

Original Research Article

Kualitas Preparat Histologis Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus *Sprague Dawley* Setelah Fiksasi Menggunakan Formalin 10% Selama Dua Minggu**Muhammad Azharan Alwi¹, Nurlaely Mida Rachmawati², Devy Ariany^{3*}, Luluk Hermawati⁴, Hilizza Awalina Zulfa⁵**¹Program Studi Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah²Departemen Biokimia, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah³Departemen Patologi Anatomi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah⁴Departemen Biologi Kedokteran, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa⁵Departemen Histologi, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa*Corresponding e-mail devyariany.patologi@gmail.com**Abstrak**

Latar belakang: Histoteknik merupakan rangkaian prosedur untuk menghasilkan preparat histologis dari suatu spesimen agar dapat dianalisis secara mikroskopis. Salah satu tahapan penting dalam proses ini adalah fiksasi, yang berfungsi untuk mempertahankan struktur jaringan dan mencegah terjadinya perubahan bentuk maupun ukuran. Namun, durasi fiksasi yang terlalu lama dapat menyebabkan pengerasan jaringan secara berlebihan, sehingga menurunkan kualitas hasil pengamatan histologis. **Tujuan:** Mengevaluasi kelayakan fiksasi formalin selama dua minggu terhadap kualitas preparat histologi ginjal, hepar, dan pankreas. **Metode:** Setelah adaptasi 14 hari, tikus jantan *Sprague Dawley* di anestesi, dilakukan nekropsi, dan organ ginjal, hepar, dan pankreas difiksasi dalam formalin 10%. Proses histoteknik meliputi dehidrasi alkohol bertingkat, clearing toluol, embedding paraffin, pemotongan 6 µm, dan pewarnaan HE. Preparat diamati menggunakan mikroskop Olympus BX41 pada perbesaran 4x–40x. **Hasil:** Fiksasi selama dua minggu menyebabkan kerusakan struktural pada organ ginjal, hepar, dan pankreas. Kerusakan yang diamati meliputi glomerulus dan tubulus pada ginjal, struktur trias porta pada hepar, serta sel-sel pulau Langerhans pada pankreas. menunjukkan hasil keseluruhan dari penelitian termasuk hasil statistik jika ada. **Kesimpulan:** Waktu fiksasi selama dua minggu tidak menghasilkan preparat histologis yang memadai, sehingga tidak direkomendasikan sebagai acuan dalam penyusunan SOP histoteknik di laboratorium terkait.

Kata Kunci: Fiksasi, Ginjal, Hepar, Histoteknik, Pankreas***Optimization of Fixation Time Using 10% Formalin on Kidney, Liver, and Pancreas of Sprague Dawley Rats for Haematoxylin-Eosin Staining*****Abstract**

Background: Histotechnology is a series of procedures used to prepare histological specimens for microscopic analysis. One of the critical steps in this process is fixation, which serves to preserve tissue structure and prevent changes in shape or size. However, excessive fixation duration may lead to over-hardening of tissues, resulting in reduced quality of histological observations. **Objectives:** To evaluate the feasibility of two week formalin 10% fixation period on histological quality of kidney, liver, and pancreas tissues. **Methods:** After a 14-day adaptation period, male Sprague Dawley rats were anesthetized, necropsied, and their kidney, liver, and pancreas were fixed in 10% formalin. Histotechnical procedures included graded alcohol dehydration, toluene clearing, paraffin embedding, 6 µm sectioning, and HE staining.

Preparations were observed using an Olympus BX41 microscope at magnifications of 4x–40x. Results: Two-week fixation caused structural damage to the kidney, liver, and pancreas. Damage observed included glomeruli and tubules in the kidney, the portal triad structure in the liver, and the Langerhans islet cells in the pancreas. Statistical results (if any) should be included here. Conclusions: Fixation for two weeks did not produce adequate histological preparations, and therefore, it is not recommended as a reference for developing histotechnology SOPs in related laboratories.

