

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Histopatologi**

Istilah histopatologi berasal dari bahasa Yunani, dimana *histo* berarti “jaringan”, *pathos* berarti “penyakit”, dan *logia* berarti “studi”. Pemeriksaan histopatologi merupakan salah satu pemeriksaan rutin sebagai gold standard dalam menegakkan diagnosis, melalui analisi terhadap setiap jaringan yang dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi (Musyarifah & Agus, 2018). Proses pengolahan jaringan yang dilakukan dengan baik pada pemeriksaan histopatologi akan menghasilkan kualitas sediaan yang memuaskan sehingga dapat menunjukkan gambaran tentang susunan sel, bentuk, inti sel, susunan serat, struktur jaringan ikat, otot, dan hal lainnya seperti kondisi yang ada saat organ atau jaringan waktu hidup (Wulansari, 2022).

Pewarnaan jaringan bertujuan untuk mengamati struktur bagian – bagian jaringan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan memberi kontras melalui warna. Komponen jaringan yang terwarnai oleh pewarna basa disebut basofilik dan yang terwarnai oleh pewarna asam disebut asidofilik. Pewarnaan jaringan dilakukan untuk memberikan warna pada jaringan yang awalnya transparan setelah jaringan melalui proses pematangan dapat diamati struktur dan morfologi jaringan, termasuk pada susunan sel, bentuk, dan ukuran sel, serta memungkinkan penentuan keberadaan dan prevalensi sel-sel tertentu (Nurrahman dkk., 2020).

## **B. Teknik Pembuatan Sediaan Jaringan Histopatologi**

### 1. Fiksasi (*fixation*)

Fiksasi adalah tahap awal yang sangat penting dalam pembuatan sediaan jaringan histopatologi. Tahap ini dilakukan untuk mencegah atau menahan proses degeneratif yang dimulai segera setelah jaringan kehilangan pasokan darah (Musyarifah & Agus, 2018).

### 2. Processing Jaringan

#### a. Dehidrasi (*dehydration*)

Dehidrasi adalah suatu tahapan setelah fiksasi yang bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang ada pada jaringan dengan menggunakan rangkaian alkohol bertingkat dalam waktu tertentu (Maulani dkk., 2018).

#### b. Pembeningan (*clearing*)

Pembeningan (*clearing*) merupakan salah satu tahapan penting yang dilakukan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan setelah proses dehidrasi dan menggantikannya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin (Wulandari dkk., 2022).

#### c. Infiltrasi

Infiltrasi adalah tahap selanjutnya setelah pembeningan pada proses ini filtrat dimasukan ke dalam jaringan sehingga dapat mengeras. Reagen infiltrasi yang digunakan yaitu parafin cair tujuannya untuk mempertahankan sel dan 8 komponen jaringan selama proses pemotongan (Bali, 2024).

### 3. Penanaman jaringan (*embedding/ blocking*)

Setelah jaringan melalui tahap infiltrasi menggunakan parafin cair, yang berfungsi sebagai proses pematangan jaringan, maka dilanjutkan dengan penanaman jaringan pada cetakan dasar (*base mold*). Tahap ini dilakukan dengan menuangkan parafin cair ke dalam cetakan yang berisi jaringan dan didinginkan dengan menggunakan kaset (Apriani dkk., 2023). Proses blocking dilakukan dengan menempatkan bagian bawah cetakan pada pelat dingin dan ditempatkan kaset di atas cetakan yang diisi penuh dengan lilin. Blok jaringan terakhir ini ditempatkan di atas piring dingin untuk memungkinkan lilin parafin mengeras (Wulansari, 2022).

### 4. Pemotongan jaringan (*sectioning*)

Sectioning adalah proses pemotongan blok parafin yang sudah disiapkan menjadi irisan tipis menggunakan mikrotom lalu diletakkan pada kaca objek untuk diamati di bawah mikroskop (Apriani dkk., 2023).

