

BAB II

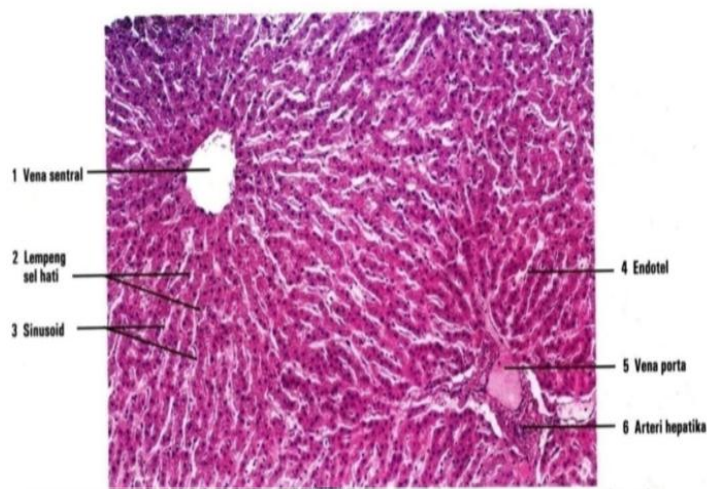
TINJAUAN PUSTAKA

A. Hati

Hati adalah salah satu organ terbesar dalam rongga perut. Hati berwarna coklat kemerahan, bertekstur lunak, lentur, dan terletak tepat di bawah diafragma yaitu di dalam rongga abdomen (Snell, 2006). Fungsi hati antara lain mengubah zat makanan yang diabsorpsi dari usus dan yang disimpan dalam tubuh, mengubah zat buangan dan bahan racun untuk di ekskresi dalam empedu dan urin. Hati juga merupakan tempat metabolisme karbohidrat, lemak, protein serta sebagai tempat untuk penyimpanan vitamin A, D, E, K, vitamin B12 dan berbagai macam mineral seperti tembaga dan besi (Guyton, 2008).

Unsur lain yang terdapat pada hati selain tembaga dan besi adalah air, lemak, karbohidrat, dan nikotinat, kalsium dan sulfat. Kadar air yang terdapat pada hati sebesar 70%, darah 25%, dan lemak 5% (Lu, 1995; Burt dan Day, 2002). Hati terbagi menjadi empat lobus yaitu lobus kiri, lobus median, lobus kanan, lobus *caudatus* (Boorman, 2006). Sel-sel yang terdapat di hati antara lain sel hepatosit, sel endotel, sel makrofag yang di sebut sebagai sel kupffer, dan sel perisinusoid (celah Disse).

Sel hepatosit membentuk suatu lempeng yang berhubungan seperti susunan batu bata di tembok. Lempengan sel ini mengarah dari tepian lobulus ke pusatnya dan membentuk struktur yang menyerupai spons. Celah lempeng ini mengandung komponen mikrovaskular penting yang disebut sinusoid hati (Junquiera, 2007). Tiap susunan sel hepar dipisahkan oleh suatu celah yang dinamakan sinusoid yang mempunyai suatu endotel yang berpori-pori. Pada sinusoid juga terdapat sel Kupffer yang bertugas sebagai fagosit dalam hepar terutama memfagosit sel-sel eritrosit yang sudah tua (Sultana, 2011). Sel makrofag/kupffer berfungsi untuk mendeteksi dan memfagosit eritrosit tua. Sel perisinusoid adalah celah tipis di antara endotel dan hepatosit (Junquire, 2010).



Gambar 1. Gambaran mikroskopik dengan perbesaran 30x hati manusia (Eroschenko, 2010).

B. Pembuatan Preparat Jaringan

Prosesing jaringan adalah proses yang dimulai dari pemotongan jaringan pada organ tertentu hingga menjadi preparat yang siap diamati menggunakan mikroskop. Tujuan dari histoteknik adalah untuk mengidentifikasi struktur dan bentuk jaringan atau sel, untuk mengidentifikasi perubahan jaringan dan untuk mendiagnosis suatu penyakit tertentu. Tahap prosesing jaringan yaitu fiksasi, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi parafin (*embedding*), penanaman (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning/cutting*), inkubasi, perekatan (*affixing*), deparafinasi, pewarnaan (*staining*), penutupan (*mounting*) dan pelabelan (*labelling*).

