

## ***Pengaruh penggunaan larutan bouin dan formalin pada sel telur kepiting kampat (*Varuna litterrata*) yang tertanam dalam paraffin***

*Effect of using bouin's and formalin solutions upon the paddle crab's (*Varuna litterrata*) eggs cells embedded in paraffin*

**Pupimadita Tizar Afdora<sup>1</sup>, Fani Fariedah<sup>2\*)</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Histologi, Institut Biosains, Universitas Brawijaya, Malang 65145, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Manajemen Sumberdaya Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang 65145, Indonesia

### **Abstrak**

Larutan Bouin dan formalin adalah bahan pengawet yang sering digunakan dalam histologi untuk menjaga keutuhan struktur dan komponen sel selama proses pemrosesan sampel. Penggunaan larutan Bouin dan formalin memiliki beberapa keterbatasan dan efek samping yang perlu diperhatikan, seperti penurunan antigenitas dan perubahan morfologi sel yang mungkin terjadi. Perlu dilakukan penelitian untuk memastikan penggunaan larutan yang tepat dan efektif. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas penggunaan bouin dan formalin sebagai larutan fiksatif dalam proses pembuatan preparat histologi dengan menggunakan paraffin pada sel telur kepiting kampat (*Varuna litterrata*). Hasil yang diperoleh menunjukkan pada bagian oogonia, gelembung kuning telur, gelembung vakuola, sel folikel dan inti folikel terlihat lebih baik dengan metode fiksasi menggunakan larutan formalin. Sedangkan pada hasil fiksasi dengan larutan bouin menunjukkan pada bagian oogonia, gelembung kuning telur serta bagian folikel nukleus mengalami pengerutan sehingga bagian-bagian tersebut tidak terlihat dengan jelas apabila dibandingkan dengan hasil dari larutan formalin. Penggunaan larutan formalin dapat direkomendasikan untuk fiksasi sel telur kepiting kampat sehingga hasil yang diperoleh lebih jelas dan akurat.

Kata Kunci : Bouin, Fiksatif, Formalin, Parafin, Sel Telur

### **Abstract**

Bouin's and formalin solution are commonly used fixatives in histology to preserve the integrity of tissue structures and cellular components during sample processing. The use of Bouin's and formalin solution has certain limitations and potential side effects that need to be considered, such as reduced antigenicity and potential changes in cell morphology. Research is essential to ensure the appropriate and effective use of these solutions. This study aims to compare the effectiveness of Bouin's and formalin solution as fixatives in the histological preparation process using paraffin embedding on the eggs of the Paddle crab (*Varuna litterrata*). The obtained results indicate that in the oogonia, yolk vesicles, vacuole globulle, follicle cells, and follicle nuclei sections, a better visualization is achieved using the formalin fixation method. Conversely, when fixed with Bouin's solution, the oogonia, yolk vesicles, and follicle nucleus sections exhibit shrinkage, resulting in less clear visibility compared to the results obtained from formalin fixation. The use of formalin solution is recommended for fixing Paddle crab's eggs, thereby providing clearer and more accurate results.

Keywords : Bouin, Eggs Cells, Fixatives, Formalin, Paraffin

### **1. Pendahuluan**

Penggunaan bahan pengawet dalam bidang biologi khususnya dalam bidang histologi telah lama menjadi fokus penting dalam menjaga integritas jaringan dari organisme yang dikaji. Dalam konteks ini, larutan Bouin dan formalin telah menjadi dua agen pengawet yang sangat penting dan sering digunakan. Larutan-larutan ini digunakan untuk mempertahankan struktur anatomi dan mencegah dekomposisi jaringan biologis, sehingga memungkinkan penyelidikan mikroskopik yang mendalam dan analisis histologis yang akurat. Efektivitas larutan Bouin dan formalin telah mendapat perhatian luas dalam berbagai aplikasi ilmiah dan medis, karena kemampuannya untuk mempertahankan

morfologi dan menghentikan proses degenerasi selama proses preparasi sampel (Rai, Bhardwaj, and Verma 2016).