### 5. Pewarnaan (*staining*)

Pewarnaan jaringan memiliki peran penting dalam memberikan warna pada komponen jaringan yang transparan melalui tahap pematangan jaringan. Pewarnaan yang biasanya rutin digunakan dalam pemeriksaan histopatologi adalah pewarnaan Hematoksilin Eosin (Bali, 2024).

### 6. Perekatan (*mounting*)

Mounting merupakan tahap akhir dari pembuatan sediaan jaringan pada proses ini dilakukan penutupan sediaan dengan deck glass yang diberi perekat sekaligus bahan pengawet yang disebut entelan (Labai, 2023).

### **C. Pewarnaan Hematoksilin Eosin**

Pewarnaan Hematoksilin Eosin merupakan salah satu teknik pewarnaan histologis yang biasanya rutin digunakan karena mudah diotomatisasi dan mampu membedakan struktur jaringan dengan jelas. Pewarnaan ini memanfaatkan prinsip dasar sifat asam dan basa dari larutan, yang akan berikatan dengan komponen jaringan yang memiliki afinitas terhadap sifat asam-basa tersebut (Bali, 2024).

Hematoksilin adalah pewarna yang bersifat basa dan memiliki kemampuan secara selektif mewarnai komponen sel yang bersifat asam. Komponen paling asam di dalam sel adalah asam deoksiribonukleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA). Akibatnya, inti dan lingkungan sitoplasma yang banyak mengandung ribosom akan tampak berwarna biru tua, sehingga disebut basofilik (Wulansari, 2022). Eosin merupakan pewarna yang bersifat asam untuk mewarnai komponen sel yang bersifat basa, khususnya sitoplasma. Pewarna ini akan menghasilkan warna merah pada sitoplasma untuk membantu mengidentifikasi struktur jaringan (Jumardi dkk., 2023).

Ada beberapa tahapan pewarnaan Hematoksilin Eosin yaitu :

#### **1. Deparafinisasi**

Tahap awal yang dilalui pada proses pewarnaan adalah deparafinisasi. Deparafinisasi adalah tahap penting dalam pewarnaan jaringan yang bertujuan untuk menghilangkan lilin parafin dari sediaan dan kaca objek agar penyerapan warna dapat maksimal (Apriani dkk., 2023).

## 2. Rehidrasi

Rehidrasi adalah proses memasukkan alkohol pada jaringan cara menurunkan konsentrasinya secara bertahap dari yang tertinggi ke terendah yaitu alkohol 100%, alkohol 95% dan alkohol 70% (Bali, 2024).

## 3. Pewarnaan Hematoksilin

Hematoksilin adalah pewarna alami yang mampu mengikat inti sel sehingga akan memberikan warna menjadi biru melalui ikatan yang lemah (Jumardi dkk., 2023).

## 4. Bluing

Bluing adalah tahapan yang mengubah warna inti dari ungu menjadi biru. Proses ini menggunakan agen yang bersifat basa dengan rentang pH 7,5 - 9,0 (Bali, 2024).

## 5. Dehidrasi

Tahap dehidrasi adalah salah satu proses dalam pewarnaan HE, dimana metode ini digunakan untuk menghilangkan seluruh cairan dan zat fiksatif dari komponen jaringan (Wulansari, 2022).

## 6. Pewarnaan Eosin

Tahap pewarnaan eosin adalah proses setelah tahap dehidrasi, pewarna ini memiliki sifat asam yang dapat mewarnai sitoplasma, sehingga menghasilkan warna merah muda (Apriani dkk., 2023).

## 7. Dehidrasi

Dehidrasi adalah tahap yang menghilangkan kandungan air yang terdapat di dalam jaringan. Reagen dehidrasi bersifat hidrofilik (suka air), memiliki kutub yang kuat berinteraksi dengan molekul air dengan cara mengikat hidrogen (Bali, 2024).

## 8. Penjernihan

Penjernihan adalah proses setelah tahap dehidrasi, yang bertujuan menghilangkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan larutan yang berikatan dengan parafin (Wulandari dkk., 2022).

