. Kaliks minor bersambung membentuk kaliks mayor, dan berkumpul membentuk pelvis renalis yang nantinya akan keluar sebagai ureter (Lusiana dkk, 2023).

Fungsi ginjal sebagai organ bilateral yaitu mengatur homeostasis cairan tubuh hasil ekskresi berupa urine. Letak ginjal kiri lebih tinggi daripada ginjal kanan sebab terdapat organ hepar. Permukaan medial ginjal memiliki pelvis ginjal, saraf, limfatik, pembuluh darah dimana letaknya mengarah pada anterior dan medial. Hasil metabolisme tubuh yang masih bermanfaat diserap kembali oleh ginjal sedangkan zat yang tidak digunakan lagi oleh ginjal akan diekskresikan. Urine yang ditampung pada pelvis ginjal mengalir ke kandung kemih melewati ureter dan ditampung di sana sebelum dikeluarkan (Lusiana dkk, 2023).

Pemilihan organ ginjal mencit dalam penelitian ini disebabkan organ ini memiliki keunggulan dibandingkan organ lainnya yaitu memiliki tekstur cukup pas tidak terlalu keras ataupun lunak, permukaan luar ginjal mencit berwarna merah kecokelatan dan tampak berbutir, dengan konsistensi yang keras, hal tersebut dapat membuat proses pemotongan lebih mudah. Sel pada ginjal, sel epitel tubulus proksimal normalnya berbentuk kuboid selapis dengan batas sel kurang jelas, sitoplasma eosinofilik bergranula bentuk inti besar, bulat berbentuk sferis di tengah sel (Basith dkk, 2016). Organ seperti jantung, hati, testis dan organ lainnya memiliki dimensi lebih kecil dibandingkan organ ginjal (Ridwan, 2013)

Hati dan ginjal merupakan organ yang baik karena sebagai organ vital pada regulasi fisiologis normal. Fungsi hati sebagai detoksifikasi dan sekresi zat yang dibutuhkan tubuh, ginjal berfungsi terhadap ekskresi pembuangan sisa metabolisme berupa limbah dan fungsi osmoregulasi, maka berdasarkan fungsi kedua organ tersebut dapat dipakai dalam identifikasi adanya kerusakan struktur dan peran organ ataupun mengetahui adanya gangguan metabolisme (Fitria dkk, 2019).

Zat-zat kimia yang merusak ginjal diekskresi melalui urine sebagai tempat ekskresi zat-zat hasil metabolisme dan hasil pencernaan. Ginjal memiliki berat 1% dari berat badan, memiliki pembuluh darah yang mengalir ke kedua ginjal normalnya merupakan 21% dari curah jantung sebanding dengan 1200 ml/menit. Larutan dan substrat yang dikonsentrasikan oleh ginjal membuat ginjal mudah rusak terhadap zat

kimia sehingga dapat membuat ginjal sensitif pada bahan-bahan kimia toksik di pembuluh darah. Bagian ginjal yang rentan mengalami kerusakan yaitu tubulus proksimal tempat reabsorpsi 60-80% hasil filtrasi, bagian ini sensitif terhadap anoksia dan rusak karena keracunan. Penyakit yang sering terjadi yaitu nekrosis tubulus, hyperplasia atau hypoplasia tubulus. Faktor-faktor tersebut menyebabkan banyak peneliti menggunakan organ ginjal terutama pada tubulus proksimal ginjal (Susianti dkk, 2010).

4. Pembuatan Sediaan Histologi

a. Fiksasi

Fiksasi adalah salah satu langkah dalam histoteknik untuk mempertahankan kondisi jaringan ketika saat masih di dalam tubuh. Fiksasi merupakan salah satu langkah penting dalam histoteknik untuk menjaga kealamian dari jaringan dengan diawetkan pada cairan khusus. Fiksasi dilakukan untuk menghambat terjadinya degeneratif jaringan atau hilangnya proses metabolisme jaringan karena tidak adanya pasokan darah pada jaringan. Jaringan dilindungi dari kerusakan pada langkah-langkah histoteknik lainnya serta menghindari adanya hasil positif atau negatif palsu karena efek pewarnaan atau penggunaan bahan aktif lainnya (Khristian dan Inderiati, 2017).

