

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Histoteknik

Histoteknik merupakan rangkaian proses yang dimulai dengan pemotongan jaringan pada organ tertentu hingga diubah menjadi preparat yang siap diperiksa dengan mikroskop. Organ tertentu dapat berupa jaringan dari manusia maupun hewan. Teknik histologi ini merupakan salah satu teknik di laboratorium. Hasil dari pemeriksaan dari teknik ini adalah berupa sajian setelah dilakukan pewarnaan sesuai dengan yang dibutuhkan, salah satunya adalah dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) (Alwi, 2016).

Sajian histologi dapat digunakan untuk bahan ajar dan praktikum bagi mahasiswa untuk mempelajari bentuk dan struktur jaringan tubuh tertentu, sebagai riset untuk mempelajari perubahan jaringan dan organ hewan percobaan, dan untuk membantu menegakkan diagnosis suatu penyakit yang diderita oleh pasien. Tujuan tersebut dapat tercapai apabila sajian histologi yang dibuat dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, dan badan inklusi (glikogen, tetesan lemak, pigmen), susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan tubuh tersebut ketika dalam kondisi hidup (Jusuf, 2009).

Sajian yang baik dapat memberikan pemahaman tentang struktur histologi jaringan tubuh sesuai dengan kondisi yang sebenarnya pada waktu hidup. Sajian yang baik juga akan memberikan hasil yang akurat yang dibutuhkan oleh peneliti untuk menjawab permasalahan yang timbul. Selain itu, sajian yang baik dapat membantu klinisi untuk menunjang diagnosa medis dari penyakit yang diderita oleh pasien (Jusuf, 2009).

Rangkaian proses pembuatan sajian histologi terdiri dari fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembersihan (*clearing*), pembedaan (*impregnasi/emmbeding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*), pelabelan (*labelling*) (Jusuf, 2009). Langkah awal dalam isolasi jaringan tubuh yaitu

mempersiapkan alat yang terdiri dari peralatan bedah minor, peralatan anestesi dan obat anestesi, serta perangkat pengawet jaringan. Persiapan alat terdiri atas peralatan bedah minor yaitu gunting, pinset, skalpel, klem, pemegang jaringan, kassa, meja operasi, dan lampu. Peralatan anestesi terdiri dari *disposable syringe* dan masker anestesi. Obat anestesi misalnya eter, ketalar, *phenolbarbitol*, serta perangkat pengawet jaringan (fiksasi jaringan) yang terdiri dari wadah untuk fiksasi emersi, cairan fiksasi, formalin, alkohol, formol salin, muller, bouin, zenker, serta *peristaltik pump/ syringe* untuk fiksasi supervital (Sumanto, 2014).

Fiksasi merupakan dasar dari pembuatan sediaan histopatologi. Tujuan dari fiksasi sendiri adalah untuk mengawetkan jaringan agar mendekati ketika jaringan itu berada dalam tubuh, dan untuk mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak agar memudahkan dalam proses pengirisan jaringan.

Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga nantinya jaringan diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat preparat. Zat yang untuk digunakan dalam deparafinisasi antara lain alkohol, sukrosa 20%, dan metil alkohol atau spirtus.

Pembeningan adalah tahap ketiga dalam proses jaringan, pembeningan adalah suatu tahap mengeluarkan alkohol dalam jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Jaringan tidak dapat langsung dimasukkan ke parafin karena alkohol dan parafin tidak dapat saling melarutkan. Maka dari itu perlu dilakukan pembeningan, larutan yang dapat untuk membeningkannya antara lain chloroform, benzol, xylol, cedar wood oil, benzil benzoat, dan methyl benzoat.

Pembenaman adalah proses untuk mengeluarkan cairan pembening dalam jaringan dan diganti dengan parafin. Parafin mempunyai keuntungan titik lebur yang rendah dan jaringan tidak mudah rapuh. Parafin yang titik lebur rendah biasanya dipakai untuk jaringan embrional.