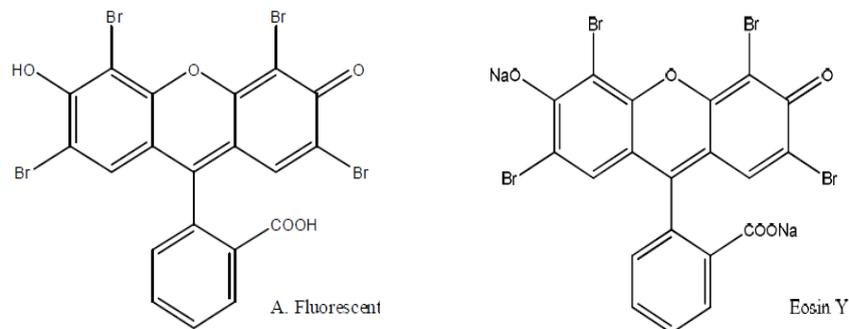
## 9. Mounting

Tahap mounting adalah proses akhir dari tahap pewarnaan HE. Mounting merupakan tahapan penutupan preparat dengan *deck glass* dan diberi pereaksi sekaligus bahan pengawet preparat yang disebut entelan (Bali, 2024).

## **D. EOSIN**

Eosin merupakan pewarna sintetis yang masuk dalam golongan xanthene yang mengikat garam dengan senyawa eosinofilik yang mengandung muatan positif. Pewarnaan eosin cocok digabungkan dengan hematoksin untuk menunjukkan gambaran histologis secara umum. Pewarna ini memiliki kemampuan, untuk membedakan antara sitoplasma dengan berbagai jenis sel, serat dan matriks jaringan ikat, dengan cara menodai corak merah atau merah jambu yang berbeda (Wulansari, 2022). Pewarna eosin juga dapat menimbulkan efek negatif bagi kesehatan tubuh yang dapat terjadi bila

digunakan secara terus menerus, karena pewarna ini bersifat karsinogenik (Wulandari dkk., 2022).



**Gambar 1. Struktur senyawa eosin (a) Fluorescein (b) Eosin Y (Rahman, 2017).**

Penelitian yang dilakukan Mizan dkk., (2021) membuktikan bahwa eosin mengandung fluorescein yang memberikan warna pink pada sitoplasma sehingga kandungan antosianin dalam beberapa tumbuhan memiliki sifat ataupun kegunaan yang sama dengan kandungan fluorescein dalam eosin. Hal ini disebabkan karena ada banyaknya daerah yang basa dalam sitoplasma. Pada daerah tertentu sitoplasmanya berwarna merah muda dan komponen yang terwarnai disebut unsur asidofilik. Eosin mengandung senyawa eosin Y (*bromo fluorescein acid*) yang biasanya digunakan dalam pewarnaan Hematoksilin Eosin karena dapat mewarnai sitoplasma dan jaringan ikat menjadi bernuansa merah dan oranye (Apriani dkk., 2023).

## E. Daun Jati

Tanaman Jati (*Tectona grandis*) adalah sejenis tanaman dengan pohon yang tingginya mencapai 15-20m yang banyak dijumpai di beberapa negara termasuk Indonesia. Daun jati merupakan salah satu sumber pigmen antosianin yang dapat memberikan warna merah. Antosianin termasuk dalam senyawa flavonoid yang bersifat polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut bersifat polar pula seperti etanol, air dan etil asetat. Oleh karena itu, kuncup daun jati dapat dijadikan sebagai alternatif pewarna alami dan antioksidan (Surianti dkk., 2019).



**Gambar 2. Kuncup daun jati**

Tanaman jati merupakan pohon besar dengan batang yang bulat lurus, daun yang lebar serta memiliki bunga dan buah (Bali, 2024). Bagian kuncup daun jati memiliki bentuk yang bulat dengan ujung meruncing dan menempel pada batang secara berpasangan. Struktur pertulangan daunnya menyirip. Bagian permukaan atas daun jati halus, sedangkan bagian belakang daun jati terasa kasar dan bergerigi. Pada musim kemarau, pohon jati akan menggugurkan daunnya atau bersifat meranggas bertujuan untuk beradaptasi pada kondisi cuaca yang kering dan air hujan yang berkurang. Daun jati

memiliki keunikan apabila diremas maka akan menghasilkan warna merah (Surianti dkk., 2019).