Dalam penelitian histologis, mempertahankan struktur dan komposisi jaringan adalah langkah awal krusial dalam analisis. Larutan Bouin, yang mengandung campuran formaldehid, asam asetat glasial, dan larutan pikrat, telah dikenal karena kemampuannya yang luar biasa dalam memitigasi kontraksi jaringan dan mereduksi efek pengerutan. Formalin, yang merupakan larutan formaldehid dalam air, juga telah menjadi pilihan umum untuk pengawetan jaringan. Namun, dalam beberapa kasus, pilihan antara larutan Bouin dan formalin dapat tergantung pada tujuan spesifik preparasi dan karakteristik jaringan yang akan diselidiki (Lenz et al. 2022; Rai, Bhardwaj, and Verma 2016; Trianto et al. 2015).

Larutan Bouin sering diutamakan dalam preparasi histologis ketika diperlukan preservasi yang lebih baik terhadap komponen selular tertentu, seperti nukleus dan sitoplasma, serta struktur-protein kaya seperti serat kolagen. Kekuatan larutan Bouin dalam mempertahankan kejernihan dan kecerahan warna selama proses pewarnaan histokimia telah membuatnya menjadi pilihan utama dalam banyak analisis imunohistokimia dan penelitian terkait struktur jaringan (Adeniran et al. 2021). Sementara larutan Bouin memiliki keunggulan tertentu, formalin tetap menjadi pilihan yang sangat umum dalam banyak aplikasi. Formalin lebih cocok untuk pengawetan jaringan yang akan digunakan dalam analisis patologi klinis, di mana tujuannya adalah memastikan diagnostik yang akurat. Keamanan dan ketersediaan formalin juga menjadi pertimbangan penting dalam konteks pengawetan jaringan untuk penelitian (Adeniran et al. 2021).

Penelitian ini menggunakan kepiting kampat (*Varuna litterata*) dalam pembuatan preparat histologi telur memiliki alasan yang kuat berdasarkan aspek biologis dan penelitian ilmiah. Kepiting kampat dipilih sebagai subjek penelitian karena memiliki karakteristik biologi yang unik terkait dengan reproduksi dan perkembangan telur. Telur kepiting kampat memiliki struktur dan komponen yang penting untuk dipelajari dalam konteks reproduksi dan perkembangan organisme ini. Dengan memahami secara mendalam tentang morfologi dan perkembangan telur kepiting kampat melalui histologi, kita dapat mengungkapkan wawasan baru mengenai tahapan-tahapan penting dalam siklus hidup kepiting ini. Selain itu, pemahaman yang lebih baik tentang struktur telur kepiting kampat melalui analisis histologi juga dapat memberikan informasi berharga untuk konservasi spesies, manajemen sumber daya perikanan, dan pemahaman ekologi reproduksi kepiting kampat secara lebih luas (Jumawan, Ruales, and Avila 2022). Oleh karena itu, penggunaan kepiting kampat dalam pembuatan preparat histologi telur menjadi krusial untuk mengungkapkan siklus reproduksi dan perkembangan spesies ini. Penggunaan cairan fiksatif dalam proses fiksasi telur kepiting sampel telur kepiting kampat (*Varuna litterata*) dengan menggunakan larutan formalin dan larutan Bouin didorong oleh kebutuhan untuk mengeksplorasi dan membandingkan efek dari bahan pengawet ini terhadap pelestarian dan visualisasi struktur telur.

Dalam melaksanakan eksperimen ini, tujuan kami adalah memberikan pemahaman komprehensif tentang bagaimana formalin dan larutan Bouin memengaruhi pelestarian dan visualisasi struktur telur kepiting kampat. Dengan membandingkan hasil perlakuan ini, kami dapat memberikan rekomendasi berdasarkan informasi yang baik untuk bahan pengawet yang paling cocok dalam penelitian histologis di masa depan yang melibatkan sampel telur kepiting kampat atau organisme serupa. Pada akhirnya, penelitian ini berkontribusi pada penyempurnaan teknik histologis, meningkatkan kemampuan kita untuk mengurai kompleksitas biologi reproduksi kepiting kampat dan ekologi krustasea secara lebih luas.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1. Materi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober - November 2022 di Laboratorium Histologi dan Laboratorium Mikroskop Institut Biosains - Universitas Brawijaya Malang.

