

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Histoteknik

Histoteknik adalah metode untuk membuat sediaan jaringan dari spesimen tertentu melalui suatu tahapan hingga menjadi sediaan yang siap diamati di bawah mikroskop. Sediaan jaringan dapat memberikan gambaran bentuk serta susunan sel dan jaringan yang dapat digunakan untuk mempelajari struktur jaringan tubuh, dan membantu menegakkan diagnosis penyakit (Jusuf, 2009). Tahapan pembuatan sediaan jaringan terdiri atas beberapa langkah yaitu, fiksasi, dehidrasi, pembersihan (*clearing*), pembedaan (*impregnasi/embedding*), *blocking*, pemotongan jaringan (*sectioning*), deparafinisasi, pewarnaan (*staining*), dan perekatan (*mounting*) (Jusuf, 2009).

Fiksasi merupakan dasar dari pembuatan sajian histologi. Kesalahan yang dilakukan pada tahap fiksasi tidak dapat diperbaiki lagi pada tahap selanjutnya. Jadi hasil akhir sajian histologi yang baik sangat tergantung pada cara melakukan fiksasi dengan baik. Tujuan dari fiksasi adalah untuk mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi seperti sewaktu hidup serta mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak agar memudahkan pembuatan irisan tipis. Larutan yang biasa digunakan untuk proses fiksasi antara lain, etanol, bouin, zenker, dan NBF (*Neutral Buffered Formalin*) 10% (Jusuf, 2009).

Dehidrasi merupakan langkah ke dua dalam histoteknik. Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan dalam jaringan yang telah difiksasi. Ada beberapa cairan yang biasa digunakan untuk proses dehidrasi yaitu metanol, etanol, isopropil, glikol, dan alkohol. Larutan alkohol sering digunakan untuk proses dehidrasi dengan alkohol bertingkat yaitu mendiamkan jaringan pada alkohol dari konsentrasi rendah ke alkohol konsentrasi tinggi. Konsentrasi yang biasa digunakan adalah dari 70%, 80%, 90%, dan 100%. (Bancroft, 2012).

Clearing adalah suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dalam jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Proses pengeluaran alkohol ini sangat krusial karena bila di dalam jaringan masih

tertinggal alkohol maka parafin tidak bisa masuk ke dalam jaringan dan akan menyebabkan kesulitan dalam proses *sectioning*. Reagen yang sering dipakai dalam proses *clearing* adalah *chloroform*. *Embedding* merupakan tahapan membenamkan jaringan ke dalam parafin. Keuntungan memakai parafin dengan titik lebur rendah adalah jaringan tidak mudah rapuh. *Blocking* adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom. *Sectioning* merupakan proses pemotongan blok preparat menggunakan mikrotom sehingga menjadi lembaran-lembaran tipis. *Staining* adalah proses pemberian warna pada sediaan yang telah diiris sehingga jaringan dapat diamati dengan mikroskop. Biasanya menggunakan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (Jusuf, 2009).

2.2 Deparafinisasi

Deparafinisasi adalah langkah histoteknik yang dilakukan sebelum melakukan pewarnaan (*staining*) menggunakan *xylol*, *toluene*, atau *chloroform* (Bancroft, *et al* 2012). Larutan yang digunakan pada proses deparafinisasi harus dapat menyatu dengan larutan alkohol sehingga dapat mendesak keluar dan menggantikan suasana jaringan pada proses deparafinisasi (Aneun, 2018). Deparafinisasi bertujuan untuk menghilangkan sisa parafin pada jaringan agar zat warna dapat menyerap secara maksimal pada jaringan. Apabila parafin masih tersisa di jaringan maka hasil pewarnaan tidak akan rata. Parafin merupakan campuran hidrokarbon yang terbuat dari minyak atau lemak yang memiliki sifat tidak larut dalam air (Sumanto, 2014). Bagian jaringan harus dideparafinisasi terlebih dahulu dengan *xylol* kemudian dicuci dalam pengenceran etanol bertingkat untuk menghilangkan pelarut organik dalam jaringan (Mansour *et al.*, 2014). Faktor yang mempengaruhi deparafinisasi antara lain ketebalan jaringan, jenis larutan yang digunakan, dan lamanya perendaman jaringan yang mempengaruhi faktor penyerapan cairan ke dalam jaringan. (Mayangsari, M.A. 2019).

