

PENGARUH PENGGUNAAN BERULANG LARUTAN HEMATOKSILIN TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN HEMATOKSILIN-EOSIN

The Effect of Repeated Use of Hematoxylin Solution on Hematoxylin-Eosin Staining Quality

¹Putri Anggraeni, ²Wiwin Wiryanti, ³Adang Durachim, ⁴Mamat Rahmat

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Program Sarjana Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung

Email: panggraeni018@gmail.com, wiwinwiryanti@yahoo.com, adangdurachim65@gmail.com, mamatrahmat64@gmail.com

ABSTRAK

Kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) sangat bergantung pada kondisi kimiawi larutan hematoksilin, yang dapat menurun apabila digunakan berulang tanpa penggantian. Larutan hematoksilin yang telah mengalami deplesi komponen aktif dan pergeseran pH berpotensi menurunkan kejelasan inti sel serta kontras sitoplasma pada sediaan histologi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penggunaan berulang larutan hematoksilin terhadap kualitas pewarnaan HE, serta menentukan pada preparat ke berapa penurunan kualitas mulai terjadi. Penelitian menggunakan pendekatan kuantitatif dengan desain kuasi eksperimen post-test only. Sampel berupa preparat jaringan hepar mencit (*Mus musculus*) yang diwarnai menggunakan satu batch larutan hematoksilin Mayer secara berulang tanpa penggantian pada 250 preparat yang terbagi menjadi 25 seri, masing-masing seri berisi 10 preparat. Dari setiap seri dipilih 3 preparat sehingga total 75 preparat dinilai oleh 3 panelis berdasarkan kejelasan inti sel, keseragaman pewarnaan, intensitas warna, dan kualitas warna sitoplasma, kemudian data dianalisis menggunakan uji korelasi Spearman Rank. Hasil penelitian menunjukkan rerata skor kualitas pewarnaan stabil pada seri ke-1 hingga ke-5 (skor 8,00), mulai menurun pada seri ke-6 (skor 7,87), dan terus menurun hingga skor terendah 5,87 pada seri ke-25. Uji korelasi Spearman menunjukkan hubungan negatif yang sangat kuat dan signifikan antara jumlah seri penggunaan larutan hematoksilin dengan kualitas pewarnaan HE ($r_s = -0,935$; $p < 0,001$), dengan koefisien determinasi 0,874. Dapat disimpulkan bahwa penggunaan berulang larutan hematoksilin tanpa penggantian menurunkan kualitas pewarnaan HE secara progresif. Laboratorium histologi disarankan memantau kondisi larutan hematoksilin secara berkala dan mempertimbangkan penggantian larutan sebelum jumlah preparat yang diproses mencapai titik penurunan kualitas.

Kata kunci: hematoksilin; penggunaan berulang; kualitas pewarnaan; Hematoksilin-Eosin; korelasi Spearman

ABSTRACT

The quality of Hematoxylin-Eosin (HE) staining strongly depends on the chemical condition of the hematoxylin solution, which may decline with repeated use without replacement. A hematoxylin

Article History

Received: Agustus 2026

Reviewed: Agustus 2026

Published: Agustus 2026

Plagiarism Checker No 950

Prefix DOI : Prefix DOI :

