

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 MUKOSA MULUT

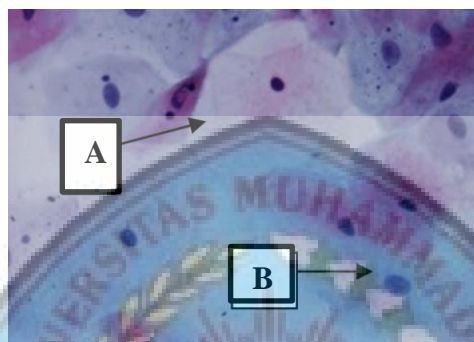
Mukosa rongga mulut adalah jaringan yang melapisi rongga mulut, terdiri dari dua bagian yaitu epitel dan lamina propia. Lamina propia mengandung serabut kolagen, serabut elastik, retikulin, dan jaringan penghubung. Lapisan di bawah lamina propia adalah lapisan submukosa, yang merupakan jaringan ikat kendur yang mengandung lemak, pembuluh darah, limfe, dan saraf (Walter, 1986).

Epitel rongga mulut tersusun dari sel squamos bertingkat, mirip dengan epitel squamous bertingkat yang ditemukan di bagian tubuh lain, yaitu memiliki aktivitas *turn over* yang dimulai dari sel basalis. *Turn over* atau indeks maturasi adalah perbandingan antara sel basal-parabasal, sel intermediet, dan sel superfisial. Sel basalis yang matur akan berdiferensiasi menjadi sel intermediet, kemudian akan berdiferensiasi lagi menjadi sel superfisial. Sel superfisial adalah lapisan terluar dari epitel dan yang paling mudah terlepas dari permukaan. Ketebalan mukosa bukal mencapai 40-50 lapisan sel, yaitu sekitar 500-800 μm (Roland, 2001).

Mukosa mulut menurut letak dan strukturnya terbagi menjadi *lining mucosa*, *masticatory mucosa*, dan *specialized mucosa*. *Lining mucosa* yang terdapat di bukal, labial bagian dalam, *muccobucal fold*, ventral lidah dan bawah lidah, serta *palatum molle* tersusun atas epitel skuamosa berlapis atau epitel gepeng berlapis tanpa keratin. *Masticatory mucosa* yang berperan pada proses pengunyahan, ditemukan di gingiva, palatum durum, dan linggir alveolar. *Masticatory mucosa* disusun dari epitel skuamosa berlapis berkeratin dengan keratin yang umumnya mengalami piknosis. Sedangkan *specialized mucosa* terutama terdapat di dorsal lidah, membentuk berbagai papila yang pada dasarnya tersusun atas epitel skuamosa berlapis berkeratin (Sabrini, 2015).

Struktur dan fungsi mukosa mulut bersifat transisi antara kulit dan mukosa traktus gastro-intestinalis. Mukosa mulut menyerupai mukosa intestin karena

secara konstan dibasahi oleh cairan (*mucus*) dan lapisan epitel memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi. Mukosa mulut juga menyerupai kulit karena memiliki lapisan epitel berlapis gepeng yang dibanyak regio mempunyai lapisan keratin. Strukturnya yang spesifik tersebut mukosa mulut mampu berperan sebagai pelindung jaringan lunak dibawahnya dari kekuatan fisik yang berpotensi merusak akan tetapi juga cukup lentur dan tahan untuk mengakomodasi proses pembentukan makanan menjadi bolus (Puspitawati, 2003).



Gambar 1. Sel Superfisial Hapusan Mukosa Bukal dengan pembesaran 400X dengan A (sel superfisial) dan B (sel intermediet). (Debriana, 2013)

2.2 PEMBUATAN PREPARAT

Pengambilan dilakukan dengan mengerok mukosa yang akan diambil sampelnya menggunakan Spatel kayu. Cara scraping dilakukan menggunakan spatel kayu dengan cara mengerok mukosa oral secara berulang-ulang dan dilakukan dalam satu arah. Objek glass yang sudah diapus harus segera dimasukkan ke larutan fiksasi dan tidak boleh dikeringkan untuk mencegah pembusukan spesimen, perubahan sel, dan kontaminasi. Bahan fiksasi untuk pewarnaan rutin yaitu alkohol 95%. Fiksasi juga berguna untuk mengkondisikan struktur sel agar dapat diwarnai. Fiksasi dilakukan minimal selama 20-30 menit. Perendaman di larutan yang dilakukan kurang dari 20 menit akan menyebabkan sampel mudah lepas dari objek glass. Preparat yang sudah difiksasi kemudian dikeluarkan dari alkohol dan dibilas dengan air bersih kemudian dilakukan

pewarnaan dengan metode Papanicolaou, ditutup dengan entelan dan deck glass, dan langsung dapat dilihat secara mikroskopis (Sabirin, 2015).