2.3 Xylol

Xylol adalah golongan hidrokarbon aromatik yang digunakan sebagai pelarut dalam dunia medis dan industri. *Xylol* yang memiliki rumus kimia $C_6H_4(CH_3)_3$ atau biasa disebut *dimethyl benzene* ini tidak berwarna, mudah

terbakar, dan mudah menguap. Dalam histoteknik, *xylol* digunakan sebagai agen deparafinisasi. Karena sifatnya yang mudah larut dalam alkohol dan membuat jaringan menjadi transparan, *xylol* menjadi agen deparafinisasi yang baik (Kandyala *et. al.*, 2010). Kerugian akibat terlalu sering terpapar *xylol* dapat menyebabkan gangguan bagi kesehatan antara lain dapat menimbulkan pusing, iritasi, mual, gangguan ginjal dan hati, *pulmonary endema*, keracunan, dan kanker (Kandyala *et. al.*, 2010). Untuk mengurangi kerugian dari *xylol* perlu alternatif lain dengan menggunakan bahan alami sebagai pengganti *xylol* seperti minyak kayu putih (*Cajuput Oil*). Minyak kayu putih mengandung senyawa *terpenoid* dan memiliki sifat non polar yang dapat menghilangkan sisa parafin pada sediaan jaringan sehingga dapat digunakan untuk menggantikan *xylol* sebagai agen deparafinisasi. Selain itu dibandingkan dengan *xylol*, minyak kayu putih lebih murah dan mudah didapatkan (Rene J. Buesa, 2000).

2.4 Minyak Kayu Putih

Minyak kayu putih (*Cajuput Oil*) merupakan minyak yang berasal dari tumbuhan kayu putih (*Melaleuca leucadendra*). Tumbuhan kayu putih merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang banyak ditemukan di Indonesia. Minyak atsiri sebagai bahan wewangian, penyedap masakan dan obat-obatan sudah dipergunakan sejak lama. Minyak atsiri, minyak yang mudah menguap atau terbang merupakan senyawa yang berwujud cairan atau padatan yang memiliki komposisi maupun titik didih yang beragam, Minyak atsiri dapat diperoleh dari bagian tanaman meliputi akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga (Sastrohamidjojo, 2004). Minyak atsiri umumnya terdiri dari berbagai campuran persenyawaan kimia yang terbentuk dari unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O) serta beberapa persenyawaan kimia yang mengandung unsur nitrogen (N) dan belerang (S). Pada umumnya sebagian besar minyak atsiri terdiri dari campuran persenyawaan golongan hidrokarbon dan hidrokarbon teroksigenasi (Ketaren, 1985).

Klasifikasi ilmiah kayu putih yang dinyatakan oleh USDA (2011) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Rosidae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Melaleuca*
Spesies : *M. leucadendron*

Tumbuhan kayu putih mencapai ketinggian hampir 14 m dengan batang berwarna abu-abu keputih-putihan yang kerakkeraknya terkelupas-kelupas dalam bentuk lembaran-lembaran agak tebal dan bersifat seperti sepon (Guenther, 1990). Daun tunggal, bertangkai pendek, bangun jorong atau memanjang. Bunga berwarna kuning gading, merah jambu, atau lembayung yang tersusun dalam bulir yang keluar dari ketiak-ketiak daun (Tjitrosoepomo, 2005). Buahnya berbentuk kotak dan bijinya halus seperti sekam (Lutony dan Rahmayati, 1994).