10.8734/Nutricia.v1i2.365

Copyright : Author

Publish by : Medic Nutricia



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

*solution that has undergone active-component depletion and pH shift can reduce nuclear clarity and cytoplasmic contrast in histological sections. This study aimed to analyze the effect of repeated use of hematoxylin solution on HE staining quality and to determine the slide at which quality decline begins. A quantitative approach with a post-test only quasi-experimental design was applied. The samples were mouse (*Mus musculus*) liver tissue sections stained with a single batch of Mayer's hematoxylin solution, used repeatedly without replacement for 250 slides divided into 25 series of 10 slides each. Three slides were selected from each series, giving a total of 75 slides assessed by three panelists based on nuclear clarity, staining uniformity, color intensity, and cytoplasmic color quality; the data were then analyzed using the Spearman Rank correlation test. The mean staining quality score remained stable from series 1 to 5 (score 8.00), began to decline at series 6 (score 7.87), and continued to decrease to its lowest score of 5.87 at series 25. The Spearman correlation test showed a very strong, significant negative relationship between the number of series of hematoxylin solution use and HE staining quality ($r_s = -0.935$; $p < 0.001$), with a coefficient of determination of 0.874. It can be concluded that repeated use of hematoxylin solution without replacement progressively decreases HE staining quality. Histology laboratories are advised to periodically monitor the condition of the hematoxylin solution and to consider replacing it before the number of slides processed reaches the point of quality decline.*

Keywords: *hematoxylin; repeated use; staining quality; Hematoxylin-Eosin; Spearman correlation*

PENDAHULUAN

Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (H&E) merupakan teknik pewarnaan histopatologi yang paling luas digunakan karena sederhana, ekonomis, dan mampu menampilkan morfologi jaringan secara jelas. Hematoksilin mewarnai inti sel menjadi biru-ungu, sedangkan eosin mewarnai sitoplasma dan komponen ekstraseluler menjadi merah muda, sehingga tercipta kontras yang menjadi dasar utama interpretasi histopatologi (Larson dkk., 2011). Peran H&E tetap dominan meskipun berbagai metode diagnostik lanjutan terus berkembang, karena kestabilan warna yang dihasilkan dari ikatan hematein dengan mordan garam logam menjadikannya pilihan utama untuk pemeriksaan rutin (Ortiz-Hidalgo, 2019).

Kapasitas larutan hematoksilin dalam mempertahankan mutu warna secara konsisten sangat dipengaruhi oleh beban kerja atau jumlah preparat yang diproses. Semakin banyak preparat yang dicelupkan ke dalam larutan yang sama tanpa penggantian, semakin besar beban kerja reagen tersebut. Penggunaan reagen secara berulang memicu fenomena carry-over, yaitu terbawanya sisa cairan dari tahap sebelumnya, yang mengakibatkan pengenceran zat warna dan pergeseran pH larutan secara bertahap. Pergeseran ini berdampak pada spesifisitas warna, di mana detail kromatin inti sel mulai memudar sementara sitoplasma menunjukkan pewarnaan berlebih yang mengaburkan kontras (Sampias, 2018). Penurunan kualitas akibat penggunaan berulang ini pernah dilaporkan secara nyata pada preparat jaringan kanker payudara yang menunjukkan degradasi struktur dan penurunan intensitas warna setelah reagen hematoksilin dipakai selama satu bulan untuk sekitar 150-200 preparat (Dani, 2023).

Dampak frekuensi penggunaan reagen terhadap kualitas pewarnaan juga telah dibuktikan melalui analisis kuantitatif berbasis optical density, yang menunjukkan bahwa presisi pewarnaan berada pada titik optimal segera setelah penggantian reagen baru dan menurun secara siklis seiring bertambahnya beban slide (Chlipala dkk., 2020; Benton dkk., 2025). Meskipun demikian, belum terdapat panduan formal yang seragam mengenai kapan reagen hematoksilin harus diganti, sehingga sebagian besar laboratorium masih mengandalkan inspeksi visual atau perkiraan jumlah slide sebagai dasar penggantian, yang berisiko membuat reagen dipakai jauh melampaui kapasitas optimalnya tanpa terdeteksi (Benton dkk., 2025).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh penggunaan berulang larutan hematoksilin terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin, sekaligus menentukan pada preparat ke berapa penurunan kualitas tersebut mulai terjadi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan empiris bagi laboratorium histopatologi dalam menetapkan kebijakan penggantian larutan hematoksilin berdasarkan jumlah preparat kumulatif, guna menjaga konsistensi mutu pewarnaan dan keandalan interpretasi diagnostik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan desain kuasi eksperimen post-test only, karena kualitas preparat hanya diukur setelah perlakuan berupa jumlah penggunaan larutan hematoksilin, tanpa pengukuran awal. Penelitian dilaksanakan pada Januari-Juni 2026 di Laboratorium Sitohistoteknologi, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung.