Keywords: Fixation, Histo-technical, Kidney, Liver, Pancreas

ARTICLE HISTORY:

Received 29-09-2025

Revised 10-10-2025

Accepted 15-12-2025

PENDAHULUAN

Histoteknik merupakan salah satu metode laboratorium yang digunakan dalam bidang biomedis untuk menyiapkan spesimen jaringan menjadi preparat histologis yang siap dianalisis secara mikroskopik. Proses ini melibatkan serangkaian tahapan, mulai dari fiksasi hingga pewarnaan, bertujuan untuk mempertahankan struktur morfologis jaringan (Chung et al., 2018). Spesimen yang digunakan dapat berasal dari jaringan manusia maupun hewan, dan umumnya diaplikasikan dalam kegiatan penelitian eksperimental, diagnostik, serta pendidikan kedokteran. Salah satu komponen utama dalam proses histoteknik adalah pewarnaan jaringan dengan metode *Haematoxylin-Eosin* (HE), merupakan teknik yang paling banyak digunakan karena kemampuannya dalam membedakan struktur inti dan sitoplasma secara kontras dan jelas (Alturkistani et al., 2015; Anil. Rajendran., 2012; Morrison et al., 2025). Namun, keberhasilan pewarnaan sangat dipengaruhi oleh tahapan awal, terutama fiksasi, yang memiliki peran krusial dalam mempertahankan integritas jaringan.

Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan jaringan dengan mencegah autolisis dan dekomposisi, serta menjaga struktur seluler tetap utuh. Larutan formalin 10% merupakan fiksatif yang paling umum digunakan karena kestabilannya, kemudahan preparasi, dan efektivitasnya dalam mempertahankan morfologi jaringan, dan menghasilkan pewarnaan yang optimal (Rahman et al., 2021; Bilgin et al., 2023; Shami et al., 2025). Namun demikian, durasi fiksasi harus diperhatikan secara ketat. Waktu fiksasi yang terlalu lama, khususnya lebih dari 24-48 jam, dapat menyebabkan pengerasan jaringan yang berlebihan, timbulnya artefak struktural, dan hilangnya detail morfologi yang penting (Bussolati, 2022).

Penelitian ini menggunakan durasi fiksasi selama dua minggu. Pemilihan waktu ini tidak lepas dari keterbatasan yang dihadapi oleh peneliti sebagai mahasiswa kedokteran, khususnya dalam penyesuaian dengan jadwal akademik yang padat. Padahal, secara ideal, waktu fiksasi jaringan direkomendasikan berkisar antara 12 hingga 48 jam (Bauer & Chafin, 2023; Dağdeviren et al., 2024; Meecham et al., 2021). Kondisi ini mencerminkan tantangan nyata dalam penelitian mahasiswa, terutama dalam menghasilkan preparat histologis berkualitas pada jaringan kompleks seperti ginjal, hepar (hati), dan pankreas yang sangat sensitif terhadap kondisi fiksasi (Ariany et al., 2025).

Hingga saat ini, laboratorium *animal house* dan histologi di lingkungan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta belum memiliki Standar Operasional Prosedur (SOP) baku yang mengatur waktu fiksasi jaringan. Belum tersedianya acuan teknis yang dapat dijadikan pedoman, khususnya dalam prosedur fiksasi jaringan, sehingga berpotensi menurunkan kualitas pembelajaran dan penelitian. Validitas suatu SOP laboratorium sangat bergantung pada ketersediaan fasilitas yang memadai, kompetensi tenaga laboratorium, referensi prosedur yang sesuai, serta efektivitas sistem kontrol mutu.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh fiksasi jaringan selama dua minggu terhadap kualitas preparat histologis ginjal, hepar, dan pankreas tikus. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk menilai kelayakan durasi fiksasi

tersebut sebagai dasar dalam penyusunan SOP histoteknik yang adaptif terhadap kondisi laboratorium pendidikan. Diharapkan, hasil penelitian ini dapat menjadi kontribusi awal dalam pengembangan SOP yang lebih aplikatif dan relevan di lingkungan pendidikan kedokteran.

