

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Eosin

1. Definisi Eosin

Eosin merupakan pewarna sintetik yang bersifat asam dan bermuatan negatif, berfungsi untuk memberikan warna merah muda pada struktur sel yang bersifat basa, terutama pada sitoplasma dan serabut protein ekstraseluler (Putri et al., 2023). Pewarna ini umum digunakan dalam teknik histologi dan sitologi untuk memperjelas morfologi jaringan melalui kontras warna. Namun, penggunaan eosin dalam jangka panjang diketahui bersifat karsinogenik dan dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan serta lingkungan akibat limbah kimianya. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif pewarna yang lebih ramah lingkungan, seperti pewarna alami yang memiliki tingkat toksisitas lebih rendah (Jumardi et al., 2023).

2. Kelebihan dan Kelemahan Eosin

Eosin memiliki beberapa kelebihan penting sebagai pewarna sitoplasma dalam prosedur pewarnaan H&E. Sebagai pewarna sintesis golongan xanthene yang bersifat asam, eosin mampu berikatan kuat dengan molekul protein bermuatan positif di sitoplasma dan jaringan ikat, sehingga menghasilkan warna merah hingga oranye yang kontras dan mudah diinterpretasi. Kemampuannya untuk memberikan perubahan warna pada inti yang telah diwarnai hematoksin—dari biru menjadi ungu—

menjadikannya efektif sebagai counterstain dalam menonjolkan detail morfologi sel. Eosin juga tersedia dalam berbagai bentuk komersial seperti Eosin Y, Eosin S, dan Eosin B, namun Eosin Y menjadi pilihan utama karena stabilitas warna dan kompatibilitasnya dengan hematoksin. Selain itu, eosin mudah diformulasikan dalam konsentrasi 0,5–1% dengan tambahan asam asetat untuk mempertajam warna, sehingga teknik pewarnaannya relatif sederhana dan proses diferensiasinya dapat dikontrol melalui pencucian air atau dehidrasi alkohol. Hal ini memberikan fleksibilitas bagi analis dalam menyesuaikan intensitas warna sesuai kebutuhan pengamatan mikroskopis, menjadikan eosin sebagai pewarna yang praktis, mudah diatur, dan sangat efektif untuk pewarnaan sitologi maupun histologi (Khristian & Inderiati, 2017).

Di sisi lain, eosin juga memiliki beberapa kelemahan penting yang perlu diperhatikan, terutama terkait aspek kesehatan dan lingkungan. Sebagai pewarna sintetik golongan xanthene, eosin diketahui memiliki sifat karsinogenik dan bahkan diklasifikasikan sebagai karsinogen Kelas 3 oleh IARC, sehingga penggunaannya memerlukan kehati-hatian dalam penanganan maupun pembuangannya. Selain itu, limbah eosin cenderung sulit terurai secara alami, sehingga berpotensi mencemari lingkungan dan menimbulkan risiko ekologis jika tidak dikelola dengan benar (Febriyanti et al., 2024).

B. Pewarnaan Papanicolaou

1. Definisi Pewarnaan Papanicolaou

Pewarnaan Papanicolaou (Pap Stain) merupakan metode kombinasi pewarnaan sitologi multikromatik yang dikembangkan oleh George Papanicolaou, yang dikenal sebagai bapak sitopatologi. Teknik ini menggunakan hematoksilin untuk memberikan warna pada inti sel dan beberapa pewarna tambahan untuk memperjelas tampilan sitoplasma. Tujuan utama metode ini adalah menampilkan struktur inti sel dengan jelas sehingga memudahkan deteksi perubahan morfologi sel yang dapat mengindikasikan adanya keganasan. Selain itu, penggunaan pewarna pembanding pada sitoplasma menghasilkan kontras yang tajam antara inti dan sitoplasma, sedangkan warna cerah sitoplasma membantu pengamatan sel-sel yang saling bertumpuk (Djanah & Nuroini, 2020).

2. Prinsip Kerja Pewarnaan Papanicolaou

Secara prinsip, pewarnaan Papanicolaou melibatkan proses pewarnaan, hidrasi, dan dehidrasi sel. Kualitas hasil yang diperoleh sangat bergantung pada ketepatan pengambilan sediaan, proses fiksasi yang baik, serta ketelitian selama pewarnaan dan pengamatan mikroskopik. Setiap tahap berperan penting dalam menghasilkan interpretasi diagnostik yang akurat dalam pemeriksaan sitologis (Astuti et al., 2017).