### 2.2. Metode Penelitian

#### 2.2.1. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan di daerah hutan bakau pada saat pantai surut di waktu malam hari. Jumlah sampel yang digunakan adalah 10 ekor kepiting kampat betina yang berbeda ukuran dan fase reproduksinya. Setelah pengambilan, kepiting dibawa ke laboratorium untuk diambil bagian telurnya dan dimasukkan dalam cairan pengawet (fiksatif).

#### 2.2.2. Alat dan bahan

Penelitian ini menggunakan alat antara lain Tissue Tek TEC 5 Embedding tissue console and cryo console (Sakura), Rotary Microtome 200 SRM (Sakura), Microscope Olympus BX 53, Mikroskope Olympus CX22LED, Round Waterbath (Sakura), Hotplate (Sakura), pinset dan toples (tempat untuk proses dehidrasi, penjernihan dan pewarnaan). Sedangkan bahan yang digunakan antara lain Ethanol Absolut (Merck), Ethanol bertingkat, Aquadest, Xylene (Smartlab), Paraffin (Sakura), Hematoxylin (Medici), Eosin (Pathchem), Object glass, Cover Glass dan Unicassete.

#### 2.2.3. Pembuatan preparat paraffin

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa telur kepiting kampat. Telur yang diperoleh, dipisahkan dalam 2 jenis larutan yaitu larutan formalin 10% dan larutan bouin kemudian dibiarkan selama 24 jam untuk proses fiksasi. Telur yang sudah terfiksasi dilanjutkan kedalam tahap dehidrasi dengan cara dimasukkan dalam unicassete berlabel dan direndam dalam air mengalir, larutan dehidrasi alkohol bertingkat (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, absolute I, absolute II, absolute III) masing-masing selama 60 menit. Langkah berikutnya unicassete dipindahkan dalam larutan penjernihan (xylene I, Xylene II, Xylene III) masing-masing selama 60 menit. Unicassete dipindahkan ke di Tissue Tek TEC 5 Embedding tissue console (Sakura), diamkan selama 3 - 8 jam untuk proses infiltrasi dan dilanjutkan dengan penempelan dalam paraffin di Tissue Tek TEC 5 Cryo console (Sakura) Pemotongan dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ukuran pita 3 - 5  $\mu$ m pita paraffin dengan  $\pm$  4 potongan jaringan diletakkan di round waterbath (Sakura) yang telah diatur pada suhu 40 - 45 °C. Pita paraffin diambil menggunakan gelas obyek yang terlabel dan diletakkan diatas hot plate yang diatur pada suhu 35 - 45 °C dan dibiarkan selama  $\pm$  5 jam atau semalaman. Slide dimasukkan ke larutan deparafinasi (xylene 1 dan xylene 2) menit, ke larutan rehidrasi (alkohol absolute, 90%, 80%, 70%) dan air mengalir @ selama 5 menit. Kemudian slide direndam dengan menggunakan hematoxylin selama 5 menit dan dicuci menggunakan air mengalir. Langkah berikutnya, slide direndam kembali dengan eosin selama 5 menit dan dicuci dengan air mengalir serta dilanjutkan dengan dehidrasi (80%, 90%, alkohol absolute) selama 1 menit dandirendam kembali dalam xylene (I dan II) selama 5 menit. Slide yang sudah kering dapat ditutup dengan cover glass setelah diberikan Entellan sebagai cairan mounting. Slide prepare telur kepiting diamati menggunakan Microscope Olympus BX 53 dengan perbesaran objektif 40x.

