

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deparafinisasi

Deparafinisasi adalah suatu tahap pada proses pewarnaan (*Staining*) dengan menggunakan xylol untuk membersihkan paraffin dari jaringan dan kaca objek. Tujuan dari tahap ini untuk membersihkan jaringan pada kaca objek dari paraffin (Sari et al. 2016). Reagen yang dipakai adalah xylol, toluen, benzol atau kloroform. Waktu penjernihan harus diatur dengan tepat agar jaringan tidak terlalu keras, misalnya pada penggunaan xylol yang terlalu lama. Kloroform merupakan bahan penjernih pilihan yang dipakai pada beberapa laboratorium tertentu, karena tidak menimbulkan masalah dalam parafinisasi, tidak membuat jaringan terlalu keras, namun jaringan yang terendam di dalamnya tidak dapat menjadi transparan (Miranti, 2010).

Xylol digunakan pada proses *clearing* sebagai perantara antara larutan dehidrasi dan infiltrasi. Larutan yang paling jelas adalah hidrokarbon dengan indeks yang mirip dengan protein. Ketika agen dehidrasi telah sepenuhnya digantikan oleh sebagian besar pelarut ini, maka jaringan akan memiliki tampilan tembus pandang. Xylol merupakan cairan yang mudah terbakar dan tidak berwarna dengan karakter minyak bumi dan bau aromatik, yang tercampur dengan pelarut organik dan lilin parafin (Suvarna et al. 2012).

Paparan xylol di laboratorium terjadi selama pemrosesan jaringan deparafinisasi bagian jaringan dan pengolahan jaringan bersih. Dalam upaya untuk menghilangkan penggunaan xylol dari laboratorium, banyak bahan kimia

pengganti deparafinisasi seperti reagen limonene, hidrokarbon alifatik, hidrokarbon aromatik, minyak nabati, minyak zaitun dan pengganti minyak mineral telah digunakan (Ankle et al. 2011).

Histoteknik adalah proses dalam pembuatan sajian histologi dari spesimen tertentu melalui rangkaian proses tertentu hingga menjadi preparat yang bisa diamati dan dianalisis menggunakan mikroskop, serta mengetahui struktur sel dan bentuk jaringan (Prahanarendra, 2015).

2.2 Jeruk Nipis

Jeruk nipis memiliki beberapa nama yang berbeda di Indonesia, antara lain jeruk nipis (Sunda), jeruk pecel (Jawa), jeruk dhurga (Madura), lemo (Bali), mudutelong (Flores) dan lain sebagainya. Jeruk nipis merupakan tumbuhan obat dari *family Rutaceae*. Dalam pengobatan tradisional digunakan antara lain sebagai peluruh dahak dan obat batuk (Khanifah, 2015).

Jeruk nipis termasuk salah satu genus citrus dari spesies *Citrus aurantifolia* merupakan jenis tanaman perdu yang banyak memiliki dahan dan ranting. Tingginya sekitar 0,5-3,5 meter. Batang pohonnya berkayu ulet, berduri dan keras, sedangkan permukaan kulit luarnya berwarna tua dan kusam. Daunnya majemuk, berbentuk elips dengan pangkal membulat. Bunganya berukuran majemuk atau tunggal yang tumbuh di ketiak daun atau di ujung batang dengan diameter 1,5-2,5 cm. Buahnya berbentuk bulat sebesar bola pingpong dengan diameter 3,5-5 cm, berwarna (kulit luar) hijau atau kekuning-kuningan. Buah jeruk nipis yang sudah tua rasanya asam. Tanaman jeruk umumnya menyukai tempat-tempat yang dapat memperoleh sinar matahari langsung (Khanifah, 2015).

Secara taksonomi, tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut (Khanifah, 2015) :

Kingdom : Plantae
 Divisio : Spermatophyta
 Subdivisio : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledone
 Bangsa : Rutales
 Famili : Rutaceae
 Genus : Citrus
 Species : *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle

2.3 Kandungan Kimia dan Manfaat Jeruk Nipis

Jeruk nipis mengandung minyak atsiri didalamnya terdapat beberapa jenis komponen antara lain asam sitrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin (A, B dan C), sinerfin, H-methyltyramine, flavonoid, ponsirin, herperidine, rhoifolin, dan naringin. Terdapat juga minyak atsiri limonene dan linalool (Arkie et al. 2013).