BAHAN DAN METODE

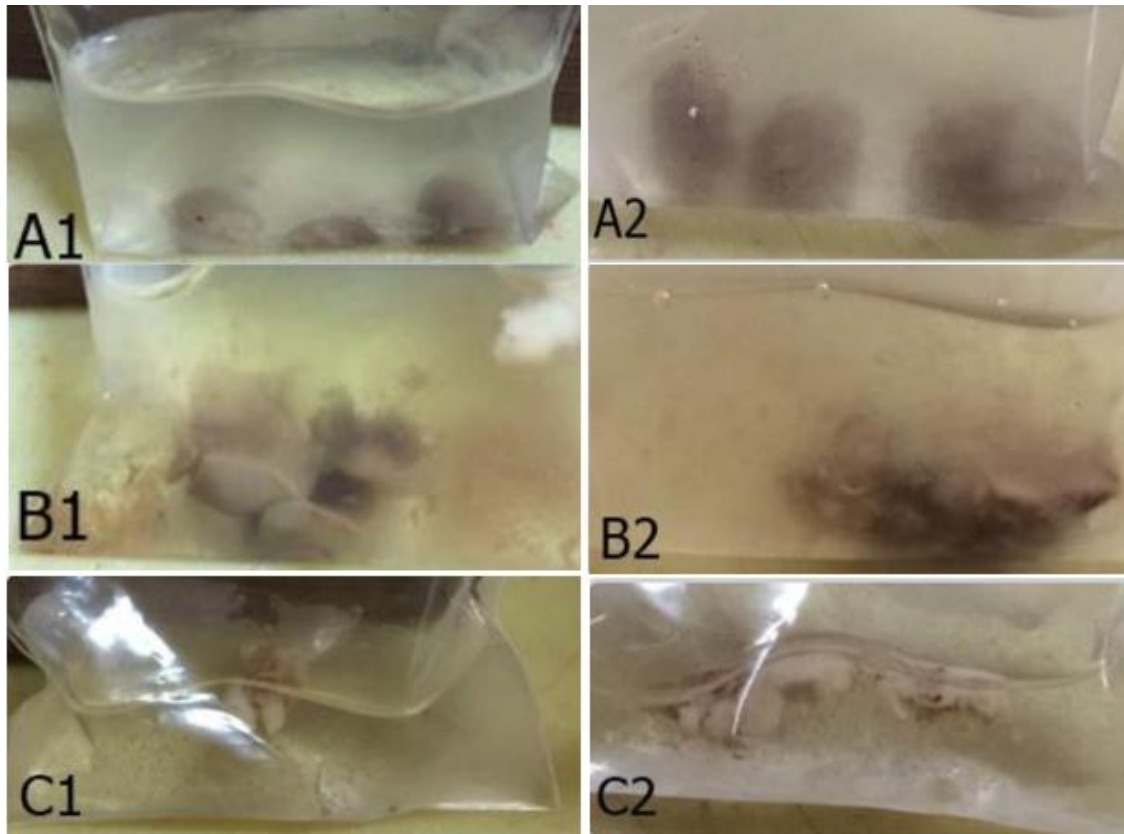
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian *one group posttest only* yang dilaksanakan di Laboratorium *Animal House*, Biokimia, Biologi, Farmakologi, dan Riset Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Subjek penelitian adalah seekor tikus jantan strain *Sprague Dawley* berumur 80 hari dengan berat badan 180 gram, diperoleh dari Departemen Patologi, Institut Pertanian Bogor. Tikus diadaptasikan selama 14 hari, kemudian dilakukan proses nekropsi setelah dianestesi menggunakan eter. Organ ginjal, hepar, dan pankreas yang telah diambil dipotong setebal 3–5 mm dan difiksasi menggunakan formalin 10% selama dua minggu pada suhu 4°C.

Tahapan histoteknik meliputi dehidrasi bertingkat menggunakan alkohol (50%–95%), clearing dengan toluol, embedding dalam paraffin, dan pembuatan blok jaringan. Pemotongan jaringan dilakukan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 6 µm, dilanjutkan peregangkan jaringan pada waterbath (37–40°C), dan penempelan ke kaca objek yang dilapisi putih telur–gliserin. Preparat kemudian diwarnai menggunakan metode HE dengan durasi pewarnaan yang disesuaikan berdasarkan jenis organ, serta diawali dan diakhiri dengan rehidrasi dan dehidrasi alkohol bertingkat dan xylol. Preparat yang telah selesai diwarnai ditetesi *Canada balsam*, ditutup dengan cover glass, lalu diamati dan didokumentasikan menggunakan mikroskop Olympus BX41 dengan perbesaran 4x, 10x, 20x, dan 40x. Kemudian preparat organ-organ tersebut diamati secara deskriptif.

HASIL

Makroskopik Organ

Setelah difiksasi selama dua minggu dalam formalin 10%, organ ginjal, hepar, dan pankreas tikus mengalami perubahan fisik yang cukup mencolok (Gambar 1). Warna jaringan menjadi lebih pucat dibandingkan kondisi segar, menunjukkan hilangnya darah dan cairan jaringan. Tekstur organ menjadi lebih kaku dan keras akibat proses denaturasi protein yang berlangsung secara progresif. Permukaan organ tampak keruh, dan cairan fiksatif berubah warna menjadi lebih kuning dan keruh, diduga akibat pelepasan protein dan limbah sel selama fiksasi. Beberapa fragmen jaringan terlihat rapuh dan mudah terfragmentasi saat proses pemotongan, menandakan kekakuan jaringan yang berlebihan (Gambar 2).



