

**PENGARUH LAMA FIKSASI BNF 10% DAN METANOL
TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS JARINGAN
DENGAN PEWARNAAN HE (*Hematoxylin-Eosin*)**

Manuscript

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
Pendidikan Diploma IV Kesehatan
Bidang Analis Kesehatan



Di susun oleh :

**AVIANA FITRI RAHMADANI
G1C217228**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

2018

HALAMAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

**PENGARUH LAMA FIKSASI BNF 10% DAN METANOL
TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS JARINGAN
DENGAN PEWARNAAN HE (*Hematoxylin-Eosin*)**

Telah diperiksa dan disetujui untuk mempublikasikan

Semarang, 02 Oktober 2018

Pembimbing I



Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si.Med

NIK. 28.6.1026.034

Pembimbing II



Arya Iswara, M.Si.Med

NIK. 28.6.1026.224

**SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Nama : Aviana Fitri Rahmadani
NIM : G1C217228
Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah
Semarang/ DIV Analis Kesehatan
Jenis Penelitian : Skripsi
Judul : PENGARUH LAMA FIKSASI BNF 10% DAN METANOL
TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS JARINGAN
DENGAN PEWARNAAN HE (*Hematoxylin-Eosin*)
Email : rahmadaniaviana@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan
2. Memberikan hak penyimpanan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelolah dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta ijin dari saya selama masih mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta.
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 08 Oktober 2018

Yang menyatakan



Aviana Fitri Rahmadani

PENGARUH LAMA FIKSASI BNF 10% DAN METANOL TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS JARINGAN DENGAN PEWARNAAN HE (*Hematoxylin-Eosin*)

Aviana Fitri Rahmadani¹, Sri Sinto Dewi², Arya Iswara²

¹Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

²Laboratorium Histology Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel

Abstrak

Kata Kunci

BNF 10%,
Fiksasi,
Hematoxylin-Eosin, Metanol

Fiksasi adalah suatu metode untuk mempertahankan komponen-komponen sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan dan tidak mudah rusak. Bahan pengawet yang rutin digunakan dalam proses fiksasi adalah larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% merupakan cairan fiksatif untuk mengawetkan jaringan pada pemeriksaan histopatologi rutin. Selain BNF 10% larutan fiksasi yang dapat digunakan adalah metanol. Secara umum fiksasi dilakukan selama 12-24 jam. Waktu fiksasi tergantung dari jenis fiksatifnya. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh lama fiksasi BNF 10% dan metanol terhadap gambaran mikroskopis jaringan dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Jenis penelitian deskriptif analitik. Sampel penelitian ini adalah organ hati dan ginjal hewan coba kelinci kemudian difiksasi dengan BNF 10% dan metanol selama 6, 24 jam dan 7 hari sampel dibuat preparat histology dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* kemudian dinilai gambaran sediaan. Hasil penelitian fiksasi BNF 10% dengan menggunakan variasi waktu 6 jam dan 24 jam diperoleh hasil gambaran mikroskopisnya baik. Sedangkan, pada fiksasi 7 hari diperoleh hasil kurang baik. Jaringan yang difiksasi menggunakan metanol dengan variasi waktu 6, 24 jam dan 7 hari diperoleh hasil gambaran mikroskopis untuk keseluruhan kurang baik. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis Test* untuk sampel yang difiksasi menggunakan larutan fiksatif BNF 10% dan Metanol masing-masing diperoleh nilai 0,082 > 0,05 yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan fiksasi menggunakan BNF 10% dan metanol terhadap gambaran mikroskopis.

Pendahuluan

Histologi adalah cabang ilmu kedokteran yang mempelajari struktur dan sifat jaringan dan organ tubuh untuk menjelaskan fungsinya dalam keadaan normal, termasuk perubahannya sepanjang usia dan dalam keadaan sakit (Wonodirekso, 2003).

