

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Histopatologi

Histoteknik adalah teknik pengolahan specimen melalui tahapan tertentu hingga menjadi preparat yang dapat dianalisis secara histologi menggunakan mikroskop, serta mengetahui struktur sel dan bentuk jaringan (Prahanarendra, 2015).

Pembuatan sediaan histologi terdiri dari beberapa tahap yaitu, fiksasi, pencucian, dehidrasi, pembenangan, embeding, pemotongan, pewarnaan, mounting, dan pembacaan hasil (Alwi, 2020).

B. Pembuatan Sediaan Histologi

Proses pembuatan preparat jaringan terdiri dari beberapa tahap yaitu fiksasi, dehidrasi, pembenangan, infiltrasi, embedding, pemotongan, dan terakhir adalah proses pewarnaan.

1. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan sebagai preparat sel atau bahan antar sel harus diproses dengan cepat dalam waktu kurang dari 4 jam untuk mencegah kerusakan pasca pemotongan. Preparat diambil menggunakan pisau tajam tanpa memberikan tekanan, dengan ketebalan 2-5 mm (Prahanarendra, 2015).

2. Fiksasi

Fiksasi adalah tahap awal dalam proses pembuatan preparat jaringan menggunakan etanol, bouin, dan NBF yang bertujuan mencegah

perubahan bentuk maupun sifat sediaan jaringan akibat autolisis yang dapat menyebabkan kematian dan kerusakan jaringan.

3. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan proses penghilangan air serta larutan fiksatif dari jaringan. Reagen yang dipakai dalam dehidrasi perlu bersifat hidrofilik, dengan polaritas tinggi agar dapat berinteraksi dengan molekul air melalui ikatan hidrogen. Contoh reagen yang bisa digunakan meliputi Etanol, Etanol Aseton, Metanol, Isopropanol, Butanol, Glikol, dan Alkohol denaturasi (Prahanarendra, 2015).

4. Pembeningan

Pembeningan adalah langkah yang krusial dalam pembuatan histologi, dengan tujuan menghilangkan kandungan alkohol dari jaringan setelah tahap dehidrasi dan menggantinya dengan cairan yang bisa berikatan dengan parafin. Jaringan tidak dapat langsung dicelup kedalam paraffin karena alkohol dan paraffin tidak memiliki kemampuan untuk berikatan satu sama lain. Di samping itu, pembeningan juga penting untuk mengeluarkan alcohol dari jaringan, sehingga tidak rentan terhadap kerusakan. Proses pembeningan yang efektif akan menghasilkan jaringan yang terlihat transparan (Iswara dan Wahyuni, 2017).

5. Infiltrasi

Infiltrasi adalah suatu tahapan setelah pembeningan dengan tujuan untuk memasukkan materi/filtrat kedalam jaringan sehingga jaringan tersebut dapat mengeras akibat filtrat tersebut (Khristian dan Dewi, 2019)

6. Penanaman jaringan

Penanaman jaringan (*embedding*) adalah proses memasukan atau penanaman jaringan kedalam cetakan yang berisi parafin sehingga memudahkan proses pemotongan dengan bantuan mikrotom (Prahanarendra, 2015).

7. Pembuatan blok (*blocking*)

Pembuatan blok merupakan tahap akhir dari proses penanaman jaringan. Dalam langkah ini, diperlukan parafin yang biasanya dalam bentuk padat dan dicairkan serupa dengan metode penanaman, serta sebuah cetakan untuk mencetak blok jaringan tersebut (Sumanto, 2014).

8. Pemotongan jaringan

Pemotongan (*sectioning*) merupakan proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom. Tujuan dari langkah ini adalah untuk mendapatkan lapisan yang tipis, datar, dan tidak terlipat atau terputus ketika diletakan di atas benda kaca agar strukturnya dapat terlihat (Prahanarendra, 2015)

9. Pewarnaan hematoksilin eosin

Pewarnaan HE berlandaskan pada prinsip yang simpel, yaitu karakter asam dan basa dari larutan yang kemudian akan terikat dengan elemen jaringan yang cenderung pada sifat asam atau basa tersebut, sehingga terjadi suatu keterikatan antara molekul pewarna dengan elemen jaringan (Khristian dan Dewi, 2019), Langkah-langkah pewarnaan HE sebagai

berikut:

1. Deparafinisasi

Deparafinisasi adalah metode yang diterapkan untuk mengeluarkan parafin dari jaringan adalah dengan memanfaatkan xilol sebelum melaksanakan pengecatan menggunakan hematoksin eosin (Khristian dan Dewi, 2017).

2. Rehidrasi

Rehidrasi merupakan langkah di mana alcohol ditambahkan dengan cara mengurangi tingkat konsentrasi dan yang paling tinggi hingga yang terendah (Khristian dan Dewi, 2017).

3. Pewarnaan hematoksin

Hematoksin merupakan zat pewarna yang member warna biru pada inti sel serta komponen asam lainnya (Khristian dan Dewi, 2017).