Gambar 1. Preparat organ yang diawetkan dalam larutan fiksatif formalin 10% terdiri atas: (A1) ginjal, (B1) hepar, dan (C1) pankreas pada minggu pertama; serta (A2) ginjal, (B2) hepar, dan (C2) pankreas pada minggu kedua.

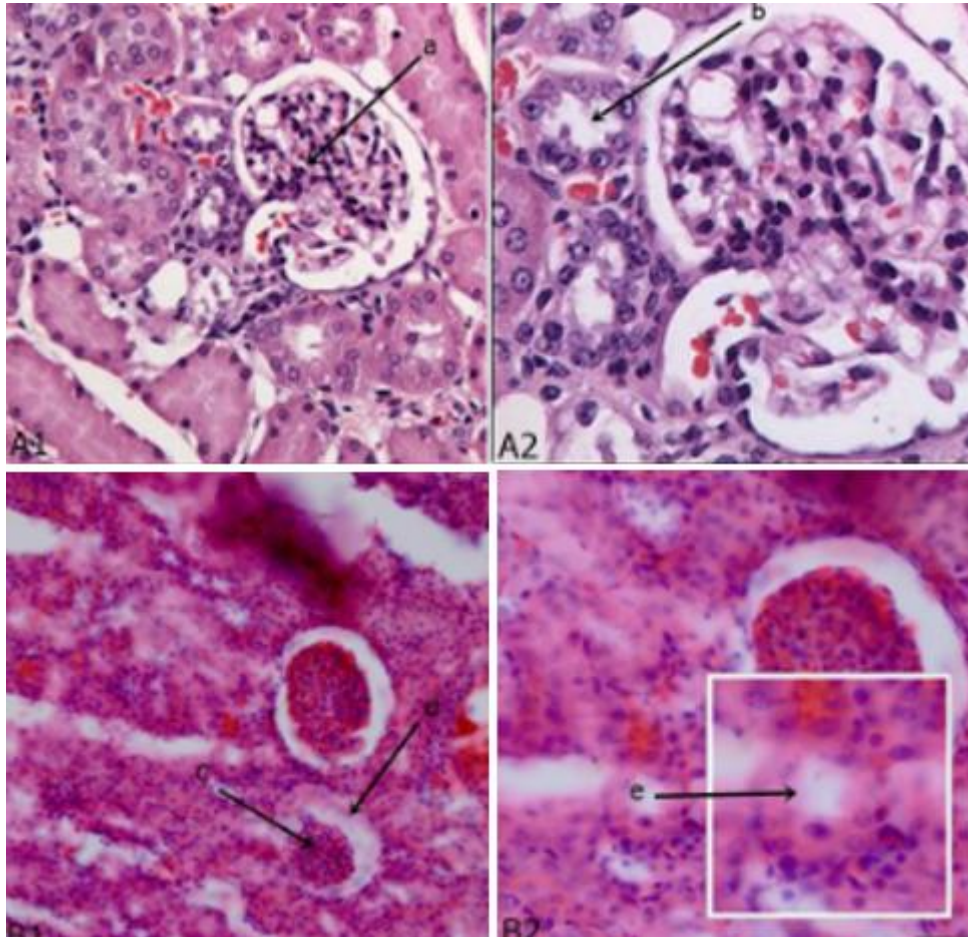


Gambar 2. Potongan organ yang telah dikeluarkan dari larutan fiksatif formalin 10% pada minggu kedua, meliputi: (A) ginjal, (B) hepar, dan (C) pankreas.