3. Tahap – Tahap Pewarnaan

Secara teknis, metode Pap Stain terdiri atas lima tahap utama, yaitu fiksasi, pewarnaan inti, pewarnaan sitoplasma, penjernihan (*clearing*), dan *mounting*. Dalam prosesnya, digunakan tiga jenis larutan pewarna utama. Hematoksilin berfungsi untuk menodai inti sel, sedangkan Orange G (OG) digunakan untuk mewarnai sel-sel skuamosa berkeratin, terutama pada karsinoma sel skuamosa. Pewarna Eosin Azure (EA) merupakan campuran dari Eosin Y, Light Green SF, dan Bismarck Brown Y, yang masing-masing berfungsi menodai epitel superfisial, sitoplasma sel nonkeratin, dan struktur tertentu lainnya. Warna kontras yang dihasilkan dari kombinasi pewarna ini memungkinkan pengamatan detail morfologi sel menjadi lebih jelas (Rahesti, 2019).

C. Sitologi

1. Definisi Sitologi

Sitologi merupakan cabang ilmu yang mempelajari morfologi atau bentuk sel secara individual, maupun sel-sel yang berasal dari potongan jaringan yang diamati di bawah mikroskop. Sitologi diagnostik atau klinis berfokus pada penilaian kondisi normal dan abnormal dari sel-sel yang diambil dari berbagai bagian tubuh, dengan tujuan mendeteksi adanya perubahan morfologi yang tidak wajar. Preparat sitologi dapat diperoleh dari berbagai sumber tubuh, seperti urin, dahak, cairan vagina, cairan sinus, dan sekret puting. Selain itu, sampel juga dapat diambil

melalui kerokan dari mukosa bukal, lambung, saluran pernapasan, maupun dari cairan tubuh yang terakumulasi, seperti pleura, peritoneum, dan perikardium, bahkan melalui aspirasi pada benjolan yang tampak atau dapat diraba. Ketepatan suatu diagnosis sangat bergantung pada kualitas sediaan sitologi yang dihasilkan. Oleh karena itu, pemahaman yang baik mengenai cara mempersiapkan bahan untuk dijadikan sediaan sangat penting agar hasilnya optimal. Tingkat akurasi pemeriksaan sitologi dari berbagai bagian tubuh dipengaruhi oleh mutu sediaan yang dibuat, termasuk proses persiapan, teknik pewarnaan, serta ketepatan dalam melakukan interpretasi terhadap hasil sediaan tersebut (Mutoharoh et al., 2020).

2. Tujuan Pemeriksaan Sitologi

Sitologi merupakan metode pemeriksaan sel yang banyak digunakan sebagai sarana skrining awal karena bersifat non-invasif, cepat, dan relatif nyaman bagi pasien, sehingga memungkinkan deteksi dini terhadap perubahan seluler yang terjadi pada jaringan epitel. Metode ini efektif untuk mengidentifikasi kelainan sel, termasuk inflamasi, infeksi, hingga perubahan prakanker, terutama pada jaringan mukosa seperti mukosa rongga mulut (Sharma et al., 2024). Pemeriksaan sitologi oral juga memiliki peran penting dalam mendeteksi dini lesi displastik dan kelainan pra-maligna, karena perubahan morfologi sel dapat diamati sebelum timbulnya manifestasi klinis yang jelas (Suemitsu et al., 2025). Selain itu, sitologi memiliki keunggulan sebagai metode skrining

populasi yang mudah diterapkan dan efisien, sehingga dapat digunakan untuk menilai adanya kelainan seluler pada berbagai kondisi tanpa memerlukan prosedur invasif (Fairuz & Dewi, 2023). Meskipun tidak menggantikan biopsi sebagai standar emas diagnosis, sitologi tetap berperan penting sebagai pemeriksaan tahap awal untuk menyeleksi pasien yang membutuhkan evaluasi lanjutan secara histopatologi, sehingga mendukung proses diagnostik secara efektif dan hemat sumber daya kesehatan (Suemitsu et al., 2025).

3. Jenis – Jenis Pemeriksaan Sitologi

Spesimen sitologik diambil dengan tujuan memeriksa pada tingkat sel. Spesimen sitologik didapat dari sel yang terlepas (exfoliatif) atau sel yang terlepas dari jaringan. Jenis spesimen yang paling umum yang diterima di laboratorium patologi anatomik adalah spesimen cervical Pap Smear, hal ini dikarenakan Pap Smear merupakan salah satu program pemerintah dalam menurunkan angka kanker servik. Selain itu spesimen yang diterima di laboratorium sitologi adalah spesimen sitologi aspirasi jarum halus (Fine Needle Aspiration) (FNA), dimana sel didapatkan dari jarum yang sangat tipis yang dimasukkan ke sebuah lesi berbentuk cairan (misalnya kista tiroid). Selain itu spesimen dapat berasal dari urin, dahak, cairan cerebrospinal, cairan berasal dari bilasan dan lain sebagainya yang mengandung materi sel. Lain halnya dengan spesimen untuk laboratorium histopatologi, dimana spesimen untuk laboratorium histopatologi adalah seluruh organ yang diambil dari

pasien baik berukuran kecil maupun berukuran besar (Khristian & Inderiati, 2017).

4. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Sediaan Sitologi

Untuk memperoleh kualitas sediaan sitologik yang baik yang berasal dari cairan, ada beberapa tips yang dapat digunakan sebelum dilakukan pembuatan sediaan sitologik, antara lain:

1. Pastikan kaca objek benar-benar bersih.
2. Hindari teknik penyemprotan tanpa dilakukan penyebaran. Hal ini dapat menyebabkan sel menumpuk bahkan sulit untuk dilakukan interpretasi.
3. Gunakan tekanan dengan lembut.
4. Lakukan fiksasi secepat mungkin (fiksasi basah ataupun kering).

Untuk melakukan fiksasi kering disarankan menggunakan penyemprot udara dengan suhu sesuai dengan lingkungan (Khristian & Inderiati, 2017).

D. Epitel Mukosa Mulut

1. Definisi Epitel Mukosa Mulut

Epitel mukosa berperan sebagai salah satu sistem pertahanan tubuh yang melindungi rongga mulut dari serangan mikroorganisme serta berbagai faktor lingkungan. Secara mikroskopis, struktur epitel mukosa tersusun atas dua lapisan utama, yaitu lapisan epitel permukaan dan lapisan jaringan penyambung fibrosa penunjang yang disebut lamina propria (Mizan et al., 2021).

2. Struktur Mikroskopis Epitel Mukosa Mulut

Jaringan epitel mukosa mulut dapat diamati dengan mudah melalui pembuatan sediaan apusan rongga mulut (Salsabila et al., 2024; Soesilawati, 2020). Secara histologis, epitel rongga mulut tersusun atas epitel skuamosa berlapis (*stratified squamous epithelium*) yang berfungsi sebagai lapisan pelindung utama. Epitel ini terdiri atas dua tipe utama, yaitu epitel berkeratin dan epitel nonkeratin, yang masing-masing menunjukkan perbedaan struktur dan fungsi. Pada epitel mukosa mulut berkeratin, lapisan tersusun dari bagian terdalam ke permukaan meliputi *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, dan *stratum korneum* (Sandri et al., 2020). Sementara itu, epitel nonkeratin memiliki lapisan *stratum basale* yang diikuti oleh *stratum filamentosum* dan *stratum distendendum*, dengan sel permukaan yang tetap memiliki inti. Secara fungsional, epitel mukosa mulut berperan sebagai barier pertahanan tubuh terhadap infeksi, iritasi, dan cedera mekanik, sehingga menjadi komponen penting dalam menjaga kesehatan rongga mulut (Mizan et al., 2021).

3. Jenis – Jenis Epitel Mukosa Mulut

Mukosa rongga mulut secara umum dibagi menjadi tiga tipe, yaitu *lining mucosa*, *masticatory mucosa*, dan *specialized mucosa*. *Lining mucosa* ditemukan pada area yang bersifat lebih fleksibel, seperti pipi, bibir bagian dalam, mukosa alveolar, *palatum lunak*, dan dasar mulut. Tipe mukosa ini umumnya memiliki epitel skuamosa nonkeratin dan

berada di atas jaringan ikat yang kaya serabut elastin, sehingga lebih lentur. Masticatory mucosa memiliki karakteristik lebih kaku dan kuat, terletak pada gingiva dan palatum keras, dan tersusun atas epitel berkeratin yang tahan terhadap tekanan dan gesekan. Sementara itu, specialized mucosa ditemukan pada dorsum lidah dan berkaitan dengan struktur khusus seperti papilla lingual dan taste buds, dengan epitel yang sebagian besar juga berkeratin (Mizan et al., 2021; Shum et al., 2017).

E. Buah Naga Merah

1. Definisi Buah Naga Merah

Buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) mengandung kadar betasianin dan antosianin yang tinggi. Antosianin merupakan pigmen alami berwarna merah hingga biru yang banyak terdapat pada bagian daging buah, sedangkan betasianin adalah pigmen berwarna merah keunguan yang umumnya terkonsentrasi pada kulit buah. Kedua jenis pigmen ini berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber pewarna alami (R. P. Sari et al., 2022).