Populasi penelitian adalah seluruh preparat jaringan yang diwarnai menggunakan metode HE sesuai prosedur baku laboratorium. Sampel diambil secara purposive sampling berupa preparat jaringan hepar dari 15 ekor mencit (*Mus musculus*) strain BALB/c jantan berusia satu bulan dengan bobot 20-25 gram, yang diproses dengan prosedur, jenis jaringan, dan waktu pewarnaan yang identik. Sebanyak 250 preparat yang dihasilkan dibagi menjadi 25 seri (masing-masing 10 preparat) dan diwarnai menggunakan satu batch larutan hematoksilin Mayer secara berulang tanpa penggantian; seri pertama berfungsi sebagai kontrol yang mewakili kondisi larutan baru, sedangkan reagen lain (termasuk eosin) tetap dipantau dan diganti apabila mutunya menurun. Dari setiap seri diambil 3 preparat (preparat ke-1, ke-5, dan ke-10) untuk mewakili posisi awal, tengah, dan akhir seri, sehingga total 75 preparat dinilai secara mikroskopis. Kriteria inklusi meliputi preparat histologi jaringan hepar mencit yang memenuhi standar kualitas dan dapat diamati dengan baik secara mikroskopis, sedangkan kriteria eksklusi meliputi slide yang rusak atau hilang selama pembuatan preparat.

Tahapan pembuatan preparat meliputi fiksasi jaringan dengan Neutral Buffered Formalin (NBF) 10% selama ± 24 jam, prosesing jaringan (dehidrasi bertingkat, clearing, dan infiltrasi parafin), embedding, serta pemotongan blok parafin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Pewarnaan HE dilakukan melalui tahap deparafinisasi, rehidrasi, pencelupan ke larutan hematoksilin per seri (1-5 menit), pencucian, blueing dengan litium karbonat 0,5%, pewarnaan eosin (45 detik), dehidrasi, clearing, dan mounting menggunakan entelan.

Penilaian kualitas pewarnaan dilakukan oleh 3 panelis terlatih menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x, berdasarkan empat parameter, yaitu kejelasan inti sel, keseragaman pewarnaan inti, intensitas warna inti, dan kualitas warna sitoplasma, dengan kriteria skoring sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Parameter	Skor 1 (Tidak Baik)	Skor 2 (Baik)
Kejelasan Inti Sel	Batas membran sel kabur, detail kromatin/anak inti tidak tajam	Batas membran sel tegas, detail kromatin/anak inti terlihat jelas
Keseragaman Pewarnaan Inti	Pewarnaan inti tidak merata di seluruh lapang pandang	Pewarnaan inti seragam dan homogen di seluruh lapang pandang
Intensitas Warna Inti	Warna inti pudar (understained) atau terlalu pekat (overstained)	Warna inti biru keunguan, menyerap warna dengan baik
Kualitas Warna Sitoplasma	Sitoplasma keruh, kotor, atau berwarna ungu keabu-abuan	Sitoplasma merah muda jernih, bersih, tanpa sisa warna ungu

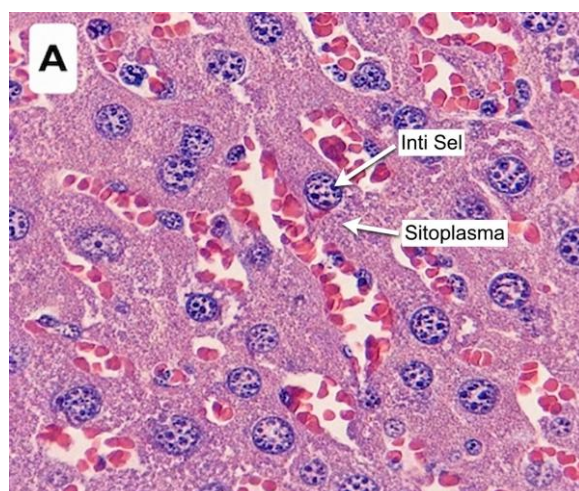
Tabel 1. Kriteria Penilaian Kualitas Pewarnaan Hematoksilin-Eosin