4. Bluing

Bluing merupakan salah satu langkah dalam prosedur pewarnaan dengan hematoksin eosin. Untuk mengubah warna inti dari ungu ke biru, dibutuhkan agen bluing yang bersifat alkalin dengan pH ideal berkisar antara 7,5 hingga 9,0 (Khristian dan Dewi, 2019).

5. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan proses yang bertujuan untuk menghapus seluruh cairan dan bahan pengikat dari elemen jaringan (Khristian dan Dewi, 2019).

6. Pewarnaan eosin

Eosin merupakan warna buatan yang termasuk dalam kategori xanthenes. Sebagai pewarna asam, eosin terikat dengan molekul protein bermuatan positif yang terdapat dalam sitoplasma dan jaringan ikat. Eosin memiliki peran dalam memberikan warna pada sitoplasma serta jaringan ikat (Khristian dan Dewi, 2019).

7. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan langkah yang dilakukan untuk menghilangkan kelembapan yang terdapat dalam jaringan (Khristian dan Dewi, 2019).

8. Penjernihan

Penjernihan merupakan kegiatan yang dirancang untuk menyingkirkan alcohol dari jaringan dan mengubahnya dengan cairan yang sejalan dengan paraffin (Khristian dan Dewi, 2019)

9. Mounting

Mounting adalah tahapan akhir dari pewarnaan dimana preparat ditutup dengan kaca penutup dan diberi perekat serta bahan pengawet yang disebut entelan. Proses ini bertujuan untuk mencegah terbentuknya gelembung dan menjaga kualitas preparat (Nurnajmina, 2016).

C. Deparafinisasi

Deparafinisasi adalah proses untuk menghilangkan parafin dari jaringan menggunakan xylol, agar warna dapat terserap secara optimal dalam proses

pewarnaan . Xylol berfungsi sebagai agen deparafinisasi yang efektif karena mudah larut dalam alkohol dan membuat jaringan menjadi transparan (Sumanto, 2014). Pewarnaan Hematoksin Eosin ditambahkan selama deparafinisasi karena merupakan salah satu metode utama dalam histologi. Prinsip pewarnaan HE melibatkan pengikatan kromatin dalam inti dengan pewarna asam (Hematoksin), sementara protein sitoplasma mengikat pewarna asam (Eosin), menghasilkan sel berwarna merah muda dengan inti berwarna biru keunguan (Iswara dan Wahyuni, 2017).

D. Jeruk Nipis

Jeruk nipis termasuk salah satu genus citrus dari merupakan spesies *Citrus* jenis tanaman *aurantifolia* perdu yang memiliki tinggi sekitar 150-350 cm. Tanaman jeruk biasanya lebih menyukai lokasi yang mendapatkan paparan sinar matahari secara langsung. Jeruk nipis memiliki bentuk bulat atau oval dengan diameter sekitar 3-5 cm, kulitnya tipis berwarna hijau saat muda dan berwarna kuning saat sudah matang, daun berbentuk oval atau elips, batang berkayu dan disertai duri, dan bunga yang tumbuh di pucuk-pucuk ranting (Liana, 2017).

Buah ini terkenal dengan rasa asam yang kuat, karena mengandung asam sitrat yang tinggi. Jeruk nipis memiliki minyak esensial yang terdiri dari senyawa siral, limonene, feladren, dan glikosida. Buah jeruk juga mengandung zat bioflavonoid, pectin, enzim, protein, lemak dan pigmen (karoten dan klorofil). Sari buah jeruk nipis memiliki kandungan asam sitrat antara 7- 7,6% serta mengandung minyak esensial limonene (Lauma, 2015).

Klasifikasi tanaman jeruk nipis adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Rutales

Famili : Rutaceae

Genus : Citrus

Spesies : Citrus aurantifolia Swingle

(Liana, 2017)

E. Jaringan Uterus

Jenis Jaringan yang dipakai adalah jaringan uterus. Uterus adalah organ yang memiliki ketebalan, berotot, dan berbentuk seperti pir yang terletak di dalam rongga panggul. Otot yang membentuk rahim disebut miometrium, sedangkan lapisan selaput lendir yang menutupi bagian dalam disebut endometrium. Rahim terdiri dari tiga bagian, yaitu bagian fundus, tubus rahim, dan zona yang menghubungkan tubuh rahim dengan serviks (Ekowati, 2018).

Uterus merupakan tempat implantasi ovum yang telah terfertilisasi, perkembangan janin dan melahirkan. Letak uterus adalah anteverted dan anteflexed. Bentuk uterus menyerupai flattened pear dengan panjang 7,5 cm, lebar 5 cm dan tebal 2,5 cm. Secara histologi uterus terdiri atas 3 bagian lapisan dari luar kedalam yaitu perimetrium terdiri dari serosa dan adventisia,

miometrium merupakan otot polos dan endometrium yang dibagi lagi menjadi dua lapisan stratum fungsional bagian superfisial dan statum basalis yang melekat di miometrium (Utami dan Sahara, 2015).

F. Hipotesis

Terdapat fungsi yang sama antara air perasan jeruk nipis dengan xylol dalam menghilangkan paraffin sehingga air perasan jeruk nipis dapat digunakan untuk menggantikan xylol dalam proses deparafinisasi pada pewarnaan hematoksilin eosin