Gambar 2. Pengambilan sediaan, pembuatan apusan, Sediaan Sitologi (Indah, 2015)

2.3 PEWARNAAN PAPANICOLAOU

Pewarnaan papanicolaou atau Pap Stain adalah pewarnaan sitologi teknik multikromatik yang dikembangkan oleh George Papanicolaou sebagai bapak sitopatologi. Pap Stain digunakan untuk membedakan sel-sel dalam sediaan apus berbagai sekresi tubuh. Spesimen yang digunakan dalam pemeriksaan ini adalah dahak, urin, cairan serebrospinal, cairan pleura, cairan sinovial, cairan mani, aspirasi jarum halus, atau bahan lainnya yang mengandung sel. Pap Stain adalah teknik pewarnaan yang sangat handal, seluruh prosedur ini dikenal dengan Pap Smear. Pap Stain melibatkan lima pewarna dalam tiga larutan : Haematoxylin digunakan untuk menodai inti sel. Dapat juga haematein mungkin bertanggung jawab atas warna kuning diberikan kepada glikogen. Pertama pewarnaan OG-6 (-6 digunakan konsentrasi Fosfotungstik Acid, varian lainnya OG-5 dan OG-8). Orange-G digunakan pewarnaan keratin. Peran aslinya adalah untuk mewarnai sel-sel kecil skuamosa keratinisasi karsinoma sel. Kedua pewarnaan EA (Eosin Azure), terdiri dari tiga pewarna, angka menunjukkan proporsi dari pewarna, misal EA-36, EA-50, EA-65. Eosin Y menodai epitel superfisial sel skuamosa, nukleoli, silia, dan sel darah merah. Light Green SF pewarna kekuningan pada sitoplasma sel-sel lain, termasuk non keratin sel skuamosa. Bismarck Brown Y tidak mewarnai dan dalam formulasi kontemporer sering kali dihilangkan.

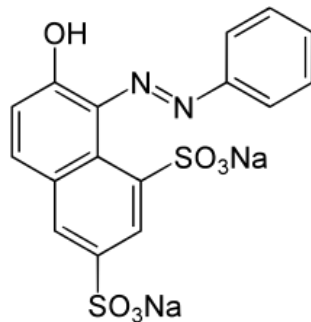
Proses pewarnaan dilakukan dengan benar, warna spesimen harus menampilkan rona dari seluruh spektrum: merah, oranye, kuning, hijau, biru, dan ungu. Pada spesimen yang disiapkan dengan baik, inti sel garing dari biru ke hitam. Sel dengan kandungan keratin yang tinggi berwarna kuning, glikogen berwarna kuning juga. Sel-sel dangkal oranye ke merah muda, menengah dan sel prabasal berwarna hijau pirus menjadi biru. Sel-sel metaplastik sering mewarnai keduanya hijau dan merah muda sekaligus (Kaur dkk, 2013).

Prosedur pengecatan preparat setelah dilakukan fiksasi yaitu proses direhidrasi dengan cara direndam dalam alkohol 90%, 80%, 70%, 50%, 30%, dan terakhir dalam aquadest, dilakukan selama 1 menit dalam tiap-tiap larutannya. Selanjutnya preparat direndam dalam larutan Harri's haematoxylin selama 5 menit kemudian dicuci dibawah air mengalir selama 10 menit. Preparat kemudian di dehidrasi kembali dengan cara direndam dalam alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 90% masing-masing larutan selama 1 menit. Preparat diletakan di atas alas datar, ditetesi zat warna Orange-G dibiarkan selama 3 menit, dan dibilas alkohol 95% sebanyak 3 kali. Preparat kemudian dipulas dengan zat warna EA-50 dibiarkan selama 6 menit, kemudian dibilas alkohol 96% sebanyak 3 kali. Preparat dimasukan kedalam alkohol absolut 3 kali berturut-turut dengan waktu masing-masing 3 menit kemudian dikeringkan dengan kertas saring. Kemudian preparat dimasukan kedalam larutan xylol I, II, III masing-masing selama 5 menit. Kemudian preparat diberi entelan dan ditutup dengan deck glass. Terahir amati dibawah mikroskop perbesaran 400x (Putri, 2017)

2.4 Orange-G

Orange-g adalah pewarna azo yang digunakan terutama sebagai pewarnaan histologis. Counterstain asam pertama (noda sitoplasma) yang mewarnai sel yang matang dan keratin. Struktur target adalah warna oranye dengan intensitas berbeda. Nama lain dari Orange G yaitu 1-Phenylazo-2-naphthol-6,8-disulfonic acid disodium salt. Orange G digunakan sebagai pewarnaan histologis. Berat

Molekul nya 452,37 g/mol, Formula Molekul : $C_{16} H_{10} N_2 Na_2 O_7 S_2$ (Biotechnology, 2015).