Setiap parameter diberi skor 1 (tidak baik) atau 2 (baik), sehingga skor total berkisar 4-8; preparat dikategorikan baik apabila skor mencapai 6-8 dan tidak baik apabila 1-5. Data rerata skor ketiga panelis per seri selanjutnya diuji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah kelompok perlakuan (n=25 seri) lebih sensitif dianalisis dengan uji tersebut dibandingkan Kolmogorov-Smirnov. Oleh karena data tidak berdistribusi normal, hubungan antara jumlah seri penggunaan larutan hematoksilin dengan kualitas pewarnaan HE dianalisis menggunakan uji korelasi nonparametrik Spearman Rank.

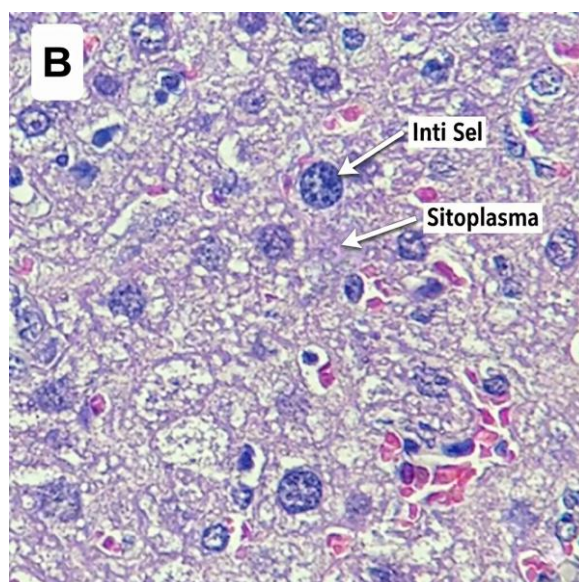
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Pewarnaan Berdasarkan Seri Penggunaan Larutan Hematoksilin

Pengamatan mikroskopis pada seri ke-1 menunjukkan preparat dengan skor 8 (kategori baik): batas membran inti tegas, kromatin dan anak inti terlihat jelas, warna inti biru keunguan pekat, serta sitoplasma merah muda jernih tanpa sisa warna kotor. Sebaliknya, preparat pada seri ke-24 hanya memperoleh skor 4 (kategori tidak baik): batas membran inti kabur, warna inti pudar (understained), dan sitoplasma tampak keruh keabu-abuan dengan pewarnaan yang tidak merata di seluruh lapang pandang. Rekapitulasi rerata skor tiap panelis dan skor gabungan pada seluruh 25 seri disajikan pada Tabel 2.



(A) Seri ke-1, skor 8 (kategori baik)



(B) Seri ke-24, skor 4 (kategori tidak baik)

Gambar 1. Gambaran mikroskopis kualitas preparat jaringan hati dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin, perbesaran 400x. (A) Preparat seri ke-1 (skor 8, kategori baik): batas membran inti tegas, kromatin dan anak inti terlihat jelas, warna inti biru keunguan pekat, sitoplasma merah muda jernih. (B) Preparat seri ke-24 (skor 4, kategori tidak baik): batas membran inti kabur, warna inti pudar (understained), sitoplasma tampak keruh keabu-abuan dengan pewarnaan tidak merata.

