

# EFEKTIVITAS MADU 10% SELAMA 20 MENIT SEBAGAI BAHAN ALAMI PENGGANTI ALKOHOL UNTUK FIKSASI SEDIAAN SITOLOGI

Adinda Dwi Ardiningrum<sup>1</sup> · Puji Lestari<sup>2</sup> · Burhannudin<sup>3\*</sup>

<sup>1,2,3</sup>Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia  
e-mail: [burhannudin@poltekkesjakarta3.ac.id](mailto:burhannudin@poltekkesjakarta3.ac.id)  
No. Tlp WA: 08976766862

## Abstract

*The most commonly used fixative solution in cytopathology is alcohol. However, this solution presents several disadvantages, including carcinogenicity, expense, and limited accessibility. Honey represents a potential natural ingredient due to its antibacterial and antioxidant properties, as well as its proven efficacy as a medium for cell fixation. The objective of the latest research is to ascertain whether there are any significant differences in the quality of smear preparations fixed using 96% alcohol and 10% honey. The research design employed was a true experimental posttest only control, utilising 12 pleural fluid samples that were subjected to three treatments: 96% alcohol for 15 minutes, 10% honey for 20 minutes, and 10% honey for 30 minutes. The morphological results of the preparation demonstrated that the three groups yielded identical outcomes. Subsequently, the results of the preparation assessment were subjected to statistical analysis using the Chi-square test, which demonstrated that there was no statistically significant difference between the three treatments ( $p=0.894$ ). The findings indicated that a 10% honey solution for 20 minutes is sufficient to yield cell morphology quality comparable to that achieved through alcohol fixation. Additionally, honey offers several potential advantages over alcohol, including enhanced safety for laboratory personnel, reduced cost, and greater accessibility.*

**Keywords:** Pleural effusion, fixation, alcohol, honey

## Abstrak

Larutan fiksatif yang banyak digunakan untuk sitopatologi adalah alkohol, namun memiliki kelemahan, yaitu karsinogenik, mahal, serta tidak dapat diperoleh dengan mudah. Madu merupakan bahan alami yang potensial karena bersifat antibakteri dan antioksidan serta telah terbukti dapat digunakan sebagai media untuk fiksasi sel. Penelitian terbaru bertujuan mengetahui perbandingan hasil dari kualitas sediaan apus yang difiksasi menggunakan alkohol 96% dan madu 10%. Desain penelitian yang digunakan adalah True Experimental Posttest Ony Control dengan menggunakan 12 sampel cairan pleura yang diberi tiga perlakuan, yaitu alkohol 96% selama 15 menit madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit. Hasil morfologi sediaan menunjukkan ketiga kelompok mendapatkan hasil yang sama. Hasil penilaian sediaan kemudian dianalisis uji statistik dengan Chi-square yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara tiga perlakuan tersebut ( $p=0,894$ ). Madu 10% selama 20 menit sudah cukup untuk menghasilkan kualitas morfologi sel yang setara dengan fiksasi menggunakan alkohol, serta madu lebih aman untuk petugas laboratorium, lebih murah, dan lebih mudah didapatkan.

**Kata kunci :** Efusi pleura, Fiksasi, Alkohol, Madu

## PENDAHULUAN

Sediaan sitologi umum digunakan sebagai bahan pemeriksaan penunjang untuk membantu diagnosis penyakit. Salah satu spesimen sitologi yang sering dilakukan pemeriksaan adalah cairan pleura. Cairan pleura diperoleh dari adanya efusi pleura. Efusi pleura merupakan suatu kondisi adanya cairan pleura yang menumpuk di dalam rongga pleura. Adanya efusi pleura disebabkan karena produksi cairan dan penyerapan kembali cairan pleura yang tidak seimbang. Estimasi prevalensi efusi pleura adalah 0,32%. Di negara berkembang, efusi pleura akibat *tuberculosis* dan *parapneumonic* sering ditemukan (Dwianggita, 2016). Penegakan diagnosis etiologi terjadinya efusi pleura dapat dilakukan berdasarkan anamnesa, pemeriksaan fisik, foto toraks, torakosentesis, dan pemeriksaan sitopatologi. Pemeriksaan sitopatologi melibatkan beberapa proses, yaitu: sentrifugasi, fiksasi, pewarnaan, *mounting*, dan pembacaan sediaan secara mikroskopis.