Peningkatan efektivitas dan penyerapan larutan fiksasi pada jaringan, perlu diperhatikan hal-hal yang mempengaruhi fiksasi:

1) Suhu/Temperatur

Kenaikan suhu akan berpengaruh terhadap kecepatan penyerapan larutan fiksatif dengan jaringan yang akan meningkatkan proses degeneratif. Suhu kamar direkomendasikan untuk mempertahankan kondisi jaringan. Suhu kamar dapat ditingkatkan secara perlahan sampai 45°C.

2) Penetrasi Larutan

Waktu penetrasi diperhitungkan sebelum terjadinya autolisis pada jaringan. Penyerapan larutan fiksatif disesuaikan ciri difusi dan variasi dari materi satu ke materi lainnya.

3) Dimensi Spesimen

Dimensi spesimen akan mempengaruhi pada waktu penyerapan larutan fiksatif

4) Rasio Volume Terhadap Spesimen

Hubungan antara volume larutan fiksasi dengan specimen dimana hal ini nantinya akan mempengaruhi kecepatan konsentrasi dan penyerapan larutan fiksatif. Penggunaan larutan fiksatif yang kurang maka konsentrasi larutan akan menurun dan akan memperlambat penyerapan larutan fiksatif begitupun sebaliknya. 1:20 adalah perbandingan yang direkomendasikan untuk volume spesimen dan larutan fiksasi.

5) Tingkat Keasaman (pH)

6,6-7,2 merupakan pH yang sesuai untuk proses fiksasi dimana pH tersebut sesuai dengan pH jaringan. pH yang tidak sesuai akan membuat jaringan berubah strukturnya dan rusak.

Adapun prosedur untuk fiksasi jaringan adalah sebagai berikut :

- 1) Spesimen jaringan/organ dipotong dengan ukuran sekitar 4 mm
- 2) Rendam dengan larutan fiksasi sesuai dengan tujuan pewarnaan atau komponen target
- 3) Tunggu hingga tahap fiksasi selesai sempurna
- 4) Cuci dengan air mengalir atau aquades (jika diperlukan)
- 5) Lakukan tahap selanjutnya (Khristian dan Inderiati, 2017).

b. Pematangan Jaringan

Tahap ini terbagi menjadi tiga proses yaitu dehidrasi, *clearing* dan infiltrasi. Pematangan jaringan dilakukan dengan tujuan mengubah larutan fiksatif yang ada pada jaringan dengan larutan penyangga pada proses pematangan jaringan agar jaringan menjadi keras dan mudah dilakukan *grossing* pada tahap selanjutnya (Nurhilaliyah dkk, 2024).

1) Dehidrasi

Langkah ini bertujuan untuk mengeluarkan air dan larutan fiksatif pada jaringan. Larutan etanol 70%, 90%, 100% adalah larutan yang digunakan untuk proses dehidrasi.

2) *clearing*

Langkah ini dilakukan dengan tujuan sebagai perantara antara langkah dehidrasi dan infiltrasi. *clearing* akan menghilangkan larutan alkohol diproses dehidrasi pada jaringan.

3) Infiltrasi

Langkah ini dilakukan untuk menghilangkan larutan pada proses *clearing* dan menggantikannya dengan filtrat ke dalam jaringan agar jaringan dapat mengeras. Filtrat yang biasa digunakan pada proses infiltrasi yaitu paraffin.

c. Penanaman Jaringan

Alat yang biasanya digunakan pada proses penanaman jaringan adalah *embedding*. Jaringan diletakkan pada *base mold* lalu ditambahkan paraffin cair. Tujuan Langkah ini yaitu untuk memudahkan pemotongan jaringan pada proses selanjutnya. Adapun Langkah penanaman jaringan sebagai berikut:

- 1) Paraffin cair dituangkan secukupnya ke dalam *base mold*
- 2) Jaringan diposisikan sesuai dengan yang diharapkan
- 3) Dasar *base mold* didinginkan sehingga tidak terjadi perubahan posisi
- 4) Jaringan ditutup dengan kaset
- 5) Paraffin cair dituangkan kembali hingga batas maksimal
- 6) Jaringan pada *base mold* didinginkan hingga paraffin mengeras menjadi padat (Khristian dan Inderiati, 2017).