Seri ke-	Panelis 1	Panelis 2	Panelis 3	Rerata	Kategori
1	8,00	8,00	8,00	8,00	Baik
2	8,00	8,00	8,00	8,00	Baik
3	8,00	8,00	8,00	8,00	Baik

4	8,00	8,00	8,00	8,00	Baik
5	8,00	8,00	8,00	8,00	Baik
6	8,00	7,60	8,00	7,87	Baik
7	8,00	7,60	8,00	7,87	Baik
8	8,00	8,00	7,60	7,87	Baik
9	8,00	7,30	7,30	7,53	Baik
10	7,60	6,60	8,00	7,40	Baik
11	7,60	6,30	8,00	7,30	Baik
12	8,00	5,30	7,30	6,87	Baik
13	7,60	5,30	7,60	6,83	Baik
14	7,30	5,30	6,60	6,40	Baik
15	7,60	5,00	7,60	6,73	Baik
16	7,30	5,30	7,00	6,53	Baik
17	7,30	6,00	7,60	6,97	Baik
18	7,30	5,60	7,00	6,63	Baik
19	7,30	6,00	6,60	6,63	Baik
20	6,60	6,00	6,30	6,30	Baik
21	6,60	5,60	6,00	6,07	Baik
22	7,30	6,00	6,60	6,63	Baik
23	8,00	5,30	6,00	6,43	Baik
24	7,30	5,30	5,60	6,07	Baik
25	7,60	5,00	5,00	5,87	Tidak Baik

Tabel 2. Rerata Skor Kualitas Pewarnaan HE per Panelis pada Setiap Seri Penggunaan Larutan Hematoksilin (n=25 seri)

Berdasarkan Tabel 2, kualitas pewarnaan relatif stabil pada seri ke-1 hingga ke-5 dengan rerata skor maksimal 8,00. Penurunan pertama kali teramati pada seri ke-6 (rerata 7,87) merepresentasikan preparat ke-51 hingga ke-60 dan kecenderungan menurun ini berlanjut meskipun terdapat fluktuasi kenaikan pada beberapa seri, seperti seri ke-17 (6,97). Fluktuasi tersebut kemungkinan dipengaruhi variasi karakteristik jaringan antarblok, perbedaan biologis antarmencit, atau variasi teknis saat penilaian. Skor terendah tercatat pada seri ke-25, yaitu 5,87, yang merupakan satu-satunya seri yang jatuh ke kategori tidak baik (skor <6), hampir dua poin di bawah skor awal.

Uji Normalitas dan Korelasi Spearman Rank

Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap 25 data rerata skor menghasilkan nilai signifikansi 0,012 (Tabel 3), lebih kecil dari 0,05, sehingga data dinyatakan tidak berdistribusi normal dan analisis hubungan dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik.

Uji	Statistic (df)	Sig.
Kolmogorov-Smirnov	0,181 (25)	0,034
Shapiro-Wilk	0,891 (25)	0,012

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Hasil uji korelasi Spearman Rank antara jumlah seri penggunaan larutan hematoksin dengan kualitas pewarnaan HE disajikan pada Tabel 4.

Variabel	rs	p
Jumlah seri penggunaan larutan hematoksin - Kualitas pewarnaan HE	-0,935	<0,001

Tabel 4. Hasil Uji Korelasi Spearman Rank

Koefisien korelasi sebesar -0,935 dengan $p < 0,001$ menunjukkan hubungan yang bermakna secara statistik dan bersifat negatif sangat kuat semakin banyak preparat yang diproses dalam satu batch larutan hematoksin, semakin rendah kualitas pewarnaan yang dihasilkan. Nilai koefisien determinasi ($rs^2 = 0,874$) menunjukkan bahwa 87,4% variasi penurunan kualitas pewarnaan berkaitan dengan bertambahnya jumlah seri penggunaan larutan, sedangkan 12,6% sisanya kemungkinan dipengaruhi faktor lain yang tidak diukur dalam penelitian ini.