Proses *fixation* (fiksasi) adalah tahap paling penting pada prosesing jaringan bertujuan untuk mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak sehingga memudahkan dalam proses pemotongan blok parafin. Fiksasi dapat menstabilkan protein, mempertahankan sel dan komponennya dari autolisis dengan menonaktifkan enzim lisosom. Reagen yang paling umum digunakan untuk fiksasi spesimen histologis adalah *Netral Buffer Formalin* (NBF) dengan pH ideal 6,5-7,5. (Aryani, 2019).

Proses *dehydration* (dehidrasi) adalah proses yang dilakukan setelah proses fiksasi bertujuan untuk menarik molekul air dari dalam suatu jaringan. Setiap sel dalam jaringan hidup mengandung air kira-kira 85% dari sitoplasmanya. Jaringan yang akan diproses dengan parafin harus didehidrasi terlebih dahulu untuk menarik molekul air yang terdapat dalam jaringan, karena parafin tidak dapat bercampur dengan air. Proses dehidrasi ini sangat menentukan bagus atau tidaknya kualitas sediaan histologi. Proses dehidrasi yang tidak sempurna menandakan molekul air masih tertinggal dan parafin tidak dapat menembus jaringan tersebut, akibatnya akan diperoleh irisan jaringan yang sulit dipotong dan tidak sesuai seperti yang diharapkan. Contoh reagen dehidrasi antara lain etanol, etanol aseton, methanol, isopropil, glikol dan alcohol terdenaturasi (Prahanarendra, 2015).

Proses *clearing* (penjernihan) adalah proses membersihkan jaringan dari sisa agen dehidrasi, oleh sebab itu clearing agent bertindak sebagai perantara antara reagen dehidrasi dan infiltrasi. *Clearing agent* harus dapat dicampur dengan kedua reagen tersebut. Contoh *clearing agent* antara lain *xylene*, *toluene*, *chloroform* (Aryani, 2019). Proses *infiltrating* (infiltrasi) adalah proses yang dilakukan dengan cara merendam spesimen yang sudah didehidrasi dan dibersihkan berulang-ulang ke dalam parafin cair atau lilin lainnya. Parafin menembus jaringan dalam bentuk cair dan memadat dengan cepat ketika didinginkan, oleh sebab itu proses infiltrasi dilakukan pada suhu 47-64⁰C (IB Izvoztchikov, 2002). Proses *embedding* (pembenaman) adalah proses pembedaan spesimen yang sudah di proses dengan tepat dalam media yang mendukung proses mikrotomi. Media yang dapat digunakan adalah lilin parafin. Proses *embedding* dilakukan menggunakan basemold yang bersifat tahan panas dan penghantar dingin (*stainles steel*) dan jika sudah beku dapat terbentuk blok. Blok tersebut agar mempermudah mikrotomi (Bancroft, 2012).

Proses *blocking* adalah proses penanaman jaringan atau pembuatan blok parafin. Jaringan dimasukkan ke dalam cetakan yang telah diisi parafin cair. Penekanan cetakan ke arah dasar akan menyebabkan sampel menempel pada dasar cetakan, kemudian menutup cetakan dengan kaset (Suryono, 2016). Jaringan

dapat diletakkan ke dalam cetakan yang berisi parafin menggunakan pinset. Blok parafin tidak boleh muncul adanya gelembung udara (Prahanarendra, 2015).

Cutting merupakan proses pemotongan blok parafin yang berisi jaringan, alat yang digunakan yaitu mikrotom sehingga menjadi lembaran-lembaran pita jaringan yang saling bergandengan atau saling menyambung satu sama lain. Ukuran dan jenis spesimen jaringan di kaset menentukan waktu yang dibutuhkan untuk menyelesaikan setiap tahap prosesing jaringan. Jaringan seharusnya dibedah hingga ketebalan 2-4 mm. Jaringan harus tidak memenuhi isi kaset karena akan menghambat aliran reagen di sekitar jaringan. Hasil pemotongan blok parafin dimasukkan ke dalam waterbath yang berisi air dengan suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya pita jaringan diambil menggunakan objek glass dengan tujuan merekatkan jaringan pada objek glass agar tidak lepas pada pengecatan (Prasetyani, 2016). Inkubasi adalah tahapan untuk menguapkan air yang terdapat pada sediaan saat pengambilan lembaran pita jaringan hasil dari *waterbath*, sehingga jaringan menempel kuat pada objek glass.