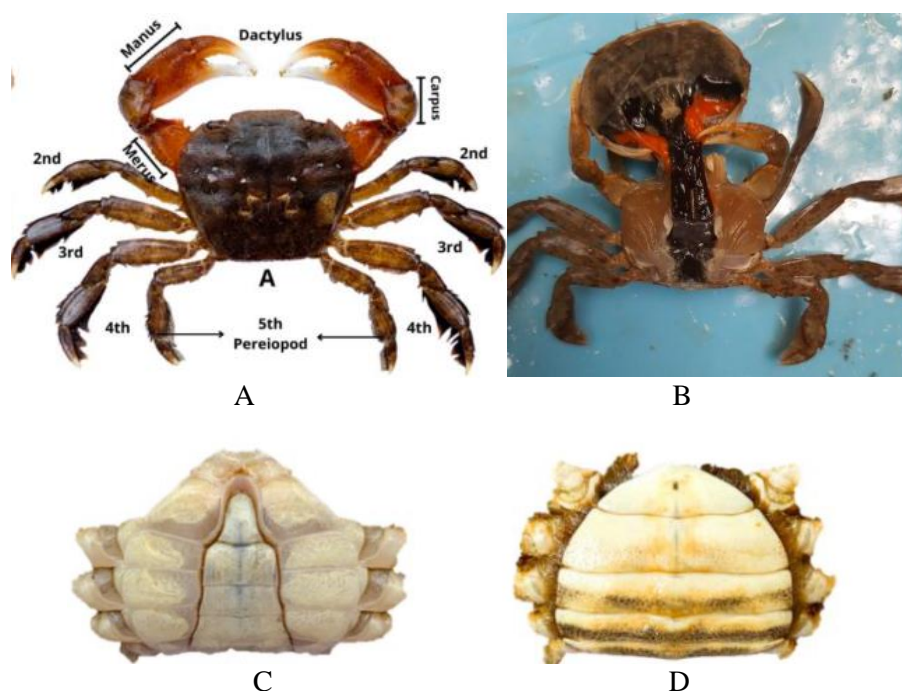
#### 2.2.4. Analisa Data

Data hasil penelitian yang diperoleh disajikan secara deskriptif

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Pemilihan sampel dan larutan pengawet

Kepiting kampat (*Varuna littorata*) yang diperoleh dari hasil sampling memiliki anatomi yang menarik dan khas, sesuai dengan adaptasinya untuk hidup di lingkungan perairan. Ukuran kepiting kampat dapat bervariasi, sampel yang didapat memiliki panjang tubuh antara 5 hingga 8 sentimeter, dengan betina cenderung memiliki ukuran tubuh yang lebih besar daripada jantan. Bentuk tubuhnya terdiri dari dua bagian utama yaitu karapas yang melindungi bagian atas tubuhnya dengan tekstur yang keras dan abdomen dengan tekstur yang lebih fleksibel. Karapas kepiting kampat memiliki bentuk yang sedikit lebih bulat dengan sudut pada bagian posterior dan tepian yang bergerigi dan memiliki warna coklat kehijauan hingga merah bata (Gambar 1.). Salah satu yang khas dari telur kepiting kampat ini adalah warnanya yaitu cenderung berwarna coklat sampai dengan hitam. Secara keseluruhan, anatomi kepiting kampat merupakan hasil evolusi yang memungkinkannya beradaptasi dengan baik dalam habitat perairan dangkal, terutama di daerah pantai berpasir atau lumpur. Anatomi yang unik ini mencerminkan peran penting kepiting kampat dalam ekosistem pesisir dan memengaruhi interaksi dengan lingkungan serta anggotanya dalam populasi kepiting kampat. (Jumawan, Ruales, and Avila 2022).



**Gambar 1.** Anatomi (Jumawan, Ruales, and Avila 2022) dan histologi kepiting kampat (*Varuna littorata*). 1A: Anatomi kepiting kampat . . 1B : letak dan anatomi telur kepiting kampat. 1C: ciri kepiting kampat jantan. Dan 1D: ciri kepiting kampat betina

Dalam proses pengawetan, telur kepiting kampat ini berubah warna sesaat setelah dimasukkan dalam larutan pengawet, hal ini terlihat pada kedua larutan pengawet. Telur memiliki warna awal coklat tua hingga hitam berubah menjadi kuning keemasan pada larutan pengawet. Penggunaan komposisi larutan pengawet yang digunakan dalam penelitian ini tercantum dalam Tabel 1. Lama waktu fiksasi, baik pada formalin maupun bouin dalam penelitian ini ditetapkan selama 24 jam. Lama waktu fiksasi berkaitan dengan seberapa baik jaringan diawetkan dan dipertahankan, serta bagaimana ini mempengaruhi analisis selanjutnya. Umumnya lama waktu fiksasi formalin cenderung lebih singkat daripada bouin.