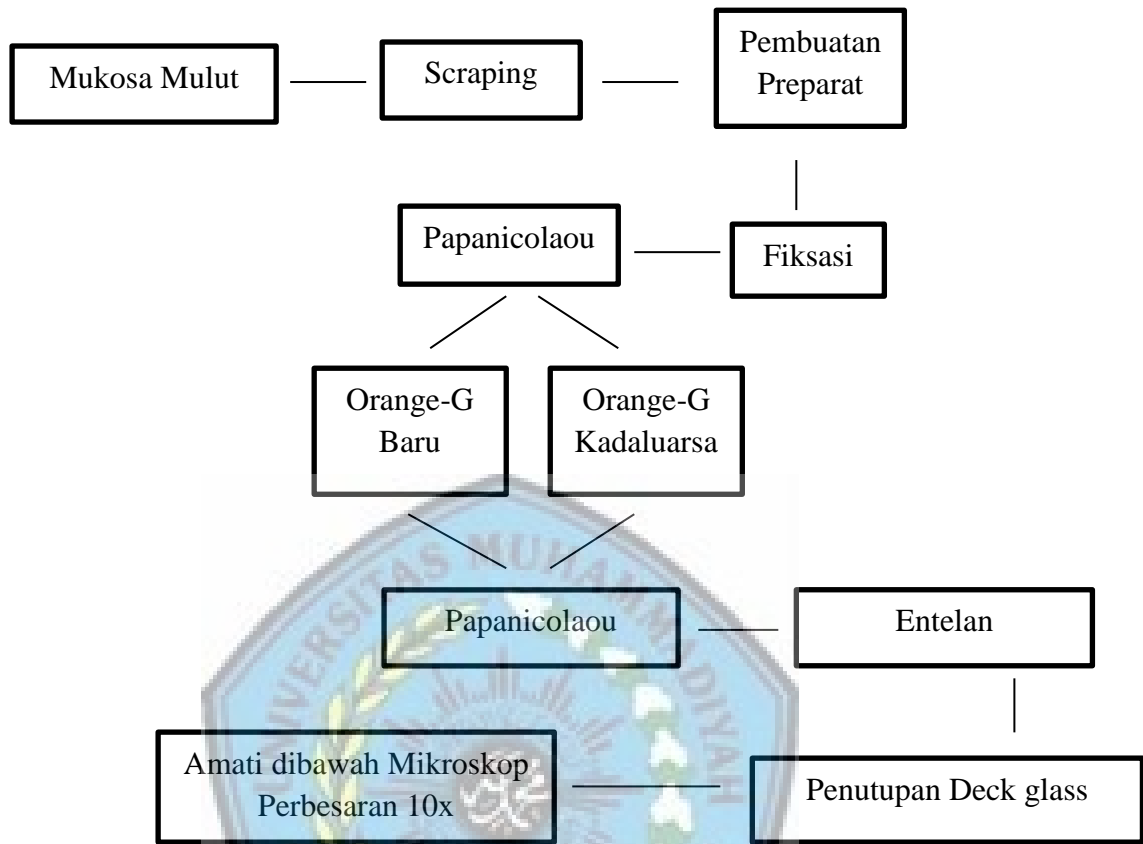
Gambar 3. Struktur Molekul Orange-G

OG-6 Pap reagen adalah larutan alkohol dari pewarna Orange G dengan menambahkan asam fosfotungstat (PTA). Molekul Orange G mewarnai sitoplasma, dan pada tahap selanjutnya dari prosedur ini, ia hanya tersisa di sel matang dan keratin yang menjadi warna oranye sampai merah muda. Sampel uji dapat berupa ginekologis dan non-ginekologis, seperti contoh dahak, urin, dan tusukan sitologis (Biognost, 2014).

2.5 REAGEN KADALUARSA

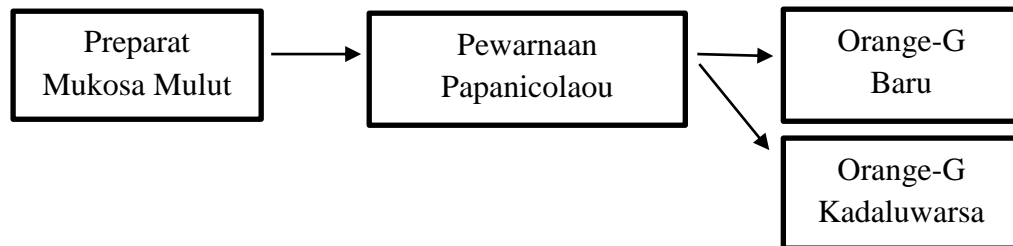
Masa kadaluarsa yang tertera dalam kemasan oleh pabrik akan mengambil alih semua aturan yang tertulis di *working instruction* ini. Masa kadaluarsa pelarut dan bahan kimia yang tidak tertera dalam kemasan diputuskan atas dasar kapan material tersebut diterima. Walaupun larutan yang diketahui memiliki kestabilan baik, tetap diberikan tanda waktu kadaluarsa, diluar itu tetap tidak boleh digunakan. Alasannya bahwa larutan/reagen umumnya sering digunakan dan kemungkinan penguapan pelarut atau kontaminasi meningkat setiap waktu (Kalinda, 2015). Penelitian ini reagen kadaluarsa yang dimaksud menggunakan reagen baru yang tanggal kadaluwarsanya sudah terlewat.

2.6 KERANGKA TEORI



Gambar 4. Kerangka Teori

2.7 KERANGKA KONSEP



Gambar 5. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Adanya perbedaan hasil pewarnaan Papanicolaou dengan menggunakan Orange-G baru dan Orange-G kadaluarsa pada sampel mukosa mulut.