Tabel 2. Kandungan Asam Sitrat Pada Jeruk Nipis

Produk	Tipe Produk	n	Total Asam Sitrat	
			Mean	SD
Jus lemon	Buah segar	2	48.0	3.82
Jus jeruk nipis	Buah segar	2	45.8	6.86
Jus lemon	Jus	1	39.2	
Jus jeruk nipis	Jus	1	34.1	

Sumber : J. Endourol, 2008

Manfaat jeruk nipis dapat mengobati berbagai penyakit seperti batuk, peluruh dahak, peluruh keringat, membantu proses pencernaan, sesak nafas, influenza, demam, menambah stamina dan batu ginjal. Selain itu jeruk nipis juga dapat membantu melangsingkan badan, membersihkan ketombe dan peluruh kencing (Khoirunnisa, 2014).

Komponen utama dalam jeruk nipis yang memiliki peran utama sebagai bahan pengganti xylol pada proses deparafinisasi adalah minyak atsiri didalamnya terdapat asam sitrat yang dapat melarutkan lemak (Saputri et al.2015). Asam sitrat

merupakan asam organik yang larut dalam air dengan cita rasa yang sangat asam serta banyak digunakan dalam industri pangan. Asam sitrat dapat menginaktivkan beberapa enzim dan mengikat elemen dalam larutan mikroelemen. Asam jeruk nipis/ asam sitrat adalah pelarut hidrofilik (polar), mirip seperti air dan etanol. Asam sitrat memiliki konstanta dielektrik yang sedang yaitu 6.2, sehingga dapat melarutkan baik senyawa polar seperti garam anorganik dan gula maupun senyawa non polar seperti minyak dan unsur-unsur seperti sulfur dan iodin (termasuk Timbal (Pb) di dalamnya). Rumus kimia asam sitrat adalah $C_6H_8O_7$ atau $CH_2(COOH)-COH(COOH)-CH_2(COOH)$, struktur asam ini tercermin pada nama IUPAC-nya, asam 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat (Zuhro, 2015)

2.4 Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat diamati menggunakan mikroskop. Pewarna yang sering digunakan secara rutin adalah pewarna yang dapat memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pewarna Hematoksilin-Eosin (HE) (Jusuf, 2009).

Hematoksilin merupakan zat warna alami yang pertama kali dipakai tahun 1863. Hematoksilin akan mengikat inti sel secara lemah, kecuali bila ditambahkan senyawaan lainnya seperti alumunium, besi, krom dan tembaga. Jenis hematoksilin yang sering dipakai adalah mayer, delafied, Erlich, Bullard dan Bohmer, sedangkan *counter staining* yang dipakai adalah eosin, safranin, dan phloxine. Hematoksilin dan Eosin adalah metode pewarnaan yang banyak

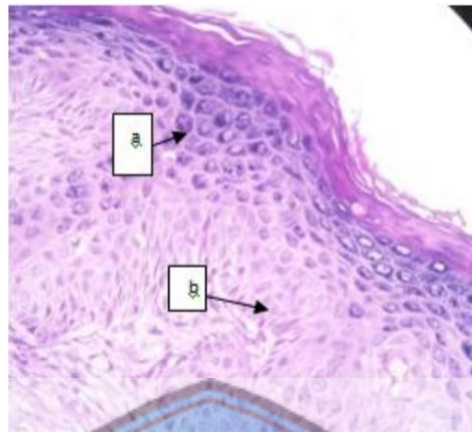
digunakan dalam pewarnaan jaringan sehingga diperlukan dalam diagnosa medis dan penelitian (Setiawan, 2016).

Hematoksilin sering digunakan pada pewarnaan histoteknik yang merupakan ekstrak dari kayu ulin (*logwood*) pohon *Hematoxylon Campechianum* yang berasal dari negara bagian Meksiko di Campeche, tapi sekarang dibudidayakan di Hindia Barat. Hematoksilin diekstrak dari kayu bulat menggunakan air panas kemudian diendapkan dari larutan berair menggunakan urea. Oksidasi produk utamanya adalah hematein yang merupakan pewarna alami bertanggung jawab atas sifat warna (Suvana et al. 2012).