Mikroskopik Preparat

Ginjal

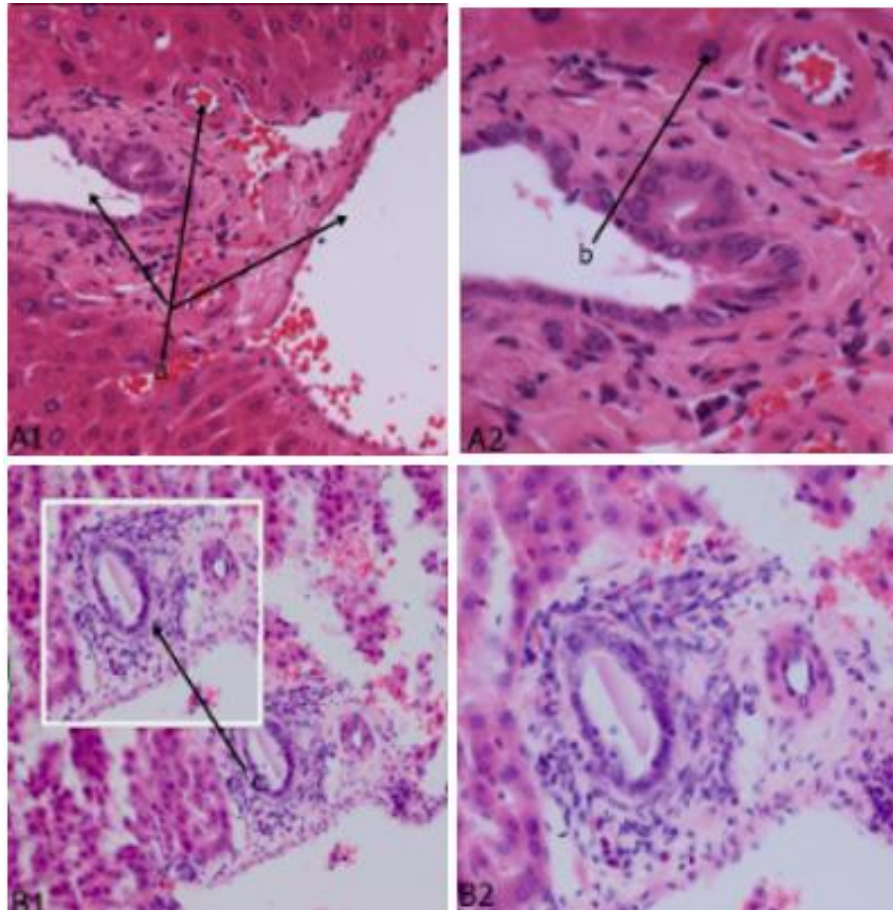
Pengamatan mikroskopik pada preparat ginjal (Gambar 3) menunjukkan bahwa struktur glomerulus tidak tampak utuh; banyak glomerulus mengalami distorsi bentuk dan pengecilan. Ruang kapsula Bowman tampak melebar, menandakan kehilangan tekanan turgor dan perubahan tekanan osmotik akibat fiksasi yang berkepanjangan. Tubulus proksimal dan distal mengalami kerusakan bentuk, beberapa tampak kolaps, dan lumen menghilang. Sitoplasma sel tubulus menunjukkan pewarnaan eosin yang lemah, sedangkan batas antar sel sulit dibedakan. Fragmen jaringan ginjal tampak terlepas dan mengalami retakan pada beberapa area, mengindikasikan artefak pasca fiksasi.



Gambar 3. Mikrofotografi jaringan ginjal tikus: (A1) ginjal tikus normal dengan perbesaran 20x (Danneman et al., 2012); (A2) ginjal tikus normal dengan perbesaran 40x; (B1) ginjal tikus setelah perlakuan fiksasi selama 2 minggu dengan perbesaran 20x; (B2) ginjal tikus setelah perlakuan fiksasi selama 2 minggu dengan perbesaran 40x (insert: struktur tubulus kontortus). Tanda panah menunjukkan: (a) glomerulus normal, (b) tubulus kontortus normal, (c) glomerulus mengalami kerusakan, (d) pelebaran ruang kapsula Bowman, dan (e) tubulus kontortus mengalami kerusakan.