Proses fiksasi dengan formalin biasanya dapat mencapai hasil yang memadai dalam waktu 12 hingga 24 jam. Lama waktu fiksasi yang lebih singkat dengan formalin cenderung lebih baik dalam mempertahankan morfologi sel dan jaringan. Formalin membantu mencegah degradasi cepat dan mengawetkan struktur sel secara efektif (Azzalini et al. 2019). Sedangkan untuk larutan Bouin biasanya membutuhkan waktu fiksasi yang lebih lama dibandingkan formalin. Lama waktu fiksasi dengan larutan Bouin bisa mencapai beberapa jam hingga beberapa hari, tergantung pada ukuran sampel dan spesimen yang diawetkan. larutan Bouin memiliki keunggulan dalam mempertahankan struktur nukleus dan morfologi sel-sel yang kaya lipid. Ini terutama berlaku pada jaringan tertentu seperti organ-organ yang memiliki karakteristik tersebut. Akan tetapi terlalu lama dalam fiksasi juga dapat berdampak negatif. Overfiksasi, terutama dengan Bouin's solution, dapat menghasilkan pengkerutan ekstrim dan merusak morfologi (Wehrl et al. 2015).

**Tabel 1.** Komposisi larutan pengawet (Miki et al. 2018)

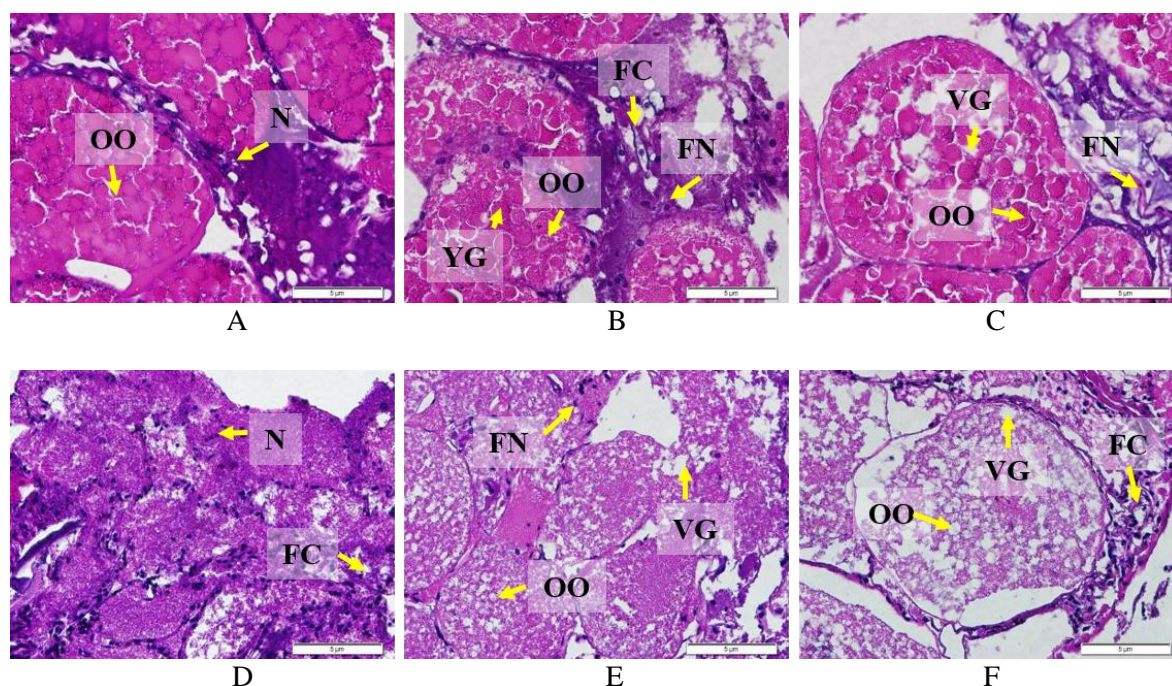
No	Reagen	Formalin 10%	Bouin
1	37% Formaldehyde	10 ml	25 ml
2	Saturated picric acid		75 ml
3	Asam Asetat Glasial		5 ml
4	Aquades	90 ml	