Proses fiksasi berperan penting dalam pemeriksaan sitopatologi. Tujuan utama dari fiksasi yaitu untuk mempertahankan keadaan sel seperti saat sel tersebut dalam keadaan hidup, mencegah pembusukan oleh bakteri, serta mencegah autolisis. Reagen fiksasi rutin yang umum digunakan di laboratorium adalah alkohol 96%, namun alkohol memiliki beberapa kelemahan yaitu mudah terbakar, mudah menguap, serta harga yang relatif mahal (Aggarwal *et al.*, 2022). Diperlukan volume 100 mL untuk fiksasi sediaan sitologi. Estimasi perbandingan harga untuk alkohol yaitu sekitar Rp5.000 per hari, sedangkan untuk madu 10% sekitar Rp3.064 per hari. Alkohol juga diklasifikasikan oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC) sebagai Grup 1 karsinogenik, yaitu zat atau senyawa yang dapat menyebabkan kanker pada manusia.

Mengingat bahaya dari penggunaan alkohol, maka dilakukan upaya untuk menggantikan alkohol dengan bahan alternatif alami yang lebih aman. Madu telah terbukti dapat digunakan sebagai agen untuk mencegah autolisis dan pembusukan. Hasil penelitian Hassan *et al* (2023) menyebutkan bahwa penggunaan madu 10% selama 15 menit belum memberikan hasil yang maksimal untuk memfiksasi sampel swab mukosa mulut (Hassan *et al.*, 2023). Oleh karena itu, dalam penelitian tersebut direkomendasikan untuk menambah waktu fiksasi. Penelitian juga dilakukan oleh Sabarinath *et al* (2020), dengan hasil disimpulkan bahwa penggunaan madu 10%

selama 30 menit mampu memfiksasi sampel swab mukosa mulut dengan baik (Sabarinath *et al.*, 2020). Penggunaan waktu selama 30 menit dinilai cukup lama, sehingga perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan waktu diantara 15 sampai 30 menit. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dicoba untuk melakukan fiksasi dengan madu 10% dengan waktu 20 menit dan 30 menit.

## BAHAN DAN METODE

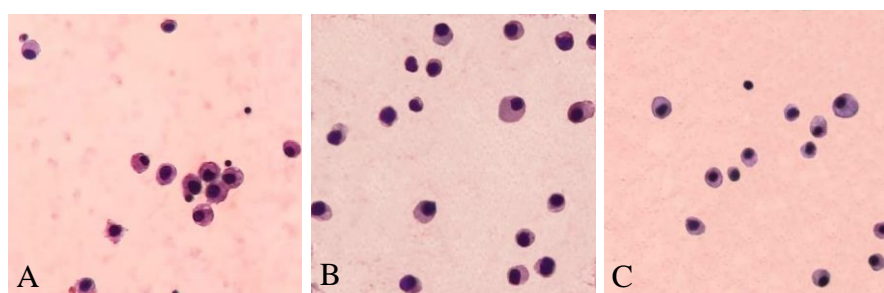
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *centrifuge* Nuve NF 200, tabung *centrifuge*, kaca objek, label, pensil, *deck glass*, pipet tetes, dan mikroskop Olympus CX12. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cairan pleura, alkohol 96%, madu (merk Uray), aquades, pewarna *Harris Hematoxylin*, OG-6, EA-50, *Xylol*, dan entelan.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *True Experimental Posttest Only Control*. Sampel yang digunakan berupa cairan pleura dari RSUD di wilayah Jakarta yang diproses menjadi sediaan apus. Sebanyak 12 sampel cairan pleura diberi tiga perlakuan fiksasi yang berbeda, yaitu: menggunakan alkohol 96% selama 15 menit, madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit. Sampel yang di fiksasi dengan alkohol 96% selama 15 menit dijadikan sebagai kontrol. Sampel cairan pleura di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Dibuang supernatan, kemudian dilakukan homogenisasi dengan cara sedot sempul pada endapan menggunakan pipet tetes. Dipipet endapan, kemudian endapan dibuat apusan pada tiga buah kaca objek. Sediaan difiksasi dengan tiga perlakuan berbeda, yaitu: alkohol 96% selama 15 menit, madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit. Setelah difiksasi, sediaan dilakukan pewarnaan Papanicolaou. Sediaan apus cairan pleura yang sudah dilakukan pewarnaan kemudian dilakukan penilaian oleh dokter Spesialis Patologi Anatomi menggunakan skoring dengan parameter dan kriteria yang merujuk pada penelitian sebelumnya (Priyadarshi *et al.*, 2022). Data yang diperoleh akan dilakukan uji *Chi-square*.