Hepar

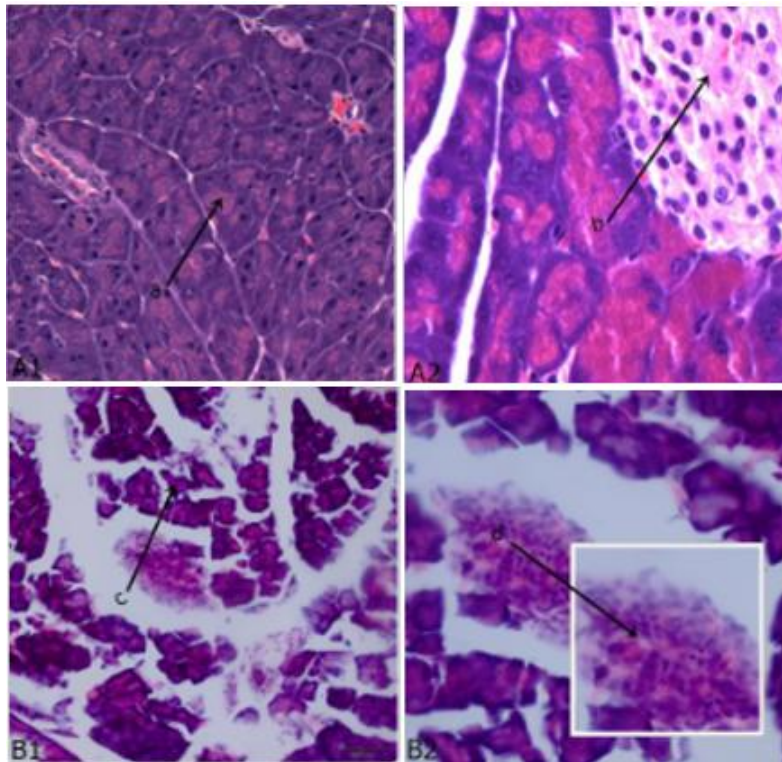
Struktur histologis hati (Gambar 4) relatif lebih utuh dibandingkan ginjal, namun lobulus hepar sulit dikenali. Hepatosit masih tampak tersusun radier dari vena sentralis, tetapi batas antar sel kabur. Inti sel menunjukkan piknosis ringan dan pewarnaan hematoksilin yang tidak merata. Trias porta—yang terdiri dari arteri hepatika, vena porta, dan duktus biliaris—tidak tampak lengkap dan kabur di banyak area. Duktus biliaris tampak mengalami kerusakan dinding, dan terdapat ruang antar hepatosit yang melebar, yang merupakan tanda degradasi struktur akibat *over* fiksasi.



Gambar 4. Citra histologis jaringan hepar tikus: (A1) hepar tikus normal dengan perbesaran 20x (Danneman et al., 2012); (A2) hepar tikus normal perbesaran 40x; (B1) hepar tikus yang difiksasi selama 2 minggu dengan perbesaran 20x (insert: triad porta); dan (B2) hepar tikus dengan perlakuan fiksasi yang sama pada perbesaran 40x. Tanda panah menunjukkan: (a) triad porta dalam kondisi normal, (b) hepatosit normal, dan (c) kerusakan pada duktus biliaris dalam struktur triad porta.

Pankreas

Preparat pankreas (Gambar 5) menunjukkan kerusakan signifikan pada pulau Langerhans, yang tampak mengecil dan kehilangan batas yang jelas dengan jaringan eksokrin di sekitarnya. Asinus pankreatikus masih tampak, tetapi lumen acini melebar dan beberapa sel eksokrin mengalami vakuolisasi ringan. Pewarnaan HE tidak homogen, dengan intensitas eosin yang lemah pada beberapa bagian. Sel-sel endokrin di pulau Langerhans tidak menunjukkan detail morfologis yang optimal. Ruang antar sel tampak melebar, dan banyak bagian jaringan tampak retak, yang menandakan pengerasan jaringan berlebihan akibat waktu fiksasi yang terlalu lama.



Gambar 5. (A1) Pankreas tikus normal, pembesaran 20x (Danneman et al., 2012); (A2) Pankreas normal, 40x. (B1) Pankreas setelah fiksasi 2 minggu, 20x; (B2) Pankreas setelah fiksasi 2 minggu dengan sisipan pulau Langerhans.

Fiksasi jaringan selama dua minggu menyebabkan degradasi struktur morfologi pada ginjal, hati, dan pankreas. Efek yang paling nyata adalah pelebaran ruang antar sel, hilangnya integritas jaringan, distorsi nukleus, serta ketidakseragaman pewarnaan HE. Artefak mikroskopik seperti retakan jaringan dan pelonggaran struktur seluler menjadi hambatan dalam interpretasi histologi yang akurat. Temuan ini menunjukkan bahwa fiksasi melebihi waktu ideal (12–24 jam) berdampak negatif terhadap kualitas preparat histologis dan menegaskan perlunya SOP baku dalam pelaksanaan histoteknik.

PEMBAHASAN

Jaringan ginjal, hepar, dan pankreas difiksasi menggunakan larutan formalin 10% selama dua minggu—waktu yang melebihi standar ideal fiksasi yaitu 12 hingga 24 jam (Alturkistani et al., 2015; Sanderson et al., 2018). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa fiksasi berkepanjangan menyebabkan berbagai kerusakan morfologis, termasuk hilangnya detail nukleus, pelebaran ruang antar sel, dan artefak jaringan seperti retakan dan vakuolisasi (Chung et al., 2018). Pada jaringan ginjal, kerusakan glomerulus dan pelebaran kapsula Bowman mengindikasikan terganggunya struktur filtrasi akibat over fiksasi. Selain itu, kolapsnya tubulus renal dapat disebabkan oleh pengerasan protein struktural secara berlebihan, yang mempersulit penetrasi pewarnaan HE ke dalam sitoplasma (Baskin, 2014). Studi juga menyebut bahwa formalin memiliki efek *cross-linking* yang signifikan, yang dapat menghambat difusi zat warna jika digunakan terlalu lama, sehingga menurunkan kualitas kontras histologis (Silva et al., 2024).