Deparafinisasi adalah suatu tahap sebelum proses pewarnaan (*Staining*) dengan menggunakan xylol untuk menjernihkan jaringan dari beberapa komponen biokimia yang dapat mengganggu pewarnaan sediaan. Larutan yang digunakan pada proses deparafinisasi harus dapat menyatu dengan larutan alkohol sehingga dapat menggantikan proses penjernihan jaringan. Deparafinisasi biasanya menggunakan larutan *xylol* dan toluol untuk melarutkan parafin yang berupa lemak (Sumanto, 2014). Faktor yang mempengaruhi deparafinisasi secara umum adalah ketebalan pemotongan jaringan karena jika jaringan terlalu tebal maka pada saat pelarutan parafin akan membutuhkan waktu yang lama untuk menjadi transparan, faktor waktu karena pada penelitian Damayanti (2019). Pada umumnya, paraffin yang dipakai adalah yang mencair sempurna pada suhu dibawah 60°C . Suhu tersebut harus dipertahankan agar tidak berakibat pengerutan dan pengerasan jaringan. Parafin cair yang terkandung dalam jaringan seharusnya dilarutkan dalam *xylol*, pada penelitian ini *xylol* diganti dengan ekstrak jeruk peras

dengan variasi waktu untuk mengetahui berapa lama paraffin luntur pada preparat jaringan hati. Jaringan siap diwarnai dengan Hematoksilin – Eosin.

Pewarnaan jaringan merupakan salah satu prosedur yang terdapat di dalam histoteknik. Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang bertujuan untuk memperjelas struktur dan morfologi jaringan tertentu. Pewarnaan rutin yang sering digunakan histopatologi adalah pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Komponen *Hematoxylin* bersifat basa berfungsi untuk mewarnai inti sel yang bersifat asam akan menarik zat/ larutan yang bersifat asam maka akan terbentuk warna pink, oranye, atau merah (Bancroft, 2012; Junqueira, 2007). Tahap pewarnaan *hematoxylin eosin* yaitu deparafinisasi, rehidrasi, pewarnaan *hematoxylin*, dehidrasi, pewarnaan *eosin*, *mounting*.

C. Xylol

Xylol adalah golongan hidrokarbon aromatik yang biasa digunakan sebagai pelarut atau dikombinasikan dengan senyawa organik dan juga sebagai proses kimia yang dapat menjernihkan suatu jaringan. *Xylol* juga disebut sebagai *xylene*, *dimethylbenzene*, atau *mix xylene* merupakan suatu cairan bening, tidak berwarna, mudah terbakar, dan cepat menguap (Malaguarnera, 2018). *Xylol* merupakan bahan kimia yang memiliki rumus atom $C_6H_4(CH_3)_2$, *xylol* memiliki berat molekul 106,17 gram/mol dengan komposisi karbon (C) sebesar 90,5 % dan hydrogen (H) 9,5% (Matthews, 1981). *Xylol* merupakan pelarut organik yang mudah terbakar, mudah menguap dan beracun, digunakan untuk melarutkan paraffin deparafinisasi sebagai spesimen. Dalam penggunaannya *xylol* mempunyai kelebihan, yaitu membuat jaringan cepat menjadi transparan. Adapun kekurangan *xylol*, yaitu harga relatif mahal, bersifat toksik, mudah menguap dan terbakar, bahaya bagi tubuh manusia dan menyebabkan pengerutan jaringan jika direndam terlalu lama (Kunhua, 2012).

Setiap teknik yang meminimalkan penggunaan *xylol* dengan menggunakan pengganti non-biohazardous, mengurangi waktu pewarnaan dengan morfologi sel akan sangat diperlukan untuk alasan diagnostik serta untuk menjaga

lingkungan laboratorium yang sehat, sehingga meminimalkan resiko. Sehingga pada penggunaan *xylol* diganti dengan ekstrak jeruk peras yang mudah didapat, tidak beracun dan ramah lingkungan.