2. Klasifikasi

Buah naga termasuk dalam kelompok tanaman kaktus atau famili Cactaceae dan subfamili Hylocereanea dengan subfamili yang terdapat beberapa genus, sedangkan buah naga termasuk dalam genus *Hylocereus*.



Gambar 2.1. Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) ((Aliya et al., 2024)

Adapun klasifikasi buah naga tersebut sebagai berikut (Sigarlaki & Tjiptaningrum, 2016).

Divisi	: Spermatohyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Cactales
Famili	: Cactaceae
Subfamili	: Hylocereanea
Genus	: Hylocereus
Species	: Hylocereus polyrhizus (daging merah)
	Hylocereus undatus (daging putih)

3. Morfologi Tanaman

Hylocereus costaricensis merupakan salah satu spesies buah naga yang dikenal dengan warna daging buahnya yang merah pekat (super red). Secara morfologis, tanaman ini digolongkan sebagai tumbuhan

tidak lengkap karena tidak memiliki daun sejati, sebagaimana karakteristik khas tanaman famili Cactaceae. Meskipun demikian, spesies ini tetap memiliki struktur organ vegetatif dan generatif seperti akar, batang, cabang, bunga, dan biji. Sistem perakarannya bersifat epifit, yang memungkinkan tanaman merambat dan menempel pada penopang di sekitarnya. Batangnya berbentuk segitiga atau bersiku dengan permukaan berlendir dan berlapis lilin ketika dewasa, berfungsi sebagai tempat penyimpanan air sesuai adaptasinya sebagai tanaman sukulen. Biji buah naga merah berwarna hitam, berukuran kecil, berbentuk bulat, dan memiliki tekstur keras. Bunga *H. costaricensis* berukuran besar dan berbentuk corong, dengan putik dan benang sari di dalamnya, sehingga digolongkan sebagai tanaman hermaphrodit atau berkelamin dua. Secara taksonomi, ciri morfologi seperti akar, batang, bunga, serta struktur tambahan lainnya telah lama digunakan sebagai dasar pengelompokan spesies dalam genus ini, meskipun karakter serbuk sari sebagai bagian dari organ reproduksi jantan masih relatif jarang dimanfaatkan dalam kajian taksonomi (Robidah et al., 2015).

4. Kandungan Kulit dan Daging Buah Naga Merah

Buah naga merah dikenal sebagai buah yang kaya akan senyawa bioaktif, baik pada daging maupun kulitnya. Daging buah naga merah mengandung berbagai komponen seperti fenol, flavonoid, vitamin C, serat, serta pigmen alami terutama betasianin dan antosianin. Selain itu, kulit buah naga merah juga memiliki kandungan metabolit sekunder

berupa flavonoid, polifenol, karoten, pektin, serta vitamin C, vitamin E, dan vitamin A yang bersifat antioksidan. Pigmen betasianin pada kulit buah menghasilkan warna merah keunguan yang dominan dan bersifat larut air, sehingga sangat berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber pewarna alami dalam pewarnaan sitologi. Dengan kandungan pigmen yang melimpah tersebut, kulit buah naga merah menjadi bahan yang menjanjikan sebagai alternatif pewarna sintetis seperti eosin pada metode Papanicolaou (Aliya et al., 2024)

5. Kandungan Pigmen

Buah naga merah merupakan salah satu sumber alami yang potensial dalam menghasilkan zat warna, terutama pigmen golongan betalain. Betalain merupakan metabolit sekunder yang bersifat larut air, mengandung gugus nitrogen, dan berperan memberikan variasi warna pada jaringan tanaman. Dalam buah naga merah, pigmen ini terbagi menjadi dua kelompok utama, yaitu betasianin dan betasantin. Betasianin bertanggung jawab atas warna merah–ungu yang khas dan terbentuk melalui kondensasi antara asam betalamat dan siklo-DOPA, dengan karakteristik serapan cahaya pada panjang gelombang 534–554 nm. Sementara itu, betasantin memberikan warna kuning–jingga dan terbentuk dari konjugasi asam betalamat dengan amina atau asam amino, memiliki absorbansi pada panjang gelombang 470–486 nm. Kandungan dan keberagaman pigmen betalain ini menjadikan buah naga merah tidak hanya bernilai sebagai komoditas buah, tetapi juga

sebagai sumber pewarna alami yang potensial dalam industri pangan maupun kesehatan (Y. Sari, 2018).