Jaringan hepar menunjukkan kerusakan ringan hingga sedang. Meskipun susunan radier hepatosit masih tampak, batas antar sel menjadi kabur dan trias porta sulit dikenali. Hal ini menunjukkan bahwa hepatosit memiliki ketahanan struktur yang sedikit lebih tinggi dibandingkan sel ginjal, namun tetap rentan terhadap denaturasi apabila terkena fiksasi berlebih. Literatur histologi hepatic menyebut bahwa fiksasi melebihi 24 jam menyebabkan kaburnya struktur sinusoida dan kehilangan distribusi glikogen secara optimal (Likhithaswamy et al., 2022; Shetty et al., 2020). Pada pankreas, sebagai organ dengan struktur kombinasi

eksokrin dan endokrin, tampak paling rentan terhadap efek *over* fiksasi. Pulau Langerhans menunjukkan disintegrasi batas dan berkurangnya kontras pewarnaan, menandakan hilangnya integritas membran sel. Selain itu, vakuolisasi pada asinus menunjukkan pelepasan komponen sitoplasma dan degradasi protein.

Temuan ini konsisten dengan laporan yang menyatakan bahwa jaringan dengan aktivitas sekretori tinggi seperti pankreas sangat sensitif terhadap durasi fiksasi dan mudah mengalami artefak (Olenovych et al., 2024). Selain akibat dari durasi fiksasi, kondisi lain seperti sirkulasi formalin yang tidak optimal, ukuran fragmen jaringan yang terlalu besar, dan suhu ruang yang fluktuatif juga dapat berkontribusi terhadap buruknya hasil preparat. Menurut studi terbaru, efisiensi fiksasi sangat bergantung pada rasio volume fiksatif terhadap jaringan, durasi yang tepat, serta homogenitas distribusi larutan dalam jaringan, terutama bila fragmen jaringan lebih tebal dari 2–3 mm maka risiko artefak meningkat signifikan (Tran et al., 2017; Lim et al., 2019; Adeniran et al., 2021). Penelitian ini menunjukkan bahwa fiksasi melebihi waktu ideal (12–24 jam) berdampak negatif terhadap kualitas preparat histologis dan menegaskan perlunya SOP baku dalam pembuatan preparat histologis.

KESIMPULAN

Fiksasi selama dua minggu tidak menghasilkan preparat histologis yang optimal, sehingga waktu fiksasi ini tidak disarankan sebagai acuan dalam penyusunan SOP histoteknik di laboratorium terkait.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniran, B. V., Bjarkadottir, B. D., Appeltant, R., Lane, S., & Williams, S. A. (2021). Improved preservation of ovarian tissue morphology that is compatible with antigen detection using a fixative mixture of formalin and acetic acid. *Human reproduction* (Oxford, England), 36(7), 1871–1890. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab075>
- Alturkistani, H. A., Tashkandi, F. M., & Mohammedsaleh, Z. M. (2015). Histological Stains: A Literature Review and Case Study. *Global Journal of Health Science*, 8(3), 72–79. <https://doi.org/10.5539/gjhs.v8n3p72>
- Anil. Rajendran. (2012). Routine Histotechniques, Staining and Notes on Immunohistochemistry. *Shafer's Textbook of Oral Pathology*, January 2012, 944.
- Ariany, D., Rahman, A., Rachmawati, N. M., Hermawati, L., & Irawati, N. B. U. (2025). Studi Histopatologi Pengaruh Pemberian Dmba Secara Topikal Pada Organ Hati Mencit C3H/HEJ. *Medika Tadulako*, 10(1), 66–71. <https://doi.org/10.22487/mtj.v10i1.1892>
- Baskin, D. G. (2014). Fixation and Tissue Processing in Immunohistochemistry. In *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.07402-5>
- Bauer, D. R., & Chafin, D. R. (2023). Assessing Tissue Fixation Time and Quality with Label-free Mid Infrared Spectroscopy and Machine Learning. *Biopreservation and Biobanking*, 21(2), 208–216. <https://doi.org/10.1089/bio.2022.0108>
- Bilgin, C., Dai, D., Johnson, C., Mereuta, O. M., Kallmes, D. F., Brinjikji, W., & Kadirvel, R. (2023). Quality assessment of histopathological stainings on prolonged formalin fixed thrombus tissues retrieved by mechanical thrombectomy. *Frontiers in neurology*, 14, 1223947. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1223947>
- Bussolati, G. (2022). Fixation in histopathology: The mandate to renew. *Pathologica*, 114(4), 275–277. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-782>
- Chung, J. Y., Song, J. S., Ylaya, K., Sears, J. D., Choi, L., Cho, H., Rosenberg, A. Z., & Hewitt, S. M. (2018). Histomorphological and Molecular Assessments of the Fixation Times Comparing Formalin and Ethanol-Based Fixatives. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 66(2), 121–135. <https://doi.org/10.1369/0022155417741467>