Klasifikasi tanaman jati mempunyai penggolongan sebagai berikut:

Divisi : *Spermatophyta*

Kelas : *Anigospermae*

Sub-kelas : *Dicotyledonase*

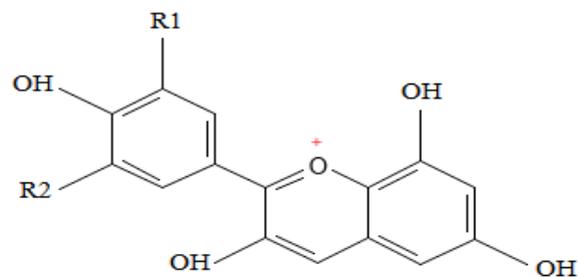
Ordo : *Verbenaceae*

Famili : *Verbenaceae*

Genus : *Tectona*

Spesies : *Tectona grandis Linn. f.*

Pemanfaatan kandungan senyawa antosianin pada daun jati akan menghasilkan pewarna alami yang aman bagi kesehatan maupun lingkungan.



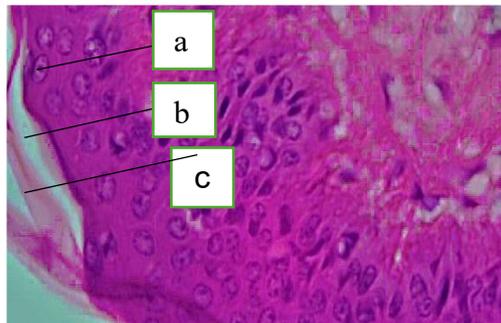
**Gambar 3. Struktur senyawa antosianin**(Ifadah dkk., 2022)

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa kuncup daun jati memiliki kandungan beberapa turunan antosianin yaitu Pelargonidin 3-Glukosida, Pelargonidin 3,7-Diglukosida (Surianti dkk., 2019). Pada ekstrak dari daun jati mengandung metabolit sekunder dengan potensi untuk dijadikan bahan aktif antiseptik seperti *alkaloid*, *tanin*, *atrakuinon*, *naphthoquinone*,

*antosianin* dan sianidin yang memiliki berbagai aktivitas seperti antibakteri, antitoksik dan aktivitas antioksidan (Salsabila & Izzaty., 2021).

#### **F. Jaringan Kanker Payudara (*Carcinoma mammae*)**

Kanker payudara (*Ca mammae*) adalah suatu istilah yang menggambarkan terjadinya pertumbuhan berlebihan atau perkembangan tidak terkontrol (proliferasi) dari sel-sel yang sifatnya ganas di payudara. Pertumbuhan yang abnormal ini berasal dari epitel duktus maupun lobulus payudara yang pertumbuhannya tidak dapat dikendalikan (Sebayang dkk., 2023).



**Gambar 4. Mikroskopis Jaringan *Mammae*** (Wulansari, 2022)  
(a) inti sel, (b) latar belakang, (c) sitoplasma.

Pada gambar diatas dapat dilihat dengan jelas hasil kualitas pewarnaan Hematoksilin Eosin yang diamati secara mikroskopis jaringan kelenjar *mammae* dengan perbesaran 100X (Wulansari, 2022). Pewarna hematoksilin bersifat basa, memberikan warna biru (basofilik) pada inti sel dan struktur lainnya. Eosin merupakan pewarna asam yang terikat dengan sitoplasma sel. Ketika eosin terikat, sitoplasma sel dan jaringan ikat berubah menjadi merah muda (Apriani dkk., 2023). Pewarna ini juga akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris, dan kolagen (Wulandari dkk., 2022).