Salah satu metode membuat sajian histologi yaitu metode histoteknik. Teknik ini merupakan salah satu teknik laboratorium yang dipergunakan dalam kegiatan eksperimental. Hasil pemeriksaan dari teknik ini adalah berupa spesimen mikroskopik setelah dilakukan pewarnaan sesuai dengan yang dibutuhkan, salah satunya adalah dengan

pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) (Alwi, 2016).

Tahapan histoteknik salah satunya adalah fiksasi. Fiksasi (pengawetan) adalah stabilisasi unsur penting pada jaringan sehingga unsur tersebut tidak terlarut, berpindah, atau terdistorsi selama prosedur selanjutnya. Fiksasi yang benar merupakan dasar dari semua pembuatan preparat yang baik. Fungsi fiksasi adalah menghambat proses pembusukan dan autolisis, pengawetan, pengerasan jaringan, pepadatan koloid, diferensiasi optik, dan berpengaruh terhadap pewarnaan (Bancoft, 2008).

*Corresponding Author:

Aviana Fitri Rahmadani

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : rahmadaniaviana@gmail.com

Sehingga proses fiksasi sangat penting dalam pemeriksaan histologi jaringan manusia maupun hewan. Pada jaringan hewan apabila dibiarkan lama setelah penyembelihan akan menyebabkan autolisis. Selain menyebabkan kualitas daging menurun autolisis juga menyebabkan gangguan dalam mendiagnosis jaringan secara histopatologi, karena autolisis memiliki ciri-ciri yang menyerupai nekrosis seperti sel yang mengalami piknosis yang ditandai dengan hiperkromatik dengan inti sel yang mengecil (Kroemer, 2005).

Autolisis merupakan perlemakan dan pencairan jaringan yang terjadi dalam keadaan steril melalui proses kimia yang disebabkan oleh enzim-enzim intraseluler, dengan kata lain autolisis merupakan penghancuran jaringan atau sel-sel dari suatu organisme oleh enzim, yang diproduksi oleh sel itu sendiri. Sehingga organ-organ yang kaya dengan enzim akan mengalami proses autolisis lebih cepat dari pada organ-organ yang memiliki sedikit enzim. Organ dalam seperti paru, otot polos, otot lurik dan otot jantung mempunyai kecenderungan mengalami autolisis yang lebih lambat dibandingkan organ seperti hati, pankreas dan ginjal (Hasan, 2015).

Bahan pengawet yang rutin digunakan dalam proses fiksasi adalah larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% merupakan cairan fiksatif untuk mengawetkan jaringan pada pemeriksaan histopatologi rutin. Alasan pemilihan cairan ini karena penggunaannya lebih mudah dan dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam kurun waktu yang cukup lama (Miranti, 2010).

Selain BNF 10% larutan fiksasi yang dapat digunakan adalah metanol. Metanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Selain itu, metanol lebih mudah diperoleh dan lebih murah jika dibandingkan dengan BNF 10%. Secara umum fiksasi dilakukan selama 12-24 jam. Waktu fiksasi tergantung dari jenis fiksatifnya, larutan formalin harus membutuhkan waktu minimal 24 jam baru bisa dilakukan dehidrasi. Jika jaringan difiksasi dengan formalin selama 24 jam maka sebagian besar dari formalin tersebut akan luruh, tetapi formaldehida bereaksi sangat cepat dengan komponen jaringan dan sebagian reaksi bersifat reversibel. Semakin lama fiksasi dengan formalin dapat menyebabkan penyusutan dan pengerasan dari jaringan (Jamie et al, 2010).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh lama fiksasi BNF 10% dan metanol terhadap gambaran mikroskopis jaringan dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*.

Bahan dan Metode

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskriptif analitik dengan menggunakan desain *cross sectional*.