### 3.2. Gambaran histologis telur kepiting

Hasil gambaran histologis yang diamati (sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 2) menggambarkan karakteristik jaringan sel telur yang telah diawetkan menggunakan larutan formalin. Pada gambar tersebut, terlihat dengan jelas berbagai komponen yang terkait dengan struktur histologis sel telur. Bagian-bagian seperti oogonia (OO), gelembung kuning telur (YG), gelembung vakuola (VG), sel folikel (FC), dan inti folikel (FN) terlihat dengan detail yang baik. formalin merupakan larutan dari formaldehida yang digunakan sebagai agen fiksasi dalam berbagai aplikasi biologis dan patologis, terutama dalam bidang histologi. Kandungan utama formalin adalah formaldehida dalam bentuk gaseous (Gopal and Sudha Devi 2019; Zhang and Qiu 2010). Formaldehida memiliki efek fiksatif dengan merekayasa struktur protein dan mencegah degradasi jaringan. Berikut adalah kandungan dan komponen penting dalam formalin: Formaldehida (HCHO) yang merupakan zat kimia utama dalam formalin. Formaldehida adalah senyawa organik dengan rumus kimia  $\text{CH}_2\text{O}$ . Larutan ini berfungsi untuk membentuk ikatan silang antara molekul protein, mengubah struktur protein dan mencegah degradasi selama proses pengawetan. Air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) sebagai pelarut. Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), Beberapa formulasi formalin mungkin mengandung metanol sebagai bahan tambahan. Metanol sendiri dapat membantu mempertahankan stabilitas formaldehida dalam larutan dan membantu dalam mengendapkan protein (de Oliveira et al. 2018). Dengan demikian, penggunaan larutan formalin dalam fiksasi histologis memiliki dampak yang signifikan pada hasil akhir gambaran jaringan. Komposisi kimiawi dan sifat fiksatif larutan ini, terutama dengan formaldehida sebagai bahan utama, berperan dalam memastikan detail struktural tetap terjaga dan dapat diamati dengan jelas dalam gambar histologis.

Namun demikian, penerapan metode fiksasi dengan larutan Bouin menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam tampilan histologis. Pengamatan pada bagian-bagian seperti oogonia (OO), gelembung kuning telur (YG), dan inti folikel (FN) mengindikasikan adanya pengkerutan atau kontraksi struktural. Akibatnya, rincian-rincian yang seharusnya terlihat dengan jelas pada komponen-komponen ini menjadi kurang terlihat, bila dibandingkan dengan hasil fiksasi menggunakan larutan formalin. Meskipun terdapat pengurangan dalam kejelasan struktural, ketika kedua metode fiksasi ini dibandingkan, tampak bahwa pewarnaan yang dihasilkan oleh metode Bouin menunjukkan karakteristik yang menarik. Pewarnaan tersebut ditandai dengan kejernihan dan ketajaman warna yang lebih baik dibandingkan dengan metode fiksasi menggunakan larutan

formalin. Meskipun rincian histologis tertentu mungkin tereduksi akibat kontraksi, kemampuan metode Bouin dalam menghasilkan warna yang lebih tajam memberikan nilai tambah dalam analisis visual jaringan.



**Gambar 2.** 1A, 1B, 1C : sediaan histologis telur kepiting kampak dengan larutan pengawet formalin 10%, 1D, 1E, 1F : sediaan histologis telur kepiting kampak dengan larutan pengawet bouin. Sel-sel yang terdapat dalam jaringan telur kepiting kampak antara lain sel folikel (FC), sel inti folikel (FN), sel inti (N), gelembung vakuola (VG), dan gelembung kuning telur (YG).

