

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Mencit Putih (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu kelompok hewan Animalia. Mencit memiliki ukuran dan berat badan lebih kecil dari tikus. Ciri umum mencit yaitu memiliki warna kulit rambut tubuh putih atau keabu-abuan dengan perut sedikit pucat dan mata berwarna merah atau hitam. Organ pencernaan mencit sama seperti mamalia lain yang terdiri dari esofagus, lambung, duodenum, jejunum, ileum, sekum, kolon, dan rektum (Hasanah, Rusny, & Masri, 2015).

Mencit merupakan hewan yang sering digunakan sebagai hewan percobaan laboratorium sekitar 40-80% penggunaannya. Mencit mempunyai banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu diantaranya siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahirannya banyak, dan mudah dalam penanganannya (Rejeki, Putri, & Prasetya, 2018).

Kriteria mencit yang akan digunakan pada penelitian ini adalah mencit dengan jenis kelamin jantan dewasa dengan usia minimal 35 hari dan memiliki berat sekitar 20-40 gram (Pangestu, Aisyah, & Hardiana, 2023).

Menurut Guneberg (1943) mengklasifikasikan mencit sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Murinane

Genus : Mus

Spesies : *Mus musculus*



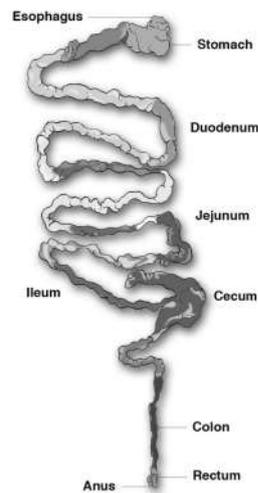
Sumber : (Rio, 2022)

Gambar 2.1 Mencit (*Mus musculus*)

2. Kolon Mencit

Kolon merupakan organ pencernaan yang berfungsi untuk menyerap air dan elektrolit. Kolon memiliki peran utama sebagai organ pengering dan penyimpanan. Kolon hanya melakukan reaksi pemecahan zat makanan agar dapat diserap oleh tubuh. Pada kolon hanya terjadi penyerapan air dan ion-ion untuk mengatur feses yang akan dikeluarkan sesuai. Selulosa dan bahan-bahan lain yang tidak dapat dicerna di usus halus akan membentuk sebagian besar massa feses dan membantu mempertahankan keteraturan buang air besar (Hamdany, 2016).

Kolon mencit memiliki lapisan yang sama dengan kolon manusia, yaitu lapisan mukosa, submukosa, muskularis interna, muskularis eksterna, dan serosa. Pada lapisan kolon mencit terdapat epitel silindris selapis dan lamina propria, membentuk kriptus Lieberkuhn. Pada lapisan mukosa kolon, terdiri dari sel epitel selapis selindris, sel goblet, sel regenerative, dan sel enteroendrokin. Selain itu, pada mukosa kolon kaya akan jaringan limfoid, yaitu limfonodus pada lamina propria mukosa kolon (Hamdany, 2016).



Sumber: (Nugroho, 2018)
Gambar 2.2 Saluran Pencernaan Mencit

3. Histoteknik

Histoteknik adalah salah satu metode yang digunakan untuk pembuatan sediaan Histologi dari suatu spesimen yang melalui beberapa tahapan sehingga menjadi sediaan preparat Histologi yang dapat diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop. Tujuan dari histoteknik adalah untuk mengidentifikasi ada tidaknya perubahan struktur jaringan atau sel dan sebagai penunjang diagnosis suatu penyakit tertentu (Suprianto, 2014).

Histoteknik terdiri dari beberapa tahapan mulai dari isolasi jaringan sampai tahap pewarnaan. Tahap yang pertama adalah tahapan fiksasi (*fixation*) untuk mencegah autolisis pada jaringan. Dilanjutkan dengan tahapan dehidrasi (*dehydration*) untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan setelah dilakukannya proses fiksasi, sehingga jaringan dapat diisi dengan parafin untuk membuat blok preparat (Sari, 2015). Tahap pembenangan (*clearing*) untuk mengeluarkan sisa-sisa alkohol pada jaringan dan menggantinya dengan larutan yang berkaitan dengan parafin. Dilanjutkan ke tahap pembedaan (*infiltrasi*) untuk mengeluarkan cairan pembening dari jaringan, kemudian diganti dengan parafin. Tahapan selanjutnya adalah pengeblokan (*blocking*) dengan menanamkan jaringan pada cetakkan (*base mold*) untuk mempermudah proses pemotongan dengan

alat mikrotom (Juliati, 2017). Dilakukan tahap pemotongan jaringan menggunakan alat mikrotom untuk memperoleh sediaan jaringan yang tipis saat diletakkan pada objek glass. Hasil akhir dari prosesing jaringan adalah preparat Histologi yang kemudian dilanjutkan dengan tahapan pewarnaan (*staining*) menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE), setelah itu dilanjutkan proses perekatan (*mounting*) dan pelabelan (*labelling*), setelah itu dilanjutkan dengan pengamatan secara mikroskopis (Rahmadani, 2018)