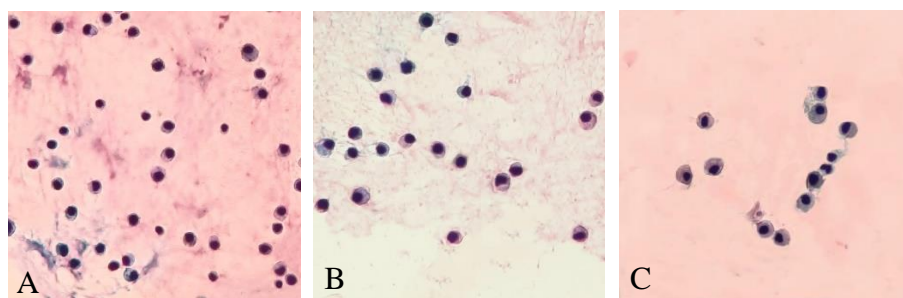
## HASIL

Penelitian ini menggunakan sebanyak 36 sediaan apus cairan pleura. Hasil gambaran mikroskopis sediaan apus cairan pleura menghasilkan kualitas yang tidak jauh berbeda antara sediaan yang difiksasi menggunakan alkohol 96% selama 15

menit dengan madu 10% selama 20 menit dan 30 menit yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



**Gambar 1.** Perbandingan Hasil Pewarnaan pada Kelompok Perlakuan Fiksasi dengan Kategori Baik (Skor 5): (A) Fiksasi alkohol 96% selama 15 menit; (B) Fiksasi madu 10% selama 20 menit; (C) Fiksasi madu 10% selama 30 menit.



**Gambar 2.** Perbandingan hasil pewarnaan pada Kelompok Perlakuan Fiksasi dengan kategori Cukup (Skor 4). (A) Fiksasi Alkohol 96% selama 15 menit. (B) Fiksasi Madu 10% selama 20 menit. (C) Fiksasi Madu 10% selama 30 menit.

Gambar 1 menunjukkan gambaran mikroskopis sediaan apus cairan pleura yang diproses dengan berbagai cairan fiksasi. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa morfologi sel jelas, inti dan sitoplasma terwarnai dengan baik, serta pewarnaan keseluruhan sel merata. Sedangkan pada Gambar 2 memperlihatkan hasil bahwa morfologi sel jelas, inti dan sitoplasma terwarnai dengan baik, namun pewarnaan pada sel kurang seragam. Perbedaan kualitas hasil pewarnaan digambarkan dalam bentuk skoring. Skoring pada seluruh sediaan apus dilakukan setelah pengamatan secara mikroskopis oleh dokter Patologi Anatomi berdasarkan penelitian sebelumnya (Priyadarshi et al., 2022). Distribusi frekuensi hasil skoring pada sediaan apus cairan pleura yang difiksasi menggunakan alkohol 96% dan madu 10% selama 20 menit mendapatkan hasil yang sama, yaitu sebanyak 5 sediaan dengan kategori cukup (41,7%) dan 7 sediaan dengan kategori baik (58,3%). Sedangkan pada fiksasi

menggunakan madu 10% selama 30 menit didapatkan sebanyak 6 sediaan dengan kategori cukup (50%) dan 6 sediaan dengan kategori baik (50%).

Hasil skoring diuji statistik menggunakan uji *Chi-square* dan didapatkan hasil *p-value* 0,894 yang artinya tidak terdapat perbedaan signifikan pada kualitas sediaan apus cairan pleura difiksasi dengan alkohol 96% maupun yang difiksasi dengan madu 10% (20 dan 30 menit).