- Dağdeviren, T., Yolcu, H. K., & Ünver, B. (2024). Histological Fixation Process and Fixatives. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 12(8), 1482–1486. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v12i8.1482-1486.6808>
- Likhithaswamy, H. R., Madhushankari, G. S., Selvamani, M., Mohan Kumar, K. P., Kokila, G., & Mahalakshmi, S. (2022). Assessing the quality of long-term stored tissues in formalin and in paraffin-embedded blocks for histopathological analysis. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 10(1), 23–29. https://doi.org/10.4103/JMAU.JMAU_53_20
- Lim, S. D., Huang, Q., & Seibel, E. J. (2019). Evaluation of Formalin Fixation for Tissue Biopsies Using Shear Wave Laser Speckle Imaging System. *IEEE Journal of Translational Engineering in Health and Medicine*, 7(March), 1–10. <https://doi.org/10.1109/JTEHM.2019.2909914>
- Meecham, A., Miranda, E., Morris, H. T., Hair, J., Oien, K. A., Gerrard, G., Guppy, N., Mooney, D., Shaw, E. C., Ashton-Key, M., Lees, R., Flanagan, A., & Rodriguez-Justo, M. (2021). Alternative tissue fixation for combined histopathological and molecular analysis in a clinically representative setting. *Histochemistry and Cell Biology*, 156(6), 595–607. <https://doi.org/10.1007/s00418-021-02029-1>
- Morrison, L. E., Larrinaga, T. M., Kelly, B. D., Lefever, M. R., Beck, R. C., & Bauer, D. R. (2025). Concurrent Viewing of H&E and Multiplex Immunohistochemistry in Clinical Specimens. *Diagnostics*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/diagnostics15020164>
- Olenovych, O., Boychuk, T., Davydenko, I. S., & Davydenko, O. (2024). Histomorphological Peculiarities of the Pancreatic Parenchyma in Rats With Alloxan-Induced Diabetes of Different Duration. *Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine*, 14(2(52)), 100–107. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XIV.2.52.2024.15>
- Rahman, M. A., Sultana, N., Ayman, U., Bhakta, S., Afrose, M., Afrin, M., & Haque, Z. (2022). Alcoholic fixation over formalin fixation: A new, safer option for morphologic and molecular analysis of tissues. *Saudi journal of biological sciences*, 29(1), 175–182. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.075>
- Sanderson, T., Wild, G., Cull, A. M., Marston, J., & Zardin, G. (2018). Immunohistochemical and immunofluorescent techniques. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, Eighth Edition, 5, 337–394. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00019-0>
- Shami, G. J., Chen, Z., Cheng, D., Wisse, E., & Braet, F. (2025). On the long-term storage of tissue for fluorescence and electron microscopy: lessons learned from rat liver samples. *Histochemistry and Cell Biology*, 163(1). <https://doi.org/10.1007/s00418-024-02334-5>
- Shetty, J. K., Babu, H. F., & Hosapatna Laxminarayana, K. P. (2020). Histomorphological Assessment of Formalin versus Nonformalin Fixatives in Diagnostic Surgical Pathology. *Journal of Laboratory Physicians*, 12(04), 271–275. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1722546>
- Silva, J., Castelhana, R., Silva, F., Santos, J. P., Félix, A., Cruz, J., Machado, J., & Pessanha, S. (2024). The impact of formalin fixation in the elemental content of tissues: Parametrization up to 48 h. *Microchemical Journal*, 200(February). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110281>
- Tran, H., Jan, N. J., Hu, D., Voorhees, A., Schuman, J. S., Smith, M. A., Wollstein, G., & Sigal, I. A. (2017). Formalin Fixation and Cryosectioning Cause Only Minimal Changes in Shape or Size of Ocular Tissues. *Scientific reports*, 7(1), 12065. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12006-1>