Secara kimiawi, hematoksin yang diekstraksi dari kayu *Haematoxylum campechianum* tidak aktif sebagai zat warna sebelum teroksidasi menjadi hematein, yang kemudian berikatan dengan mordan aluminium membentuk kompleks hemalum bermuatan kationik. Kompleks inilah yang berikatan dengan gugus fosfat DNA pada kromatin inti sel (Llewellyn, 2018). Setiap preparat yang dicelupkan akan mengeluarkan sejumlah kompleks hemalum dari larutan karena terikat permanen pada jaringan dan terbawa keluar bersama slide. Apabila pencelupan dilakukan berulang dalam jumlah besar tanpa penambahan komponen aktif baru, laju pembentukan hematein dari cadangan hematoksin yang belum teroksidasi lambat laun tidak mampu mengimbangi laju deplesi tersebut, sehingga konsentrasi efektif pewarna dalam larutan terus menurun.

Faktor kedua yang turut berkontribusi adalah pergeseran pH larutan akibat carry-over air pencucian. Hematoksilin Mayer bekerja optimal pada kondisi asam; residu air keran yang terbawa masuk secara berulang berpotensi menaikkan pH larutan sehingga menurunkan afinitas dan selektivitas ikatan hemalum terhadap kromatin inti (Sampias, 2012; Sigma-Aldrich, 2021). Faktor ketiga adalah akumulasi kontaminan fisik berupa fragmen jaringan yang terlepas dan melayang di dalam bak larutan, yang secara empiris dilaporkan dapat berpindah dan menempel pada preparat-preparat berikutnya yang melalui bak yang sama (Cooper dkk., 2012). Ketiga mekanisme tersebut deplesi komponen aktif, pergeseran pH, dan kontaminasi fisik bekerja secara kumulatif dan saling memperkuat, sehingga menghasilkan pola penurunan kualitas yang bertahap sebagaimana tampak pada data penelitian ini, bukan penurunan yang terjadi mendadak pada satu titik tertentu.

Temuan ini sejalan dengan laporan sebelumnya mengenai penurunan kualitas pewarnaan preparat kanker payudara setelah reagen hematoksilin dipakai untuk 150-200 preparat dalam kurun satu bulan (Dani, 2023), maupun studi berbasis optical density yang menunjukkan pola penurunan efektivitas pewarnaan secara siklis seiring bertambahnya beban slide (Chlipala dkk., 2020; Benton dkk., 2025). Perubahan kejelasan inti yang diamati juga konsisten dengan kriteria kualitas pewarnaan HE yang mensyaratkan warna inti biru hingga biru-kehitaman dengan pola kromatin yang tajam agar diferensiasi seluler dapat dilakukan secara andal (Wick, 2019; Titford, 2009), serta memperkuat argumen bahwa jumlah preparat kumulatif merupakan parameter yang relevan untuk dijadikan acuan penggantian reagen, alih-alih hanya mengandalkan inspeksi visual seperti yang banyak dipraktikkan di laboratorium selama ini (Sofyanita dkk., 2024).

Hasil penelitian ini perlu ditafsirkan dengan memperhatikan keterbatasan desain post-test only, karena kondisi kimiawi larutan (pH dan konsentrasi hematein aktif) tidak diukur secara kuantitatif, serta hanya satu formulasi hematoksilin (Mayer) yang diuji sehingga hasil belum dapat digeneralisasikan untuk seluruh jenis hematoksilin. Variasi biologis antarmencit turut berkontribusi terhadap fluktuasi skor pada beberapa seri pengamatan. Meskipun demikian, hasil penelitian ini memberikan gambaran empiris bahwa pemantauan jumlah preparat kumulatif dapat menjadi bagian dari sistem penjaminan mutu pewarnaan HE di laboratorium histopatologi.