Tabel 1. Hasil Uji *Chi-square*

No.	Kelompok Fiksasi	Kualitas Sediaan			Total	<i>p-value</i>
		Tidak Baik	Cukup	Baik		
1.	Alkohol 96% 15 menit	0	5 (41,7%)	7 (58,3%)	12	0,894
2.	Madu 10% 20 menit	0	5 (41,7%)	7 (58,3%)	12	
3.	Madu 10% 30 menit	0	6 (50%)	6 (50%)	12	
Total		0	16	20	36	

## DISKUSI

Tahapan fiksasi menjadi tahapan yang sangat penting untuk mempertahankan sel seperti saat sel tersebut dalam kondisi hidup. Tahapan fiksasi pada sampel sitologi dilakukan dengan perendaman langsung sediaan apus ke dalam reagen fiksatif untuk menjaga karakteristik biokimia dan morfologi sel, karena hal ini sangat penting untuk pemeriksaan mikroskopis dan interpretasi diagnostik (Quintana *et al.*, 2019). Berkaitan dengan bahaya penggunaan alkohol 96% sebagai reagen fiksatif, maka banyak dilakukan uji coba terhadap bahan-bahan alami sebagai pengganti alkohol 96%. Bahan fiksasi alami yang direkomendasikan dan telah dilakukan uji coba adalah madu. Madu mengandung gula sebanyak 95-99% (glukosa dan fruktosa). Madu bersifat antibakteri dan anti oksidatif yang melekat karena osmolaritas yang tinggi, pH rendah, serta terdapat komponen seperti asam askorbat, hidrogen peroksida dan fenol inhibine. Vitamin-vitamin yang terdapat dalam madu adalah thiamin (B1), riboflavin (B2), asam askorbat (C), piridoksin (B6), niasin, asam pantotenat, biotin, asam folat, dan vitamin K. Enzim yang terdapat dalam madu adalah enzim diastase, katalase, invertase, glukosa oksidase, peroksidase, dan lipase (Singh *et al.*, 2015). Madu memiliki pH rendah sekitar 3,2-4,5 yang disebabkan oleh keberadaan asam organik seperti asam sitrat, asam laktat, dan asam amino. Asam-asam ini dapat

berkontribusi dalam pembunuhan mikroorganisme dan mempertahankan kondisi yang cocok untuk fiksasi sel. Madu dapat dijadikan sebagai pengganti fiksatif alkohol karena terdapat kesamaan kandungan dengan alkohol yaitu aldehid. Dalam madu, fruktosa dengan pH rendah akan terurai menjadi aldehid, kemudian berikatan silang dengan asam amino pada sel yang mengarah ke proses fiksasi sel. Dalam keadaan pH rendah juga, satu molekul glukosa dan fruktosa yang terkandung dalam madu akan terurai menjadi dua molekul, yaitu ethanol dan karbon dioksida (Pandiar *et al.*, 2017).

Madu sebagai bahan fiksasi alternatif untuk sediaan sitologi yang telah dilakukan uji coba dan menghasilkan kualitas mikroskopis sediaan yang setara dengan hasil fiksasi menggunakan alkohol 96%. Dalam penelitian ini juga telah dibuktikan bahwa hasil mikroskopis sediaan apus cairan pleura yang dilakukan fiksasi menggunakan madu 10% dengan waktu 20 menit dan 30 menit menghasilkan kualitas sediaan yang tidak jauh berbeda dengan sediaan yang difiksasi dengan alkohol 96%. Gambaran kualitas sediaan apus cairan pleura yang dihasilkan adalah: inti sel dan sitoplasma terlihat utuh dan jelas, tidak ada sel yang hancur atau terlipat, serta seluruh sel terwarnai.

Hasil uji *Chi-square* didapatkan kesimpulan tidak ada perbedaan signifikan antara kualitas sediaan apus cairan pleura yang difiksasi dengan alkohol dan madu. Dalam hal ini, fiksasi madu 10% selama 20 menit sudah cukup baik untuk menggantikan alkohol 96% selama 15 menit dan madu 10% selama 30 menit, sehingga penggunaan waktu 20 menit dapat lebih menghemat waktu (efisiensi waktu).