d. Pemotongan Jaringan

Langkah ini dilakukan dengan dua cara yaitu pemotongan kasar atau *trimming*. Langkah ini dilakukan bertujuan untuk mengurangi paraffin yang berlebih pada jaringan dengan pengaturan ketebalan mikrotom 15-30 mikrometer, tahap kedua yaitu potongan halus atau *sectioning* dengan menggunakan pengaturan ketebalan mikrotom 3-4 mikrometer bertujuan untuk menghasilkan pita jaringan yang dapat ditempelkan pada *object glass* (Khristian dan Inderiati, 2017).

e. Pewarnaan

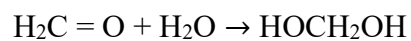
Langkah pewarnaan Hematoxylin Eosin pada sediaan jaringan diawali dengan tahap deparafinisasi menggunakan xylol dalam waktu 10-15 menit. Tahap selanjutnya yaitu rehidrasi dengan alkohol dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. Pewarnaan Hematoxylin dilakukan selama 15 menit lalu dilakukan pencucian dengan air mengalir, setelah itu diferensiasi proses dekolorisasi pada sitoplasma dengan alkohol lalu dicuci kembali dengan air mengalir tahap selanjutnya untuk memperjelas warna pada inti sel dilakukan blueing dengan lithium carbonat. Pewarnaan eosin selama 3-5 menit. Dehidrasi Kembali untuk menghilangkan air dengan alkohol konsentrasi rendah ke tinggi selama 1-3 menit dan lakukan *clearing* dengan xylol selama 3-5 menit. Tahap terakhir yaitu *mounting* penutupan jaringan di object glass dengan deck glass menggunakan entelan (Khristian dan Inderiati, 2017).

5. Neutral Buffered Formaline 10%

Formaldehid (CH_2O) adalah satu-satunya aldehid gas dan mengandung polimer larut yang akan mengalami depolimerisasi pada saat diencerkan. Formaldehid yang dilarutkan dalam air hingga mencapai saturasi pada 37%-40% umumnya disebut sebagai formalin atau larutan formaldehid pekat, sedangkan NBF 10% adalah salah satu jenis larutan fiksatif yang paling sering digunakan dalam proses fiksasi jaringan, satu bagian formaldehid biasanya diencerkan dengan sembilan bagian air atau buffer yang menghasilkan larutan NBF 10% dimana mengandung sekitar 4% formaldehid (Musyarifah, 2018). Ciri larutan fiksatif yaitu bisa menstabilkan pH serta memiliki osmolaritas yang baik untuk homeostatis jaringan dimana formalin ditambahkan garam (buffer phospat) dan disebut *Neutral Buffered Formaline* (NBF) untuk mencapai keadaan tersebut. Pembuatan NBF 10% didapatkan dari $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{Formaldehid 40\%} + \text{Aquadest}$. Formalin mengandung 10% metanol berfungsi untuk mencegah terbentuknya polimer yang lebih tinggi disebut sebagai paraformaldehida. Metilen hidrat terkandung dalam monomer formaldehida yang terbentuk karena adanya reaksi timbal balik terhadap

air. Formalin stock dalam bentuk buffered mengandung konsentrasi 4% yang bereaksi dengan protein pada jaringan. Larutan ini melakukan fiksasi dengan cara memasuki bagian rantai dasar asam amino, lisin dan ikatan peptida pada atom amida nitrogen, terbentuknya reaksi silang akan menyambungkan dua bagian formaldehida yang berikatan pada metilen, karena reaksi ini NBF bisa menurunkan permeabilitas makromolekul dengan merubah struktur molekul protein maka penetrasi ke jaringan lebih cepat terutama pada ukuran jaringan yang kecil ataupun besar (Khristian dan Inderiati, 2017).

Menurut Bancroft dkk (2013), dalam melakukan fiksasi, Formaldehida membentuk metilen hidrat, yaitu suatu metilen glikol.



Metilen hidrat bereaksi dengan beberapa rantai samping protein membentuk gugus samping hidroksimetil reaktif (-CH₂-OH). Formaldehida juga bereaksi dengan protein inti dan asam nukleat serta menstabilkan permukaan asam nukleat-protein dengan memodifikasi nukleotida juga, lalu bereaksi bersama gugus amino bebas seperti halnya dengan protein. Pada DNA terbuka dan bebas, reaksi ikatan silang dimulai pada daerah adenin-timin (AT) dan ikatan silang meningkat seiring dengan meningkatnya suhu. Formaldehida bereaksi dengan ikatan C-C dan -SH dalam lipid tak jenuh, tetapi tidak berinteraksi dengan karbohidrat. Rantai samping peptida atau protein paling reaktif terhadap metilen hidrat karena memiliki afinitas tinggi terhadap formaldehida seperti lisin, sistein, histidine, arginin, tirosin, dan gugus hidroksil reaktif serin dan treonin.