Pengecoran adalah proses pembuatan blok preparat agar mudah dipotong dengan alat mikrotom. Caranya menggunakan cetakan yang terbuat dari

logam kemudian cairan parafin dituang sedikit demi sedikit, setelah itu dimasukkan jaringan secepatnya menggunakan pinset panas dan diatur posisinya dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituang lagi hingga menutupi cetakan tersebut. Selama proses pengecoran, pada saat penuangan cairan parafin ke cetakan harus diatas piringan yang panas.

Pemotongan adalah proses selanjutnya, yaitu dengan cara pemotongan dengan alat mikrotom. Pemotongan jaringan harus setipis mungkin agar didapatkan hasil yang maksimal ketika pengamatan dengan mikroskop. Pemotongan dialat mikrotom menggunakan pisau yang terdapat pada mikrotom itu sendiri.

Pewarnaan rutin yang biasa digunakan dalam pemeriksaan histologi menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan dapat diidentifikasi dibawah mikroskop. Hasil pewarnaan Hematoksin-Eosin inti berwarna: biru / ungu dan sitoplasma berwarna: merah muda.

B. Teknik Fiksasi

Fiksasi merupakan suatu usaha untuk mempertahankan komponen sel agar tidak mudah rusak dan tidak mengalami perubahan struktur. Bahan fiksasi akan mengeraskan sel sehingga tahan terhadap berbagai reagen yang akan diberikan dan merubah susunan protein degenerasi yang disebabkan oleh aktivitas bakteri (Tasry, 2018).

Fiksasi adalah proses agar jaringan yang telah diambil tidak mengalami autolisis atau pembusukan sehingga dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel dan sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain-lain sesuai dengan gambar jaringan pada kondisi masih hidup. Fiksasi dilakukan dengan cara merendam jaringan ke dalam zat-zat kimia yang berfungsi sebagai bahan pengawet agar terhindar dari berbagai enzim yang dapat menyebabkan autolisis (Muntiha, 2001). Fiksasi sebaiknya harus segera dilakukan setelah pengambilan jaringan agar tidak terjadi kerusakan pada jaringan yang disebabkan terjadinya proses autolisis atau pembusukan.

Autolisis adalah proses kerusakan jaringan tubuh yang disebabkan oleh enzim-enzim proteolitik yang terdapat pada jaringan. Proses proteolitik ini akan lebih cepat terjadi apabila berada di suhu yang tropik, apabila keadaan yang tidak memungkinkan jaringan dapat disimpan sementara dengan cara dibekukan dalam suhu -20°C . Fiksasi bertujuan untuk mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak sehingga memudahkan dalam proses pemotongan blok parafin (Suryono, 2016).

Fiksasi mempunyai tujuan utama untuk menjaga sel dan komponen jaringan pada keadaan "*life-like state*". Fiksasi berguna untuk mencegah atau menahan proses degeneratif yang mulai segera setelah jaringan kehilangan pasokan darah (Musyarifah & Agus, 2018). Selain itu, fiksasi dapat membuat jaringan lebih mudah untuk menyerap zat warna (Prahanarendra, 2015). Prinsip kerja fiksasi adalah untuk mengawetkan bentuk sel dan organel sehingga mendekati bentuk fisiologisnya. Cairan fiksasi terkadang dapat mengubah komposisi jaringan secara kimiawi dan fisik.

Fiksasi konvensional yang umum digunakan adalah metode konvensional / imersi yaitu dengan merendam potongan-potongan kecil dalam larutan fiksatif. Pada metode ini, lapisan luarnya cepat terfiksasi namun bagian dalamnya terlambat dan mungkin akan mengalami perubahan pos mortem. Salah satu hal yang mempengaruhi fiksasi adalah waktu. Semakin lama jaringan diawetkan, semakin banyak kehilangan organel sel dan pengerutan nukleus sehingga banyak artefak terbentuk. Metode fiksasi interval yaitu dengan cara cairan fiksatif dialirkan ke seluruh tubuh melalui perfusi. Pada fiksasi konvensional memerlukan waktu sebelum jaringan direndam dalam cairan fiksatif. Sebaliknya fiksasi metode interval cairan fiksatif mencapai seluruh jaringan dengan cepat karena cairan fiksasi dialirkan ke seluruh tubuh (Suprianto, 2014).