SIMPULAN

Penggunaan berulang larutan hematoksilin tanpa penggantian berpengaruh secara signifikan terhadap kualitas pewarnaan Hematoksilin-Eosin, dengan hubungan negatif yang sangat kuat ($r_s = -0,935$; $p < 0,001$). Kualitas pewarnaan relatif stabil pada seri ke-1 hingga ke-5 (skor 8,00), mulai menurun pada seri ke-6 yang merepresentasikan preparat ke-51 hingga ke-60 (skor 7,87), dan terus menurun hingga mencapai skor terendah 5,87 pada seri ke-25. Laboratorium histopatologi disarankan melakukan pemantauan berkala terhadap kondisi larutan hematoksilin selama pemakaian berulang dan mempertimbangkan penggantian larutan sebelum jumlah preparat kumulatif mencapai titik penurunan kualitas, guna menjaga keandalan interpretasi histopatologi. Penelitian lanjutan disarankan mengukur parameter kimiawi larutan secara kuantitatif (pH dan konsentrasi hematein aktif) serta menguji formulasi hematoksilin lain agar hasil dapat digeneralisasikan lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Avwioro, G. (2011). Histochemical uses of haematoxylin: A review. *Journal of Pharmacy and Clinical Sciences*, 1(1), 24-34.
- Benton, H.M., Chlipala, E., Myers, R., Paul, R., & Klock, J. (2025). Utilizing image analysis by optical density to evaluate changes in hematoxylin and eosin staining quality after reagent overuse. *Journal of Histotechnology*.
- Chlipala, E., Hansen, S.E., Myers, R., Paul, R., & Klock, J. (2020). Effects of reagent overuse on hematoxylin and eosin staining quality: An optical density analysis. *Journal of Histotechnology*, 43(2), 89-97.
- Cooper, K., Sukel, M.T., Lasota, J., & Hewitt, S.M. (2012). Measurement of stainer bath contamination and evaluation of common mitigation strategies. *Biotechnic & Histochemistry*.
- Dani, F.S. (2023). Perbandingan hasil kualitas pewarnaan hematoxylin-eosin baru dan lama pada preparat histopatologi kanker payudara di Klinik Morotai Patologi Kota Bandar Lampung (Skripsi). Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.
- Feldman, A.T., & Wolfe, D. (2014). Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. Dalam C. Clifton (Ed.), *Methods in Molecular Biology: Histopathology* (hlm. 31-43). Humana Press.
- Larson, K., Ho, H.H., Anumolu, P.L., & Jackson, I.T. (2011). Hematoxylin and eosin tissue stain in Mohs micrographic surgery: A review. *Dermatologic Surgery*, 37(8), 1089-1099.
- Llewellyn, B.D. (2018). Does progressive nuclear staining with hemalum (alum hematoxylin) involve DNA, and what is the nature of the dye-chromatin complex? *Biotechnic & Histochemistry*, 93(2), 92-104.
- Ortiz-Hidalgo, C. (2019). Hematoxylin and eosin, the trustworthy gold standard in the era of immunohistochemistry and molecular pathology. *Gaceta Médica de México*, 148(6), 517-518.
- Sampias, C. (2012). An intro to hematoxylin: Staining protocol, hematein formation. Leica Biosystems Knowledge Pathway.
- Sampias, C. (2018). H&E staining basics: Troubleshooting common H&E stain problems. Leica Biosystems Knowledge Pathway.
- Sigma-Aldrich (Merck). (2021). Water for histology staining. Sigma-Aldrich Technical Documents.
- Sofyanita, E., Putri, R., Nazhiifah, T., & Siwi, U. (2024). Differences in hematoxylin eosin (HE) staining results on kidney, skin and colon histology of mice (*Mus musculus*) based on cutting thickness of 3 µm, 6 µm and 9 µm. *ITEGAM-JETIA*, 10(48), 1-7.
- Titford, M. (2009). Progress in the development of microscopical techniques for diagnostic pathology. *Journal of Histotechnology*, 32(1), 9-19.
- Wick, M.R. (2019). The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology: An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 36(5), 303-311.