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer. Data yang dikumpulkan langsung oleh peneliti. Data dalam penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel. Semua data yang telah diperoleh dari hasil penilaian dicatat, dianalisis dan diberi skor sesuai dengan kriteria kemudian dilakukan pengolahan data menggunakan Kruskal-Wallis test dengan SPSS

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli-Agustus 2018 di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang, Laboratorium Patologi Anatomi Asri Medical Center Yogyakarta dan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Moewardi Surakarta. Sampel diambil dari jaringan organ tubuh hewan coba (kelinci), dilakukan pembedahan kemudian diambil organ hati dan ginjal yang masih segar, jaringan dipotong masing-masing dimasukkan kedalam wadah yang berisi larutan fiksatif. Kemudian difiksasi selama 6, 24 jam dan 7 hari. Selanjutnya dilakukan pengolahan jaringan, pewarnaan HE dan pembacaan hasil dibawah mikroskop 100x.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, 80%, 96% absolute, *dek glass*, entelan, *eosin*, fiksatif BNF 10%, fiksatif metanol, *Hematoxylin*, kaca *objek glass*, paraffin dan xylol. Alat yang digunakan adalah alat pelindung diri (APD), alat ukur, alat untuk pengeblokan, alat untuk pemotongan blok paraffin, alat untuk pewarnaan, kaset, mesin pengolahan jaringan *Tissue processing*, mikroskop, pisau jaringan (*makro knife*), pinset, wadah/botol kaca bermulut besar, telenan, Water bath (*Section Floation Bath*) dan Hot plate.

Hasil

Pada penelitian ini untuk hasil pengamatan gambaran mikroskopis jaringan menggunakan tiga skor kriteria pewarnaan yaitu skor 1 (tidak baik) jika Warna biru pada inti sel tidak jelas, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan jaringan ikat tidak jelas serta

warna pada preparat tidak seragam, skor 2 (kurang baik) jika warna biru pada inti sel kurang, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang, serta keseragaman warna pada preparat kurang. Tetapi masih bisa didiagnosis, dan skor 3 (baik) jika warna biru pada inti sel, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam.

Berdasarkan tabel hasil penelitian gambaran mikroskopis jaringan organ hati dan ginjal yang difiksasi dengan larutan BNF 10% selama 6 dan 24 jam diperoleh hasil gambaran mikroskopisnya baik, sedangkan untuk fiksasi

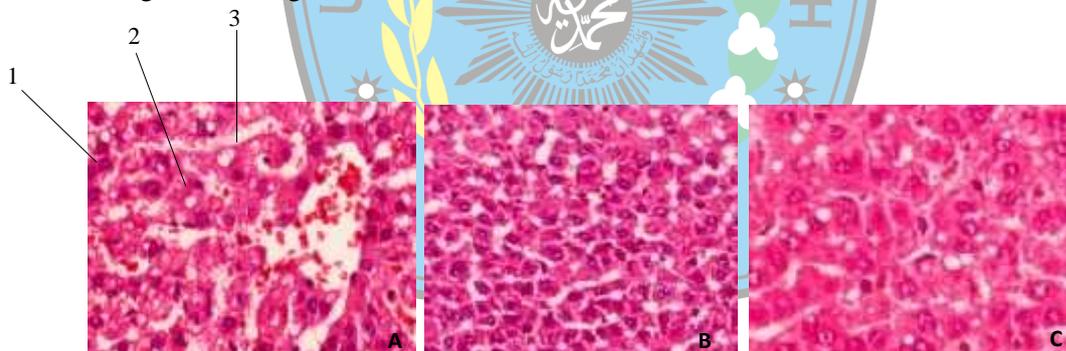
selama 7 hari gambaran mikroskopisnya yang diperoleh kurang baik. Sedangkan, hasil penelitian gambaran mikroskopis jaringan organ hati dan ginjal yang difiksasi dengan larutan metanol selama 6, 24 jam dan 7 hari gambaran mikroskopis jaringan diperoleh hasil kurang baik.