D. Jeruk Peras

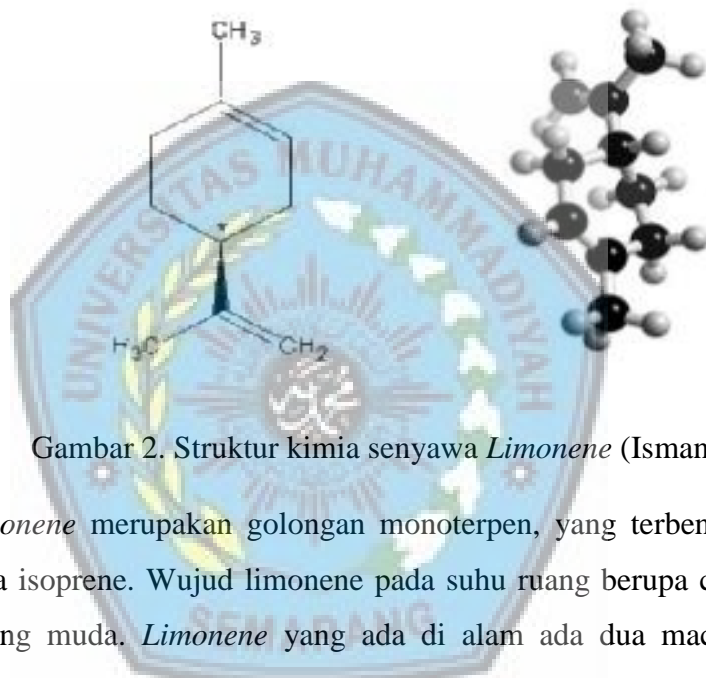
Tanaman buah jeruk adalah tanaman buah tahunan yang berasal dari Asia. Cina dipercaya sebagai tempat pertama kali jeruk tumbuh. Sejak ratusan tahun yang lalu, jeruk sudah tumbuh di Indonesia baik secara alami atau di budidayakan. Tanaman jeruk yang ada di Indonesia adalah peninggalan orang Belanda yang mendatangkan jeruk manis dan jeruk keprok dari Amerika dan Itali. Jeruk manis atau yang biasa disebut sebagai jeruk peras mempunyai nama ilmiah yaitu *Citrus sinensis* L. jeruk peras merupakan tanaman yang banyak ditanam dipekarangan atau dikebun. Berikut klasifikasi jeruk peras :



| | |
|-----------|----------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Spermathopytha |
| Subdivisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledoneae |
| Ordo | : Rutales |
| Famili | : Rutaceae |
| Genus | : Citrus |
| Spesies | : <i>Citrus sinensis</i> L |

Bentuk buah jeruk peras bulat, bulat lonjong, atau bulat rata berdiameter $\pm 4 - 6$ cm. Buah yang telah masak bewarna oranye, kuning, atau hijau kekuningan. Berbau sedikit harum, agak halus, tidak kusam, dan sedikit mengkilat. Tebal kulit buah $\pm 0,3 - 0,5$ cm, dari tepi berwarna kuning atau oranye tua dan makin ke dalam berwarna putih, berdaging, dan kuat melekat pada dinding buah. Segmen (bagian) buah berjumlah $\pm 8-13$ buah, terdapat daging (pulp) yang berisi cairan berwarna kuning, oranye kekuningan, atau kemerahan (Pracaya, 2000:10-11).

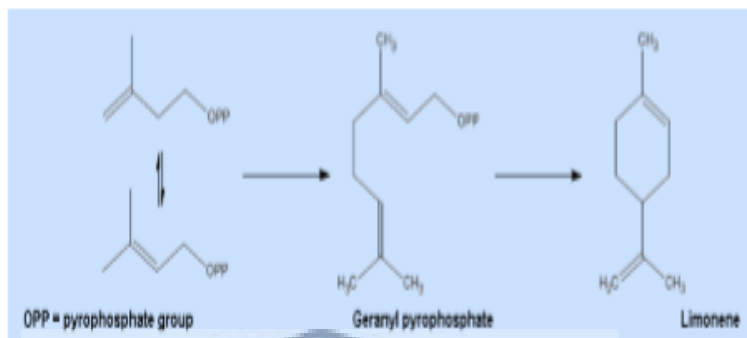
Kulit jeruk mengandung asam sitrat, asam amino, dan minyak atsiri. Minyak atsiri mengandung komponen terpen, sesquiterpen, aldehida, ester, dan sterol (Kartika dkk 2013). Buah jeruk mengandung zat bioflavonoid, pectin, enzim, protein, lemak dan pigmen (karoten dan klorofil). Sari buah jeruk mengandung asam sitrat 7-7,6%, dan minyak atsiri limonene (Khanifah, 2015). Struktur kimia senyawa limonene tercantum pada Gambar 2 berikut :



Gambar 2. Struktur kimia senyawa *Limonene* (Ismanto, 2010).