Minyak kayu putih mengandung senyawa *terpenoid* dan memiliki sifat non polar yang dapat melarutkan sisa parafin (Rene J. Buesa, 2000). *Terpenoid* merupakan senyawa hidrokarbon dan hidrokarbon teroksigenisasi yang berasal dari tumbuhan seperti kayu putih (Harborne, 1987). Senyawa *terpenoid* terdiri dari beberapa unit isopren. *Terpenoid* umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan (Ramadani, 2016). Senyawa *terpenoid* dalam minyak kayu putih adalah monoterpenoid. Monoterpenoid merupakan senyawa terpenoid paling sederhana yang terbentuk dari dua unit isoprene dan merupakan dua komponen minyak atsiri berupa cairan tidak berwarna, tidak larut dalam air, mudah menguap, dan berbau harum (Robinson, 2015). Minyak kayu putih memiliki nilai kelarutan dalam alkohol sebesar 1:1 dan jernih, dan nilai ini memenuhi standar SNI yang mensyaratkan kelarutan dalam alkohol 1:1 (Ary, 2014). Penggunaan minyak kayu putih sebagai agen deparafinisasi pengganti *xylol* mempertimbangkan berbagai hal antara lain minyak kayu putih lebih mudah didapatkan, bersifat non polar yang dapat melunturkan sisa parafin pada sediaan, memiliki kemampuan penyerapan air yang kecil, serta ramah lingkungan (Brug S.L., 1947). Minyak kayu

putih memiliki pH 5 sehingga bersifat asam dapat memperjelas inti sel pada pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (Kristian, 2018). Minyak kayu putih memiliki titik didih 45°C sehingga dapat lebih cepat tergantikan dengan alkohol pada proses dehidrasi, sehingga waktu yang diperlukan pada proses deparafinisasi lebih singkat (Bancroft, *et.al.*, 2012).

2.5 Hematoxyline Eosin

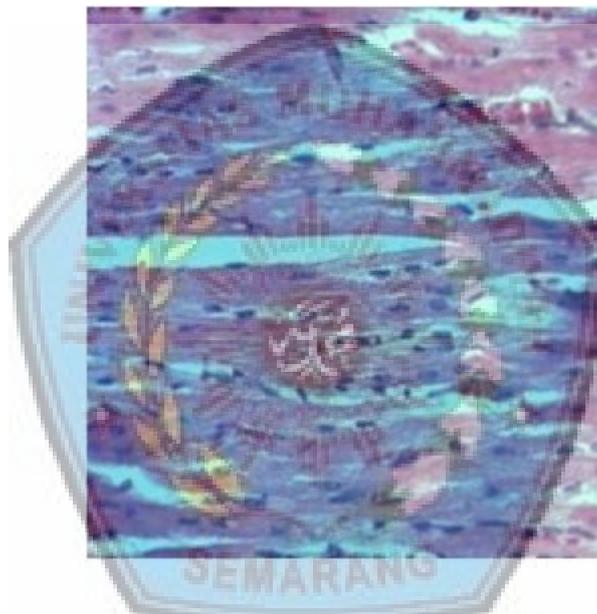
Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) merupakan pewarnaan standar untuk mengetahui struktur umum sel maupun jaringan dalam suatu organ karena warna cat tidak akan berubah walaupun sudah beberapa tahun lamanya. Pewarnaan HE berfungsi membuat jaringan menjadi berwarna dan dapat diamati menggunakan mikroskop. Prinsip pada pewarnaan HE, *hematoxyline* yang bersifat basa akan mewarnai unsur asam dalam jaringan sehingga menghasilkan warna biru tua-ungu pada inti, unsur asam pada inti banyak terdapat pada DNA dan RNA. *Eosin* yang bersifat asam akan mewarnai unsur basa dalam jaringan sehingga menghasilkan warna merah muda pada sitoplasma (Andrew, 2006).

Tahapan pada pewarnaan HE antara lain, deparafinisasi, rehidrasi, pewarnaan *hematoxyline*, blueing, pewarnaan *eosin*, dehidrasi, clearing, dan mounting. Pada tahap deparafinisasi, sisa parafin akan dilunturkan menggunakan *xylol*, kemudian dilanjutkan tahap rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat. Tahap pewarnaan *hematoxyline* yaitu merendam sediaan dalam larutan *hematoxyline* yang berfungsi memberi warna biru pada inti, selanjutnya tahap blueing berfungsi untuk memperjelas warna biru pada inti sel. Pada pewarnaan *eosin*, sediaan direndam pada larutan *eosin* untuk memberi warna merah pada sitoplasma. Tahap dehidrasi bertujuan untuk menghilangkan sisa air pada sediaan, kemudian pada tahap mounting sediaan yang sudah diwarnai ditutup menggunakan kaca penutup yang sudah diberi entelan. Tahap ini berfungsi agar sediaan awet dan tahan lama (Dayatri, 2009).