Tabel 1. Hasil pewarnaan HE jaringan hati-ginjal yang difiksasi BNF 10% dan Metanol

BNF 10%	Variasi Waktu											
	6 jam		Hati 24 jam		7 hari		6 jam		Ginjal 24 jam		7 hari	
Kualitas Skala	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
Tidak Baik	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kurang baik	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1
Baik	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0

Metanol	Variasi Waktu											
	6 jam		Hati 24 jam		7 hari		6 jam		Ginjal 24 jam		7 hari	
Kualitas Skala	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
Tidak Baik	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kurang baik	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Baik	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Hasil pengamatan mikroskopis jaringan dengan fiksasi BNF 10% dan metanol dilampirkan dalam bentuk gambar sebagai berikut :



Gambar 1. Hasil gambaran mikroskopis pewarnaan HE pada jaringan hati dengan fiksasi BNF 10% pembesaran 100x. Keterangan : (A) 6 jam, (B) 24 jam dan (C) 7 hari.

(1) Inti sel, (2) Membran sel dan (3) Sitoplasma.

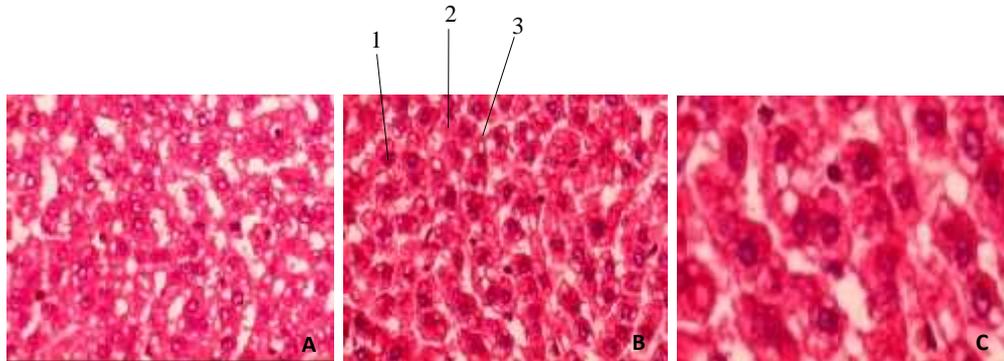


Gambar 2. Hasil gambaran mikroskopis pewarnaan HE pada jaringan ginjal dengan fiksasi BNF 10% pembesaran 100x. Keterangan : (A) 6 jam, (B) 24 jam dan (C) 7 hari.

(1) Inti sel, (2) Membran sel dan (3) Sitoplasma.

Berdasarkan gambar hasil pengamatan mikroskopis diatas didapatkan hasil mikroskopis baik dengan skor (3) pada fiksasi BNF 10% selama 6 dan 24 jam yang ditandai dengan warna biru pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam.

Sedangkan, untuk fiksasi selama 7 hari gambaran mikroskopisnya yang diperoleh kurang baik dengan skor (2) ditandai dengan warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna pada preparat kurang.



Gambar 3. Hasil gambaran mikroskopis pewarnaan HE pada jaringan hati dengan fiksasi metanol pembesaran 100x.
Keterangan : (A) 6 jam, (B) 24 jam dan (C) 7 hari.
(1) Inti sel, (2) Membran sel dan (3) Sitoplasma.



Gambar 4. Hasil gambaran mikroskopis pewarnaan HE pada jaringan ginjal dengan fiksasi metanol pembesaran 100x.
Keterangan : (A) 6 jam, (B) 24 jam dan (C) 7 hari.
(1) Inti sel, (2) Membran sel dan (3) Sitoplasma.