Limonene merupakan golongan monoterpen, yang terbentuk dari dua unit senyawa isoprene. Wujud limonene pada suhu ruang berupa cairan bening sampai kuning muda. *Limonene* yang ada di alam ada dua macam, yaitu *l-limonene* dan *d-limonene*. Kedua isomer tersebut masing-masing memiliki aroma yang berbeda. *l-limonene* beraroma seperti tirpentine, sedangkan *d-limonene* beraroma jeruk.

Limonene diperoleh dari mengestrak minyak jeruk dari buah dan kulit jeruk. Minyak jeruk ini kemudian didestilasi untuk mendapatkan limonene. Limonene pada umumnya digunakan sebagai perasa dan aroma dalam makanan,



wangi-wangian dalam parfum, dan sebagai pelarut dalam industri cat. Dalam industri limonene sendiri dapat diperoleh dari beberapa proses yaitu, ekstrak dari daun, buah, dan dapat juga diperoleh melalui *biosynthesis* dari *3-methyl-3-butenyl pyrophosphate*. Proses *biosynthesis* dengan *3-methyl-3-butenyl pyrophosphate*.

Gambar 3. *Biosynthesis limonene* (Ismanto, 2010)

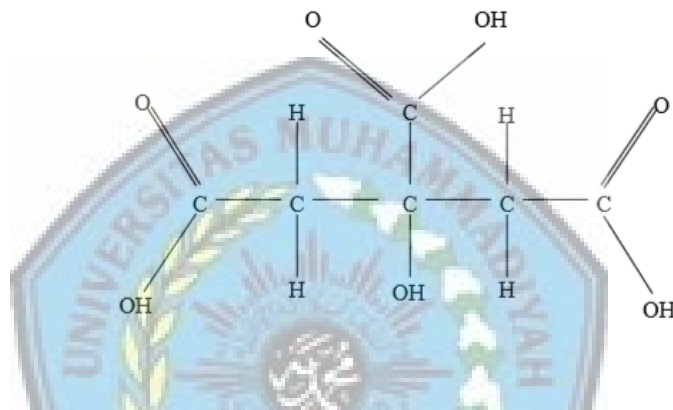
Nama kimia dari d-limonene yaitu *4-isopropenil-1-metilsikloheksana*.

D-limonene memiliki rumus kimia $C_{10}H_{16}$ dengan berat molekul 136,24 g/mol. D-limonene memiliki titik didih $176\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan titik leleh $-96\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tekanan uapnya $<2\text{mmHg}$ pada $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan tidak dapat larut dalam air.

Komponen utama dalam jeruk nipis yang memiliki peran utama sebagai bahan pengganti *xylol* pada proses deparafinisasi adalah minyak atsiri, di dalam minyak atsiri terdapat asam sitrat yang melarutkan lemak (Saputri, 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 menginaktifkan beberapa enzim dan mengikat elemen dalam larutan

mikroelemen. Asam pada jeruk peras / asam sitrat adalah pelarut hidrofilik (polar), mirip seperti air dan etanol (Aenun, 2018).