Faktor – faktor yang mempengaruhi fiksasi diantaranya suhu / temperatur, waktu penetrasi dan tingkat penetrasi, besarnya spesimen, volume larutan fiksasi, tingkat keasaman (pH) (Khristian & Inderati, 2017).

Suhu / temperatur sangat berpengaruh dalam proses fiksasi jika menggunakan teknik pemanasan disarankan dimulai dari suhu kamar yang ditingkatkan secara perlahan hingga suhu mencapai 45°C. Suhu ini merupakan suhu yang dapat diterima dengan baik untuk menjaga morfologi sel dan jaringan dengan kualitas yang baik. Peningkatan suhu pada larutan fiksasi juga dapat dilakukan dengan suhu yang lebih tinggi sampai 65°C namun perlu diperhatikan jika waktu yang digunakan harus lebih singkat.

Waktu fiksasi untuk proses fiksasi bermacam-macam diantara jenis-jenis larutan fiksasi yang ada dan juga jenis sel yang ada di larutan fiksasi. Penentuan waktu fiksasi menjadi pertimbangan dalam mengurangi waktu autolysis dari sel atau jaringan yang terdapat di pusat terdalam suatu jaringan. Tingkat penetrasi zat pengikat tergantung pada karakteristik difusi dan variasi materi satu ke materi lainnya.

Besarnya spesimen merupakan salah satu hal yang penting. Hal ini berhubungan dengan waktu optimal jaringan terfiksasi dari seluruh sisi dan juga proses difusi dari larutan yang digunakan dalam pematangan jaringan. Selain itu, ukuran ketebalan dari kaset jaringan adalah 5 mm. Jaringan diharapkan dapat bergerak bebas di dalam kaset dan tidak ada kontak antara jaringan dengan kaset itu sendiri.

Volume larutan fiksasi terhadap spesimen menjadi hal yang harus diperhatikan. Hal ini berhubungan dengan penurunan kadar konsentrasi larutan fiksasi dan kecepatan penetrasi. Makin sedikit larutan fiksasi yang digunakan, maka akan mengurangi kecepatan penetrasi. Ketika larutan fiksasi besar perbandingannya, maka kecepatan penetrasi terjaga. Perbandingan yang telah teruji adalah 1:20 untuk spesimen : larutan fiksasi.

Tingkat keasaman (pH) yang diberikan diharapkan sesuai dengan pH sel yaitu 6,8-7,2. Ketika larutan fiksasi memiliki pH basa, maka kemungkinan yang terjadi adalah sel yang mengalami pembengkakan.

Larutan yang digunakan pada proses fiksasi antara lain larutan formalin, larutan muller, larutan bouin, larutan zenker formol (cairan hely), larutan

ethyl alkohol, alkohol, larutan asam asetat-alkohol-formalin (tellesniczky), larutan heidenhein's susa, larutan carnoy. (Jusuf, 2009).

C. Alkohol

Alkohol adalah istilah umum untuk senyawa organik yang mempunyai gugus hidroksil (OH) yang terikat pada atom karbon, hidrogen dan atom yang lain. Golongan yang paling sederhana adalah metanol dan etanol (Pudjaatmaka, 1982).