Berdasarkan gambar hasil pengamatan mikroskopis diatas didapatkan hasil jaringan yang difiksasi menggunakan metanol dengan variasi waktu 6, 24 jam dan 7 hari diperoleh hasil untuk keseluruhan kurang baik dengan

Diskusi

BNF 10% secara umum merupakan cairan fiksatif yang digunakan untuk mengawetkan jaringan pada pemeriksaan histologi rutin. Cairan fiksasi ini dipilih karena penggunaannya lebih mudah dan dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam kurun waktu yang cukup lama. Larutan formalin yang digunakan sebagai pengawet jaringan biasanya berkadar 10% dengan

skor (2), ditandai dengan warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna pada preparat kurang.

ditambahkan buffer phospat sebagai penyangga didalan sel. Daya fiksasinya cenderung lambat yakni 12-24 jam. Larutan ini akan mengawetkan struktur halus (fine structures), fosfolipida, dan beberapa enzim dengan sangat baik (Luna, 2000).

Metanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Alkohol tidak secara rutin digunakan untuk mengawetkan jaringan karena menyebabkan terlalu rapuh dan keras

(Nasar, 2008).

Larutan ini merupakan fiksatif umum jaringan yang kurang baik karena tidak dapat memfiksasi bahan inti (kromatin) secara memadai. Bahan ini merupakan koagulan sitoplasma yang baik tetapi tidak dapat digunakan untuk memfiksasi lipida karena lipida larut dalam alkohol. Etil alkohol akan mengeraskan jaringan tetapi kadang digunakan sebagai fiksatif untuk enzim tertentu (Suntoro, 1983).

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan jaringan hati/ginjal dengan ukuran jaringan 1x1 cm kriteria penilaian menunjukkan gambaran mikroskopis baik pada fiksasi BNF 10% selama 6 dan 24 jam yang ditandai dengan warna biru pada inti sel, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam ini dikarenakan larutan BNF 10% memiliki kemampuan penetrasi yang cukup baik pada jaringan. Sedangkan, untuk fiksasi selama 7 hari gambaran mikroskopisnya yang diperoleh kurang baik karena terjadi over fiksasi pada jaringan menyebabkan penyerapan HE kurang sempurna sehingga warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna pada preparat kurang. Tetapi preparat tersebut masih bisa untuk didiagnosis. Hal ini disebabkan karena terlalu lamanya organ berada dalam cairan formalin ketika dilakukan fiksasi. Sedangkan waktu yang dilakukan untuk fiksasi secara umum adalah 12-24 jam (Rina S. et al, 2013).

Ketika fiksasi dilakukan lebih lama, akan terjadi ikatan silang yang bersifat ireversibel sehingga cairan fiksasi tidak dapat lepas dari jaringan sehingga terjadilah pengerasan jaringan. Jika waktu fiksasi yang dilakukan lebih dari waktu yang disarankan, maka nantinya dapat memberikan dampak yang buruk terhadap pembedahan organ (Hopwood et al, 1990).

Jaringan yang difiksasi menggunakan metanol dengan variasi waktu 6, 24 jam dan 7 hari diperoleh hasil secara makroskopis organ yang difiksasi dengan metanol mengalami penyusutan setelah berada dalam larutan fiksatif sehingga gambaran mikroskopis yang dihasilkan untuk keseluruhan kurang baik. Ditandai dengan warna biru pada inti sel kurang, warna merah pada sitoplasma dan jaringan ikat kurang serta keseragaman warna

pada preparat kurang. Hal ini disebabkan daya tembus larutan yang kurang baik dikarenakan larutan methanol yang bersifat asam menyebabkan jaringan cepat menjadi keras dan mengkerut. Penyusutan akibat fiksasi yang terlalu lama membuat pori-pori membran sel membesar, sehingga ketika dilakukan dehidrasi, alkohol yang bersifat hidrofilik membuat cairan di dalam sel akan mudah keluar ke ekstrasel (Jamie et al, 2010).