4. Euthanasia

Euthanasia merupakan teknik pembunuhan hewan uji secara manusiawi dan mudah mati tanpa merasakan kesakitan. Teknik ini mensyaratkan adanya aksi depresi pada saraf pusat sehingga memungkinkan kepekaan terhadap rasa sakit berkurang. Teknik euthanasia dilakukan dengan zat anastesi inhalan, senyawa yang biasanya digunakan adalah kloroform, eter, halothane, metoksifluran dan nitrous oksida (Nugroho, 2018).

5. Pembuatan Sediaan Histologi

Tahapan pembuatan sediaan histologi adalah sebagai berikut :

a. Fiksasi (*Fixation*)

Fiksasi adalah suatu usaha untuk mempertahankan komponen-komponen sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan dan jaringan tidak mudah rusak. Tujuan fiksasi ini agar jaringan tersebut tetap utuh setelah jaringan keluar dari bagian tubuh. Sehingga membuat jaringan lebih padat, lalu membantu saat proses pemotongan jaringan dengan mikrotom (Alwi, 2016).

b. Dehidrasi (*dehydration*)

Dehidrasi adalah tahapan yang dilakukan setelah tahapan fiksasi dalam pembuatan sediaan Histologi. Tujuan dari proses dehidrasi adalah untuk mengeluarkan seluruh cairan dari jaringan yang telah di fiksasi, sehingga jaringan dapat diisi dengan parafin untuk membuat sediaan Histologi. Tahapan ini perlu dilakukan karena air tidak bisa bercampur dengan parafin. (Wulansari, 2022).

Cairan yang dapat digunakan untuk tahapan dehidrasi yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol 96% dan alkohol absolut. Cairan yang digunakan pada tahap dehidrasi ini adalah alkohol dari konsentrasi rendah. Proses dari dehidrasi pada suatu jaringan akan direndam dimasing-masing alkohol dengan kisaran waktu tertentu sampai prosesnya berakhir (Alwi, 2016).

Air yang berada dalam jaringan terdiri dari dua bentuk, yaitu air bebas dan air terikat. Dehidrasi yang benar selama pemrosesan jaringan hanya menghilangkan air bebas saja dan membiarkan air terikat tetap utuh. Alkohol bertingkat digunakan dalam dehidrasi untuk menghilangkan air bebas dan menjaga air yang terikat tetap di tempatnya. Dehidrasi harus dilakukan perlahan, membuang air yang terikat akan menghasilkan artefak yang akan diproses secara berlebihan seperti penyusutan, pewarnaan yang tidak normal, jaringan kering dan rapuh selama pemotongan dengan mikrotom. Dehidrasi yang tidak sempurna akan mengganggu cairan pembening masuk ke dalam jaringan. Spesimen paling baik diproses dengan alkohol bertingkat dan konsentrasi yang meningkat (Wulansari, 2022).

c. Pembeningan (*clearing*)

Clearing atau proses penjernihan adalah tahapan mengeluarkan sisa-sisa alkohol dan menggantikannya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan media infiltrasi. Agen *clearing* yang umum digunakan adalah *xylol* pada pembuatan sediaan histologi. *Xylol* ini juga memberikan hasil preparat yang baik dalam tahapan *clearing* (Faridah, 2019).

d. Infiltrasi

Infiltrasi adalah tahapan untuk memasukkan filtrat ke dalam jaringan sampai jaringan tersebut mengeras akibat filtrat tersebut di suhu ruang (Khirstian, 2017). Tujuannya yaitu untuk mengeluarkan cairan pembening (*clearing agent*) dari jaringan dan diganti dengan parafin. Pada tahap ini jaringan harus benar-benar bebas dari cairan

pembening karena sisa dari cairan pembening dapat mengkristal pada jaringan dan saat jaringan dipotong menggunakan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek (Wulansari, 2022).

e. Pengeblokan (*blocking*)

Pembuatan *blocking* adalah proses pembuatan preparat dengan menanamkan atau memasukkan jaringan kedalam cetakkan agar dapat mudah dipotong menggunakan mikrotom. Cetakkan yang digunakan adalah *base mold* (Juliati, 2017). Tahap ini menggunakan parafin sebagai bahan menempelkan jaringannya agar dapat mudah dipotong (Alwi, 2016).