Hematoksilin bekerja sebagai pewarna basa, artinya zat ini mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoksilin memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel (seperti bagian sitoplasma yang kaya-RNA dan matriks tulang rawan) menjadi biru. Eosin bersifat asam sehingga akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris dan kolagen. Eosin mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah muda. Oleh karena itu prinsip dari pewarnaan adalah terjadinya afinitas antara jaringan dengan bahan pewarna, baik secara langsung, yaitu bahan cat dengan jaringan dapat berikatan secara langsung, atau secara tidak langsung, yaitu bahan cat dengan jaringan tidak dapat berikatan secara langsung, kecuali diberi bahan perantara yang biasa disebut sebagai mordant (Setiawan, 2016).

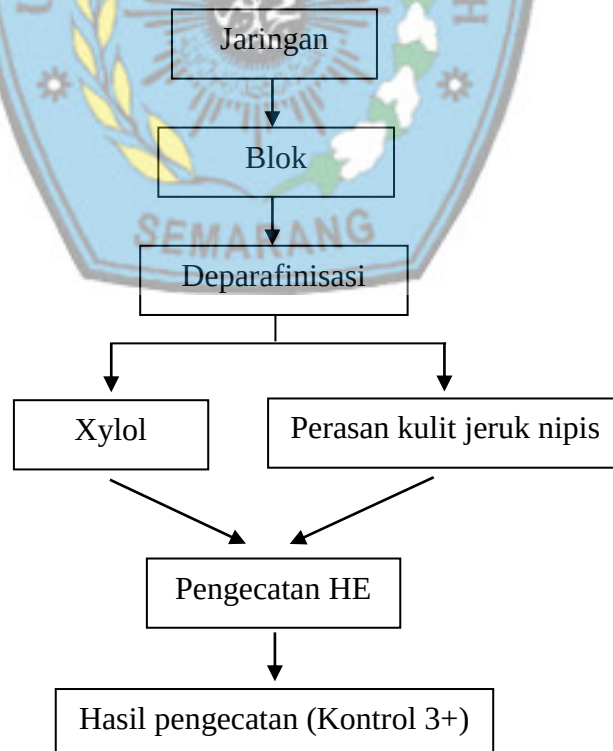
Hasil pembacaan atau standar pengecatan hematoksilin-Eosin (HE) yang baik (3+) menunjukkan warna biru terang pada inti sel, warna merah (eosin) pada

sitoplasma dan jaringan ikat serta warna pada preparat seragam (Ariyadi et al. 2017).



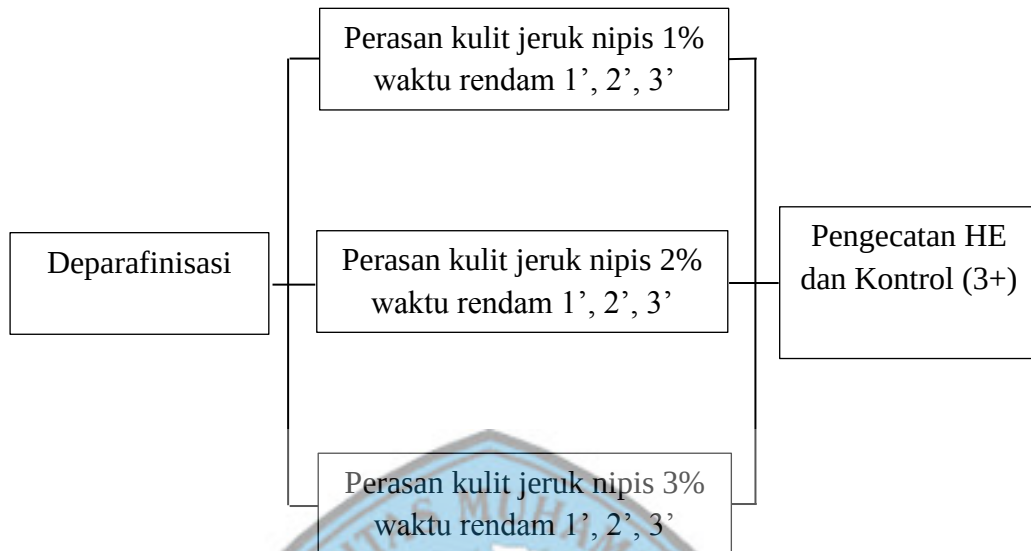
Gambar 1. Hasil pengecatan HE (3+) (a). warna biru terang jelas pada inti sel (b).warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan jaringan ikat(Ariyadi et al. 2017).

2.5 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka teori penelitian

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka konsep penelitian