Hematoxylin berperan sebagai warna dasar pada proses pewarnaan, warna struktur dalam jaringan tampak bewarna ungu kebiruan. Kurang adekuatnya *Hematoxylin* yang mewarnai bagian inti seluler oleh fiksasi yang tidak adekuat. Penyebab lainnya adalah processing jaringan, pembedahan jaringan yang tipis dan pH larutan fiksatif yang kurang tepat. Pada pewarnaan *eosin* berperan sebagai pewarna asam yang mewarnai komponen jaringan yang tidak berinti sehingga bewarna merah sampai merah muda. Akibat fiksasi yang buruk mempengaruhi sitoplasma menjadi lebih pucat dan samar dan waktu pewarnaan yang tidak adekuat. Hal ini sesuai dengan ikatan asam basa pada pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Dengan demikian penelitian ini sesuai dengan peneliti sebelumnya yang menyimpulkan BNF 10% lebih baik untuk memfiksasi jaringan (Julianti, 2017).

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Jaringan hati/ginjal dengan ukuran 1x1cm fiksasi BNF 10% selama waktu 6 jam dan 24 jam diperoleh hasil gambaran mikroskopisnya sudah cukup baik untuk menghasilkan sediaan yang baik. Sedangkan, pada fiksasi 7 hari diperoleh hasil kurang baik karena pada jaringan terjadi over fiksasi. Jaringan yang difiksasi menggunakan metanol dengan variasi waktu 6, 24 jam dan 7 hari diperoleh hasil gambaran mikroskopis untuk keseluruhan kurang baik. Berdasarkan hasil uji statistik menggunakan uji Non Parametrik *KruskalWallis Test* untuk sampel yang difiksasi menggunakan larutan fiksatif BNF 10% dan Metanol masing-masing diperoleh nilai $0,082 > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh lama fiksasi BNF 10% dan metanol terhadap gambaran mikroskopis.

Saran

Jaringan hati/ginjal ukuran 1x1 cm fiksasi BNF 10% selama 6 dan 24 jam sudah cukup baik untuk menghasilkan sediaan yang baik dan bagi peneliti selanjutnya dapat melanjutkan penelitian ini dengan fiksatif yang berbeda, jaringan yang berbeda serta ukuran jaringan yang berbeda.

Referensi

- Alwi, M. A. (2016). Fiksasi 2 Minggu Pada Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, Dan Pankreas Tikus. Skripsi.
- Bancroft JD dan Gamble M. (2008). *Theory and Practice of Histological Techniques: Immunohistochemical Techniques*. United State: Churchill Livingstone Elsevier p.433-53.
- Hasan, A. F. (2015). Perbandingan Autolisis Organ Jantung dan Ginjal Sapi Bali pada Beberapa Periode Waktu Pasca Penyembelihan, 4(4), 305–313.
- Hopwood D, Bancroft, John D, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques : Fixation and Fixatives*. 3rd Edition. Edinburgh, New York : Churchill Livingstone. 1990.
- Jamie M, Kumar, George L, Kiernan, John A. (2010). *Education Guide : Special Stains and H&E* Second Edition. California, US : Dako North America.
- Juliati. (2017). Gambaran Mikroskopis Ca Mammae Yang Difiksasi Dengan BNF 10% Dan Alkohol 70% Pada Pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Skripsi.
- Kroemer, G. (2005). Classification of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death. *Cell Death Differ*. 12: 1463–1467.
- Luna, H.T. (ASCP), 2000. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*.
- Miranti, (2010) Pengolahan jaringan untuk penelitian hewan coba.
[http : // eprints. Undip. ac. Id. / 22187 / 1 / 01 terkini - dr ika - 01 - 04.pdf](http://eprints.undip.ac.id/22187/1/01%20terkini%20-%20dr%20ika%20-%2004.pdf)
Diakses Tanggal 13 April 2018.

Suntoro, H. 1983. *Metode Pewarnaan : Histologi dan Histokimia*. Bagian Anatomi dan Mikrotehnik Hewan Fakultas Biologi UGM. Jakarta : Penerbit Bhiratara Karya Aksara.

Wonodirekso, S. Penuntun Praktikum Histologi, Edisi 1. Jakarta Pusat : Penerbit Dian Rakyat, 2003.