Alkohol merupakan fiksatif umum jaringan yang kurang baik karena tidak dapat memfiksasi bahan inti (kromatin) secara memadai. Bahan ini merupakan koagulan sitoplasma yang baik tetapi tidak dapat digunakan untuk memfiksasi lipid karena lipid larut dalam alkohol. Etil alkohol akan mengeraskan jaringan tetapi terkadang digunakan sebagai fiksatif untuk enzim tertentu dan sangat baik sebagai larutan fiksatif jaringan saraf terutama untuk mempelajari badan Nissl (Suntoro, 1983).

Alkohol tidak secara rutin digunakan untuk mengawetkan jaringan karena menyebabkan terlalu rapuh dan keras. Kemampuannya sangat bagus untuk apusan sel karena kerjanya yang cepat dan memberikan rincian nukleus yang baik. Untuk keperluan fiksasi, alkohol 96% untuk sediaan apus, etanol / metanol untuk asam nukleat, dan alkohol 70% untuk cairan segar (Nasar, 2008).

Larutan alkohol 70% merupakan larutan fiksatif yang digunakan dalam proses histoteknik. Alkohol merupakan larutan fiksatif yang berfungsi untuk fiksasi bahan sediaan sitologi namun dalam keadaan terpaksa dapat digunakan sebagai fiksasi sediaan histopatologi. Fiksasi alkohol tidak dapat digunakan pada suhu rendah karena terdapat komponen albumin dan globulin dalam plasma akan larut. Pengamatan lipid dalam sel tidak boleh menggunakan alkohol karena akan melarutkan lipid. Fiksasi alkohol dapat digunakan untuk mengawetkan enzim tertentu, misalnya *alkaline phosphatase*. Alkohol dalam penetrasi tinggi banyak digunakan untuk fiksasi glikogen. Daya penetrasi alkohol terhadap jaringan yang cepat, akan tetapi

tahap penetrasi lambat pada plasma darah (Dawar, 2015). Setelah difiksasi dengan alkohol tidak perlu dicuci secara khusus dan dapat langsung dibawa ke proses selanjutnya. Kekurangan fiksasi menggunakan larutan alkohol adalah jaringan dapat mengkerut sehingga jaringan tidak terpulas dengan baik (Sumanto, 2014). Larutan alkohol merupakan salah satu larutan yang digunakan untuk fiksasi dengan konsentrasi 70%. Alkohol 70% mudah diperoleh, murah, daya penetrasi cepat, dapat melarutkan lemak, jaringan tidak perlu dicuci secara khusus dan dapat dibawa langsung ke proses selanjutnya (Luna, 2000).

D. Jantung

Jantung terletak dalam ruang mediastrium rongga dada, yaitu di antara paru-paru. Secara fungsional jantung terdiri dari dua pompa yang terpisah, yaitu jantung kanan memompa darah ke paru-paru dan jantung kiri memompa darah ke organ-organ perifer. Setiap bagian jantung yang terpisah ini merupakan dua ruang pompa yang dapat berdenyut, yang terdiri dari satu atrium dan satu ventrikel (Anggraeni, 2009).

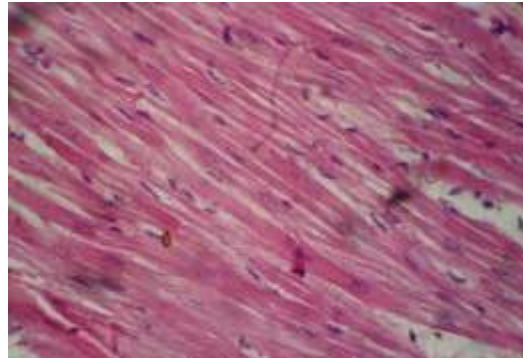
Jantung adalah organ yang berotot dan berkontraksi secara ritmik dan berfungsi memompa darah melalui sistem sirkulasi. Dinding jantung terdiri atas tiga tunika yaitu bagian dalam (endokardium), bagian tengah (miokardium), dan bagian luar (perikardium). Endokardium bersifat homolog dengan intima pembuluh darah terdiri atas selapis sel endotel gepeng yang berada di atas subendotel. Miokardium dan subendotel dihubungkan dengan lapisan subendokardium yang terdapat vena saraf, dan cabang-cabang dari sistem penghantar impuls jantung yang sering disebut sel-sel purkinje. Miokardium adalah tunika yang paling tebal dan terdiri dari sel-sel otot jantung. Sedangkan perikardium adalah lapisan luar yang terdiri dari membran serosa (Junqueira, 2010).