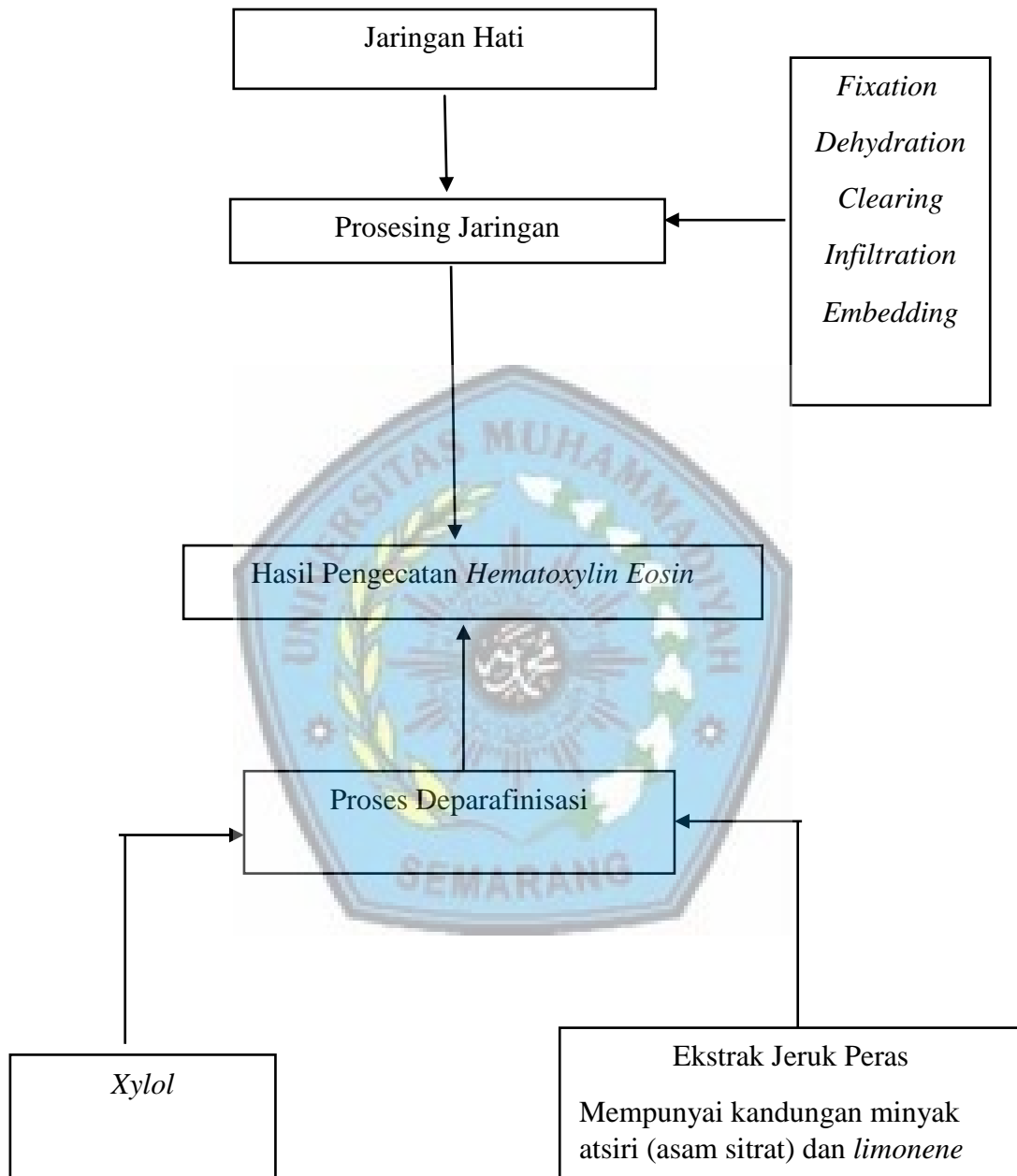
Rumus kimia Asam sitrat adalah $C_6H_8O_7$ atau $CH_2(COOH)-COH(COOH)-CH_2(COOH)$, struktur asam ini tercermin pada IUPAC-nya, asam *2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat*. Keasaman Asam Sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil COOH yang dapat melepas proton dalam larutan. Jika hal ini terjadi, ion yang dihasilkan adalah ion sitrat (Febrianty, 2007).



Gambar 4. Struktur Molekul Asam Sitrat (Febrianty, 2007).

Nama kimia dari Asam Sitrat adalah asam *2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat*. Asam sitrat memiliki rumus kimia $C_6H_8O_7$ dengan berat molekul 192 g/mol. Asam sitrat memiliki titik didih $175\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan titik leleh $153\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kelarutan dalam air 207,7 g/100 ml ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

E. Kerangka Teori



Gambar 5. Bagan Kerangka Teori