2.6 Jantung

Jantung merupakan organ utama dalam sistem peredaran darah atau kardiovaskuler. Jantung dibentuk oleh organ-organ muskular, apex dan basis cordis, atrium kanan dan kiri, serta ventrikel kanan dan kiri. Dinding yang

memisahkan kedua atrium dan ventrikel kiri dan kanan dinamakan septum. Fungsi utama jantung adalah memompa darah ke seluruh tubuh dimana otot-otot jantung yang bergerak. Darah dipompakan melalui semua ruang jantung dengan bantuan empat katup yang mencegah agar darah mengalir ke tempat yang dituju. Keempat katup tersebut adalah katup trikuspid yang terletak di antara atrium kanan dan ventrikel kanan, katup pulmonal yang terletak di antara ventrikel kanan dan arteri pulmonal, katup mitral yang terletak di antara ventrikel kiri dan aorta (Vania, 2015). Ventrikel kanan dan kiri berfungsi memompa darah ke paru-paru dan bagian tubuh lain. Atrium kanan dan kiri menerima darah dari tubuh dan vena pulmonalis.



Gambar 1. Otot jantung (Tonci, 2016)

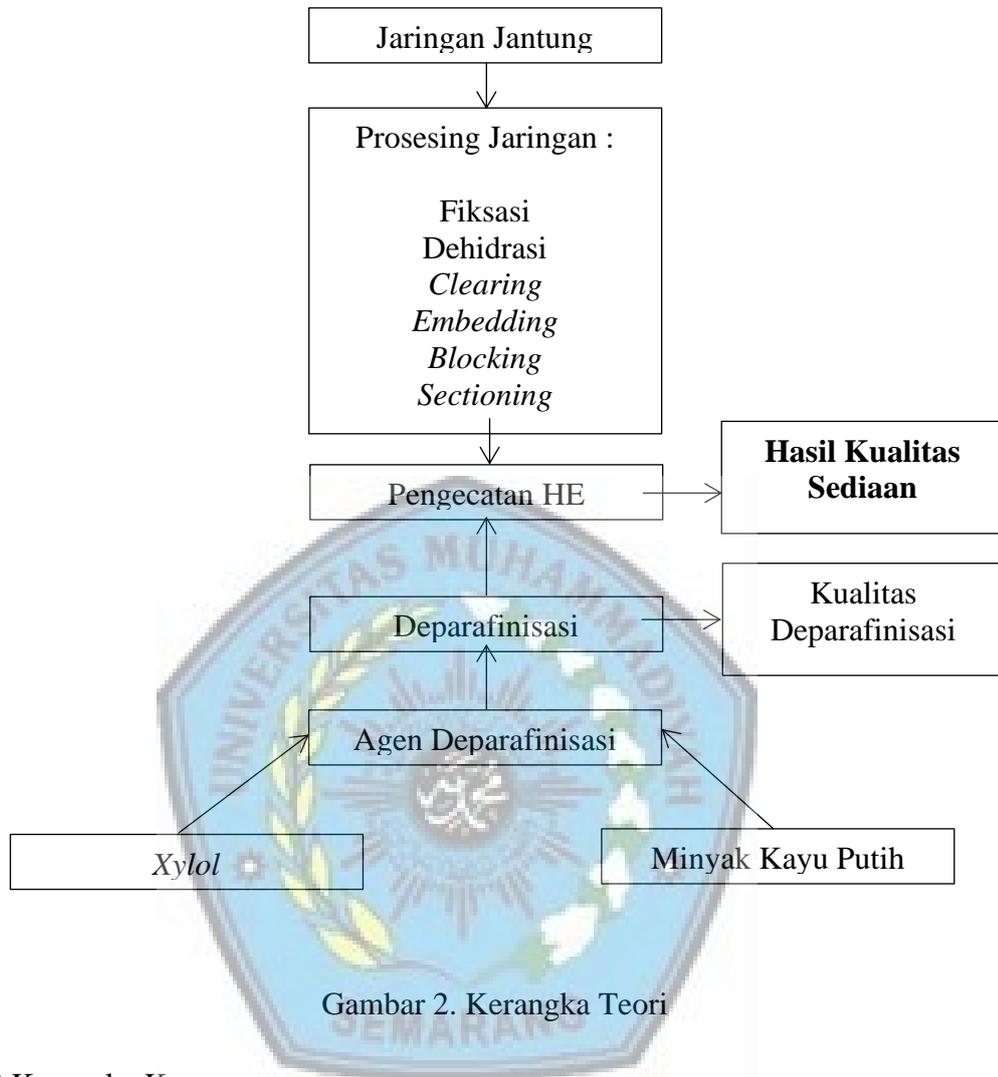
Dinding jantung terdiri dari tiga lapisan mulai dari luar ke dalam yaitu, epikardium yang berfungsi sebagai pelindung jantung atau merupakan kantong pembungkus jantung yang terletak pada mediastinum minus dan dibelakang korpus stemi dan rawan iga II-IV yang terdiri dari 2 lapisan fibrosa dan serosa yaitu lapisan parietal dan viseral. Bagian luar jantung dilapisi oleh epitel selapis gepeng yang ditopang oleh epitel selapis tipis jaringan yang membentuk epikardium. Perikardium yaitu lapisan terluar jantung dan merupakan membran serosa tempat jantung berada. (Junqueira, 2007). Diantara dua lapisan jantung ini terdapat pelumas yang digunakan sebagai pelicin untuk menjaga agar gesekan perikardium tidak mengganggu jantung (Syarifuddin, 2009). Miokardium yang tersusun atas