Larutan bouin merupakan larutan pengawet yang umumnya digunakan untuk mempertahankan dan memperbaiki struktur jaringan dalam preparat histologis. Penggunaan Larutan bouin dalam fiksasi jaringan dapat menghasilkan pengkerutan atau kontraksi sel karena sifat kimia dari bahan-bahan yang terkandung di dalamnya. Larutan bouin mengandung asam pikrat, formalin, dan asam asetat, yang bersama-sama mempengaruhi struktur sel dan jaringan. Kandungan utama dari Larutan bouin antara lain Asam pikrat yang berfungsi untuk menjaga kerapatan sel serta struktur seluler dengan membantu mengendapkan protein. Asam asetat yang berfungsi untuk menjaga kestabilan pH larutan, serta memperbaiki dan mempertahankan struktur nukleus dan sitoplasma. Formalin berfungsi untuk membantu memperbaiki jaringan dan mencegah degradasi. Glutaraldehida yang berfungsi untuk memperbaiki membran seluler dan mengurangi kerusakan selama proses fiksasi. Serta air sebagai komponen pelarut. Berikut adalah beberapa alasan mengapa penggunaan Larutan bouin dapat mengakibatkan pengkerutan sel (Lenz et al. 2022; Rai, Bhardwaj, and Verma 2016; Sarma, Winship, and Hutt 2020):

1. **Koagulasi Protein:** Asam pikrat dalam Larutan bouin memiliki kemampuan untuk mengkoagulasi atau menggumpalkan protein dalam sel dan jaringan. Ini dapat mengakibatkan pengurangan volume sel dan kontraksi jaringan, menghasilkan tampilan yang lebih padat dan mengerut. Proses koagulasi protein melibatkan pembentukan ikatan silang antara rantai protein, yang menghasilkan pengerutan dan pengentalan protein-protein tersebut.



2. Dehidrasi: Proses fiksasi dengan larutan Bouin dapat mengakibatkan penghilangan sebagian besar air dari sel dan jaringan. Ini bisa menyebabkan sel-sel menjadi lebih kecil dan mengerut karena hilangnya kelembaban.
3. Perubahan Osmosis: Larutan Bouin yang kaya dengan zat kimia memiliki konsentrasi yang berbeda dari cairan dalam sel. Perbedaan konsentrasi ini dapat mengakibatkan perpindahan air keluar dari sel, menyebabkan pengkerutan.
4. Pengendapan Protein: Larutan Bouin dapat menyebabkan pengendapan protein di dalam sel dan jaringan. Pengendapan ini dapat mengubah struktur internal sel dan mengakibatkan pengkerutan.

Kombinasi dari kandungan-kandungan ini bertujuan untuk memberikan hasil fiksasi yang optimal untuk jenis jaringan tertentu. Meskipun Larutan Bouin memiliki beberapa keunggulan dalam mempertahankan morfologi spesifik sel dan struktur nukleus, kandungan merkaptan dan formalin di dalamnya dapat menyebabkan masalah dalam beberapa analisis lebih lanjut, seperti pewarnaan imunohistokimia (Miki et al. 2018). Perbandingan ini mengilustrasikan pentingnya mempertimbangkan berbagai aspek ketika memilih metode fiksasi dalam konteks penelitian histologis. Sementara metode fiksasi dengan larutan formalin mungkin lebih efektif dalam mempertahankan integritas struktural, metode Bouin menonjolkan potensi dalam menghasilkan gambaran yang lebih kontras dan detail dalam hal pewarnaan. Oleh karena itu, dalam menentukan metode fiksasi yang akan digunakan, pertimbangan mengenai tujuan analisis dan kompromi antara kejelasan struktural dan pewarnaan yang lebih tajam menjadi krusial.