NBF 10% mempunyai kelebihan lain yaitu dapat membuat komponen jaringan lebih tahan lama, membuat jaringan lebih keras sehingga mudah untuk dipotong serta memungkinkan untuk disimpan dalam waktu Panjang dan skala yang besar (Fajrina dkk, 2018). NBF 10% memiliki kekurangan yaitu penetrasi yang lambat sekitar 12-24 jam (Miranti, 2010).

Pemakaian formalin memiliki efek yang bersifat negatif bagi Kesehatan membuat iritasi kulit, kanker, iritasi pada mata, gangguan

saluran pernafasan dan saluran pencernaan, neurotoksin, anomaly reproduksi serta kecacatan dalam perkembangan (Udonkang dkk, 2018).

Larutan fiksasi formalin 10% ini dapat menimbulkan sifat toksik pada jaringan dalam waktu yang cukup panjang, menimbulkan sifat toksik bagi petugas yang melakukan proses histoteknik serta kerusakan alam apabila terpapar dalam waktu yang lama (Salsabila dkk, 2023). Adapun kandungan yang terdapat pada NBF 10% yaitu:

Tabel 2.1 Kandungan NBF 10%

Kandungan NBF 10%	Volume
Aquadest	900 ml
Formaldehid 40%	100 ml
Natrium Dihidrogen Phospat (NaH_2PO_4)	4 gram
Disodium Hydrogen Phospat (Na_2HPO_4)	6,5 gram

(Sumber: Khristian dan Inderiati, 2017)

6. Asam Kandis (*Garcinia xanthochymus*)

Asam kandis berasal dari genus *Garcinia* merupakan salah satu tanaman yang berada di Asia beriklim tropis. Macam-macam kandungan yang terdapat pada asam kandis yaitu *xanton*, *benzofenon*, *triterpen*, *flavonoid*, *benzoquinone*, *senyawa α -mangostin*, *cowanin*, *cowanol*, *cowasanton*, *rubrasanton*, *β -mangosanton*, dan *tetrapreniltolouquinon*. Asam kandis juga memiliki sifat antimikroba dan antioksidan yang terdapat dalam asam-asam organik kandungan asam sitrat dan kandungan metabolit sekunder (Ilhamsyah dkk, 2018).



Sumber : Gardjito, (2024)

Gambar 2.3 Asam Kandis

Garcinia xanthochymus terdapat manfaat dalam biologis dan farmakologis seperti sitotoksik, antiinflamasi, antibakteri, antijamur, dan antioksidan. Buah ini memiliki warna jingga dan sangat masam. Salah satu kandungan yang terdapat pada asam kandis yaitu flavonoid. Flavonoid

merupakan bahan kimia yang terdapat dalam tumbuhan yang sifatnya alami, memiliki senyawa fenolik dan memiliki sifat polar. Jenis flavonoid yang terdapat pada ekstrak buah asam kandis (*Garcinia xanthochymus*) yaitu *methyldihydro quersetin*, *1,5-Dihydroxy-3-methoxy xanthone*, *Afzelechin*, *Myricetin-3-O-β-D-galactopirannoside*, dan *Myricetin 7-glucoside*. Lima senyawa ini bermanfaat sebagai antikanker, antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, dan antimikroba (Winata dkk, 2023).

Asam kandis memiliki kandungan antimikroba dan antioksidan yang memiliki kemampuan sebagai pengawet, sehingga menghalangi pertumbuhan mikroorganisme dan diharapkan dapat digunakan sebagai pengganti alternatif larutan fiksatif yang sifatnya aman dan alami, sehingga jaringan tetap sama seperti di dalam tubuh. Klasifikasi Ilmiah:

Kingdom : Plantae
 Phylum : Tracheophyta
 Sub Phylum : Angiospermae
 Klad : Eudikotil
 Ordo : Malpighiales
 Family : Clusiaceae
 Genus : *Garcinia*
 Spesies : *Garcinia xanthochymus* (Sunaryo, 2015).