miosit-miosit jantung (sel otot) yang memperlihatkan struktur subseluler lurik. Sel miosit berukuran relatif kecil ($100 \times 20 \mu\text{m}$) dan bercabang, dengan nukleus tunggal, sel miosit kaya akan mitokondria (Aaronson & Jeremy, 2010). Dan endokardium yang merupakan dinding dalam atrium yang meliputi membran yang mengkilat yang terdiri dari jaringan endotel atau selaput lender endokardium kecuali aurikula dan bagian depan sinus vena kava (Syaifuddin, 2009).

Sel otot jantung yang matur berdiameter sekitar $15 \mu\text{m}$ dan panjangnya antara 85 sampai $100 \mu\text{m}$. Sel-sel tersebut memperlihatkan pola garis melintang yang identik dengan pola otot rangka. Akan tetapi, berbeda dengan otot rangka yang berinti banyak, setiap sel otot jantung hanya memiliki satu atau dua inti pucat yang terletak di tengah. Di sekeliling sel-sel otot terdapat selubung halus jaringan ikat endomisium yang mengandung jejaring kapiler luas. Satu ciri unik yang dapat membedakan otot jantung adalah adanya garis gelap melintang yang melintasi deretan sel-sel jantung dengan interval yang tidak teratur (Junqueira, 2007).

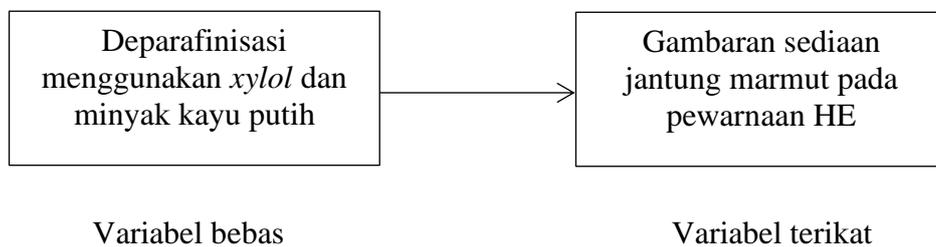


2.7 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Variabel bebas

Variabel terikat

Gambar 3. Kerangka Konsep