Kendala yang dialami dalam penelitian ini adalah daya rekat sel terhadap kaca objek kurang baik pada madu yang membuat sel menjadi luntur. Solusi yang dilakukan oleh peneliti adalah: setelah cairan pleura diapus pada permukaan kaca objek, lalu kaca objek terlebih dahulu didiamkan selama sekitar 1 menit, kemudian dimasukkan ke dalam larutan fiksatif madu 10%. Walaupun sedikit berbeda dengan prosedur fiksasi basah, tetapi dengan cara tersebut dapat mempertahankan sel tetap menempel pada kaca objek dan tidak menyebabkan terjadinya perubahan kondisi sel pada sediaan, sehingga kualitas pewarnaan tetap baik. Selain itu, penggunaan pengeringan tetap mampu mempertahankan hasil sediaan apusan yang baik sebagaimana ditunjukkan pada hasil penelitian.

## KESIMPULAN

Dari hasil skoring sediaan apus cairan pleura yang difiksasi dengan alkohol 96%, madu 10% selama 20 menit, dan madu 10% selama 30 menit dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada kualitas gambaran morfologi sel, sehingga madu 10% selama 20 menit dapat digunakan sebagai bahan alternatif fiksasi yang lebih aman. Penggunaan madu 10% selama 20 menit juga dapat lebih efisien dalam segi waktu.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyatakan ucapan terimakasih kepada Michael Alfian Grey selaku Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) yang telah mendampingi selama pengerjaan di laboratorium Sitohistoteknologi Poltekkes Kemenkes Jakarta III, serta dr. Retno Widyawati, Sp.PA dan dr. Tati Herdawati, Sp.PA yang telah berkenan membantu mengamati sediaan sitologi di mikroskop dan sekaligus memberikan penilaian (skoring) terhadap hasil pembacaan tersebut.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

## REFRENSI

- Aggarwal, M., Sharma, M., Karthikeyan, R., Kumar, M., Chawla, G., & Tyagi, V. (2022). A comparative study of honey , jaggery an ethanol as cytological fixatives. *International Journal of Health Sciences*, 6(March), 3902-3914. <https://sciencescholar.us/journal/index.php/ijhs/article/view/6651>
- Dwianggita, P. (2016). *Etiologi Efusi Pleura pada Pasien Rawat Inap di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah, Denpasar, Bali Tahun 2013*. 7(1). <https://isainsmedis.id/index.php/ism/article/view/10>
- Fitri Dewi Ismida, Budi Yanti, Cut Asmaul Husna, Istanul Badiri, R. K. Kamarlis. (2022). Profil Sitologi Efusi Pleura di RSUD Zainoel Abidin Banda Aceh Profil Sitologi Efusi Pleura di RSUD Zainoel Abidin Banda Aceh. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 21, 121-124. <https://jurnal.usk.ac.id/JKS/article/view/23805>
- Hassan, E., Osman, A., Abdalrhman, T., & Kamal, M. (2023). The Efficacy of the Bees Honey as Alternative for Routine Ethyl Alcohol in Cytological Fixation : Cross \_ Sectional Study. *International Journal of Innovative Science and Research*

*Technology*, 8(2), 2044-2050. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7735441>

Pandiar, D., Baranwal, H. C., Kumar, S., Ganesan, V., & Sonkar, P. K. (2017). Use of jaggery and honey as adjunctive cytological fixatives to ethanol for oral smears. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 21. [https://doi.org/10.4103%2Fjomfp.JOMFP\\_224\\_15](https://doi.org/10.4103%2Fjomfp.JOMFP_224_15)

Priyadarshi, A., Kaur, R., & Issacs, R. (2022). Honey as a Cytological Fixative : A Comparative Study With 95 % Alcohol. *Cureus*, 14(8), 1-11. <https://doi.org/10.7759/cureus.28149>

Quintana, S. B. S., Carvalho, F. L., Silva, G. R. F., Campos, M. B. T., Maia, M. C. S., Araújo, M. L. C., & Quintana, M. S. B. (2019). Comparative evaluation of the quality of Papanicolaou staining at different intervals of fixation times using 96% ethyl alcohol. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 55(1), 50-56. <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/BP8yYqk8gVy5GMpMDLhCQRS/#>

Sabarinath, B., Sundararaman, P., & Sundharam, S. (2020). Honey As A Cytological Fixative : A Comparative Study. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 7(9), 7-12.

Singh, A., Hunasgi, S., Koneru, A., Vanishree, M., Ramalu, S., & Manvikar, V. (2015). Comparison of honey with ethanol as an oral cytological fixative : A pilot study. *Journal of Cytology*, 32(2), 113-117. <https://doi.org/10.4103/0970-9371.160563>