Dalam mekanisme fiksasi suatu jaringan, kandungan asam sitrat dan metabolit sekunder yang terdapat pada asam kandis akan melakukan proses denaturasi protein kemudian zat asam tersebut akan bereaksi membentuk metilen hidrat sama halnya dengan formalin di dalam jaringan, selanjutnya memecah ikatan peptida dan mengubah susunan protein jaringan kemudian terjadi proses fiksasi di dalamnya dan membuat jaringan memadat untuk mempertahankan struktur selnya sehingga didapatkan struktur organ sesuai yang diharapkan saat proses pembedahan.

7. Etanol

Etil alcohol atau etanol adalah salah satu jenis alkohol murni. Etanol memiliki masa 5 molekul relatif 46,07 g/mol, titik didih normal 78,32°C, titik beku -114,1°C, densitas pada 20°C 0,7893 g/mol, kelarutan dalam air 20°C sangat larut, visikositas pada 20°C (Anggraini dkk, 2017).

Etanol merupakan jenis alkohol yang umum dipakai untuk pelarut. Etanol ini memiliki kemampuan polaritas yang tinggi dan non toksik. Karena sifar polaritas nya yang tinggi, etanol tidak sukar untuk larut pada air maupun dengan pelarut organik lain (Dianda dan Suharti, 2023). Etanol sering digunakan sebagai pelarut karena bisa dipakai pada semua metode ekstraksi, harganya yang relatif murah, mudah ditemukan, efisien, aman untuk lingkungan, mempunyai tingkat ekstraksi yang tinggi (Chen dkk, 2020). Konsentrasi yang berbeda apabila etanol dijadikan pelarut bisa merubah kelarutan senyawa fenolik pada pelarut (Prayitno dkk, 2016). Pelarut etanol memiliki tingkat kepolaran yang cukup tinggi maka akan melarutkan sebuah kandungan dalam ekstrak dengan maksimal sehingga hasil yang diperoleh optimal (Noviyanty dkk, 2018).

8. Penilaian Preparat

Tabel 2.2 Penilaian Kualitas Sediaan

No	Parameter Penilaian	Skor
1.	Inti Sel	
	Tidak baik	1
	Baik	2
2.	Sitoplasma Sel	
	Tidak baik	1
	Baik	2
3.	Intensitas Pewarnaan	
	Tidak baik	1
	Baik	2
4.	Keseragaman Warna	
	Tidak baik	1
	Baik	2

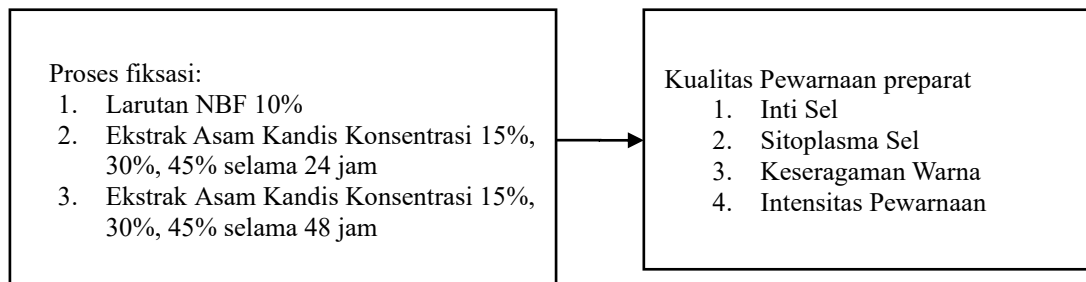
(Sumber: Sravya dkk, 2018 dimodifikasi BPMPPPI)

Tabel 2.3 Skoring Mikroskopis Sediaan

No	Deskripsi	Nilai
1	Tidak Baik	4-6
2	Baik	7-8

(Sumber: Sravya dkk, 2018 dimodifikasi BPMPPPI)

B. Kerangka Konsep



C. Hipotesis

H_0 : Tidak ada perbedaan kualitas sediaan histologi yang difiksasi dengan NBF 10% dan ekstrak asam kandis 15%, 30%, 45% selama 24 dan 48 jam.

H_1 : Ada perbedaan kualitas sediaan histologi yang difiksasi dengan NBF 10% dan ekstrak asam kandis 15%, 30%, 45% selama 24 dan 48 jam.