#### 4. Kesimpulan

Setelah melalui serangkaian percobaan dan analisis, kesimpulan yang dapat diambil adalah bahwa penggunaan larutan formalin lebih dianjurkan daripada larutan Bouin dalam proses pengawetan telur kepiting kampat (*Varuna litterata*) untuk tujuan pembuatan slide histologi. Hasil dari eksperimen ini mengindikasikan bahwa formalin memberikan hasil yang lebih baik dalam menjaga integritas struktural dan pelestarian komponen sel telur kepiting kampat selama proses persiapan histologis. Larutan formalin telah terbukti efektif dalam mempertahankan struktur seluler dan morfologi telur kepiting kampat. Penggunaan formalin menghasilkan gambaran yang lebih jelas dan akurat dari berbagai komponen telur, termasuk oogonia, gelembung kuning telur, gelembung vakuola, sel folikel, dan inti folikel. Kompatibilitas formalin dengan prosedur pewarnaan histologis juga memungkinkan analisis yang lebih lanjut dengan kualitas optimal. Di sisi lain, larutan Bouin menunjukkan beberapa keterbatasan dalam mempertahankan integritas struktural telur kepiting kampat. Beberapa bagian, seperti oogonia, gelembung kuning telur, dan bagian nukleus folikel, mengalami pengerutan yang mengurangi ketajaman visualisasi dan interpretasi yang akurat dalam analisis histologis. Oleh karena itu, untuk tujuan pembuatan slide histologi telur kepiting kampat, penggunaan larutan formalin direkomendasikan sebagai bahan pengawet yang lebih efektif. Kelebihan formalin dalam mempertahankan morfologi dan struktur selular dengan baik, serta kemampuannya yang terbukti dalam penggunaan rutin dalam pewarnaan histologis, membuatnya menjadi pilihan yang lebih baik untuk menjaga integritas telur kepiting kampat selama persiapan histologis yang akurat dan andal.

#### Daftar Pustaka

- Adeniran, B. V. et al. 2021. "Improved Preservation of Ovarian Tissue Morphology That Is Compatible with Antigen Detection Using a Fixative Mixture of Formalin and Acetic Acid." *Human Reproduction* 36(7): 1871–90.
- Azzalini, Eros et al. 2019. "Reliability of MiRNA Analysis from Fixed and Paraffin-Embedded Tissues." *International Journal of Molecular Sciences* 20(19).

- Gopal, Navya, and Arath Raghavan Sudha Devi. 2019. "Effect of Leucine Enkephalin Administration on Ovarian Maturation in the Freshwater Crab *Travancoriana Schirnerae*." *International Journal of Aquatic Biology* 7(1): 14–26.
- Jumawan, Jess H., Jeco Jed J. Ruales, and Maria Cristina A. Avila. 2022. "New Distribution Record of *Varuna Litterata* from Caraga Region, Philippines: Analysis on Morphometry, Length/Width-Weight Relationship, and Condition Factor." *Biodiversitas* 23(6): 2935–42.
- Lenz, Jiří et al. 2022. "Effects of Different Fixatives over Different Fixation Times, Including Antigenfix, on Immunohistochemical Studies." *Acta Veterinaria Brno* 91(2): 179–88.
- Miki, Masayo et al. 2018. "Improved Fixation of the Whole Bodies of Fish by a Double-Fixation Method with Formalin Solution and Bouin's Fluid or Davidson's Flu." *Journal of Toxicologic Pathology* 31(3): 201–6.
- de Oliveira, Fabrício Singaretti et al. 2018. "Combination of Fixative Agents and Fixation Times to Visually Differentiate the Cortical from the Medullary Layer in Bovine Adrenal Glands." *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 90(4): 3887–91.
- Rai, Radhika, Amit Bhardwaj, and Shalu Verma. 2016. "Tissue Fixatives: A Review." *International Journal of Pharmaceutics & Drug Analysis* 4: 183–87. <http://ijpda.com>;
- Sarma, Urooza C., Amy L. Winship, and Karla J. Hutt. 2020. "Comparison of Methods for Quantifying Primordial Follicles in the Mouse Ovary." *Journal of Ovarian Research* 13(1).
- Trianto, Heru Fajar, Muhammad In'am Ilmiawan, Sari Eka Pratiwi, and Abang Suprianto. 2015. 1 *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa Perbandingan Kualitas Pewarnaan Histologis Jaringan Testis Dan Hepar Menggunakan Fiksasi Formalin Metode Intravital Dan Konvensional*.
- Wehrl, Hans F. et al. 2015. "Assessment of Murine Brain Tissue Shrinkage Caused by Different Histological Fixatives Using Magnetic Resonance and Computed Tomography Imaging." *Histology and Histopathology* 30(5): 601–13.
- Zhang, En Fan, and Gao Feng Qiu. 2010. "A Novel Dmrt Gene Is Specifically Expressed in the Testis of Chinese Mitten Crab, *Eriocheir Sinensis*." *Development Genes and Evolution* 220(5–6): 151–59.