Otot jantung tersusun dari lapisan yang mengelilingi bilik jantung dalam bentuk pilinan yang rumit. Sel otot jantung dewasa bergaris tengah kurang lebih 15 μm dengan panjang 85 – 100 μm . Sel jantung memperlihatkan pola

garis yang melintang dan identik dengan pola otot rangka. Perbedaan otot jantung dengan otot rangka adalah otot rangka memiliki banyak inti, sedangkan otot jantung hanya memiliki satu atau dua inti pucat yang terletak di tengah. Otot jantung terdapat selubung halus dengan jaringan ikat endomisium yang mengandung jalinan kapiler halus (Junquera, 2010). Otot jantung memiliki ciri yang unik, yaitu terdapat garis gelap melintang yang melewati deretan sel-sel jantung dengan jarak yang tidak teratur yang disebut diskus interkalaris. Diskus interkalaris adalah kompleks peratauan yang terdapat pada pertemuan otot-otot jantung yang letaknya bersebelahan (Junquera, 2010). Kandungan air pada jantung adalah 79%, hal ini menjadi kekhawatiran akan terjadi pengurangan molekul air pada saat *processing* jaringan terutama pada tahap fiksasi singga menyebabkan jaringan cepat rusak (Lubis, 2006).

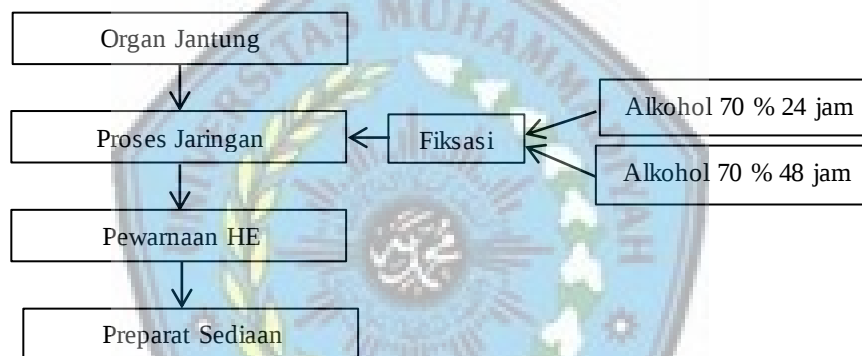
Jantung terdiri dari 3 tipe otot jantung (miokardium) yang utama yaitu: otot atrium, otot ventrikel, dan serat otot khusus penghantar dan pencetus rangsang. Otot atrium dan ventrikel berkontraksi dengan cara yang sama seperti otot rangka. Serat-serat otot khusus penghantar dan pencetus rangsang berkontraksi dengan lemah karena hanya terdapat sedikit serat kontraktif. Bahkan serat-serat ini bekerja sebagai sistem pencetus rangsang bagi jantung (Guyton & Hall, 1997).

Serat jantung memiliki beberapa ciri yang juga terlihat pada otot rangka. Perbedaananya adalah otot-otot jantung terdiri dari sel-sel yang panjang, terdapat garis melintang di dalamnya, bercabang tunggal, terletak paralel satu sama lain, dan memiliki satu atau dua inti yang terletak di tengah sel, juga terlihat myofibrin jantung pada potongan melintang (Eroschenko, 2003).



Gambar 1. Histologi otot jantung (Pengecatan Hematoksilin Eosin. Perbesaran 400x) Susilaningsih, 2006.

E. Kerangka Teori



Gambar 2. Bagan Kerangka Teori