f. Pemotongan Blok

Pemotongan blok merupakan proses pemotongan blok jaringan menggunakan alat mikrotom. Untuk mendapatkan jaringan yang baik dapat melalui dua tahap pemotongan, yaitu tahap potong kasar (*trimming*) dan tahap potong halus (*sectioning*). Proses potong kasar (*trimming*) adalah proses awal pemotongan blok jaringan untuk membuang kelebihan dari parafin yang menutupi jaringan sampai permukaan dari jaringan dapat terbuka dan bisa dihasilkan pita jaringan yang utuh. Untuk tahap potong kasar mikrotom diatur ketebalannya yang cukup tinggi, yaitu 15-30 μ m (Khristian, 2017)

Pada tahap potong halus (*sectioning*) merupakan tahapan untuk menghasilkan pita jaringan dengan ketebalan tertentu. Ketebalan pita jaringan untuk jaringan hasil pembedahan rutin biasanya adalah 3-5 μ m. Kedua tahap ini harus dilakukan secara benar dan teliti agar tidak menimbulkan artefak pada pita jaringan (Khristian, 2017).

g. *Floating*

Floating merupakan proses penempatan pita jaringan pada air hangat/*waterbath* dengan suhu 40-50°C sebelum ditempelkan pada *object glass* (Juliati, 2017). Tahapan ini bertujuan untuk membantu mengurangi lipatan pada pita jaringan. Dan pada tahap ini pastikan

air yang digunakan bersih, suhu air tidak terlalu panas dan tidak terlalu lama dibiarkan mengambang di air karena dapat menimbulkan artefak pada jaringan (Khristian, 2017).

h. Deparafinisasi

Deparafinisasi merupakan tahapan untuk menghilangkan sisa parafin pada jaringan sehingga zat warna dapat menyerap secara maksimal pada jaringan (Sari, 2021). Sebelum melakukan pewarnaan jaringan harus dilakukan tahapan deparafinisasi terlebih dahulu, karena pada saat proses pematangan jaringan masih mengandung parafin dan pada proses pewarnaan akan melibatkan banyak air sehingga sebelum dilakukan proses pewarnaan, parafin harus di hilangkan terlebih dahulu (Khristian, 2017).

i. Pewarnaan (*staining*)

Pewarnaan jaringan merupakan tahap yang diperlukan untuk mewarnai komponen-komponen jaringan yang transparan setelah melalui proses pematangan jaringan. Pewarnaan dapat menunjukkan struktur dan morfologi jaringan, keberadaan dan prevelensi sel-sel tertentu. Pewarnaan yang sering digunakan pada tahapan pembuatan sediaan Histologi adalah pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) (Khristian, 2017).

Pewarnaan dengan metode *Hematoxylin Eosin* merupakan metode pewarnaan yang paling banyak digunakan dalam pembuatan preparat Histologi. Pewarnaan ini memiliki 2 jenis zat warna, yaitu Hematoxylin yang berfungsi untuk mewarnai inti sel menjadi biru dan Eosin yang berfungsi untuk mewarnai sitoplasma menjadi merah (Sari, 2015).

j. Perekatan (*mounting*)

Perekatan (*mounting*) merupakan proses penempelan *cover glass* pada kaca preparat dengan entellan. Tujuan dari tahap ini adalah untuk membuat preparat lebih tahan lama dan tidak tergores pada saat ditutup dengan *cover glass*. Harus dipastikan bahwa tidak

ada gelembung udara yang terbentuk pada saat menempelkan *cover glass* pada kaca preparat (Juliati, 2017).

k. Pelabelan (*labelling*)

Preparat yang telah diberi *cover glass* selanjutnya diberikan label. Pemberian label dilakukan agar pada saat diagnosa pasien yang satu dan yang lainnya sediaan tidak tertukar (Juliati, 2017).

6. Kriteria Penilaian Kualitas Pewarnaan

Untuk menilai kualitas hasil pewarnaan ada beberapa cara, yaitu menurut Ankle 2011 dan menurut BPMPPPI. Menurut Ankle 2011 kualitas hasil pewarnaan dapat dinilai berdasarkan inti sel, sitoplasma, keseragaman warna, kejelasan pewarnaan dan kerenyahan pewarnaan yang diberi skor apabila memadai diberi skor 1 dan tidak memadai diberi skor 0. Skor akan dijumlahkan tiap slide dan untuk slide dengan hasil skor 3 dinilai tidak memadai untuk diagnosis, untuk slide dengan skor 4-5 dinilai memadai untuk diagnosis (Ankle dan Joshi, 2011).

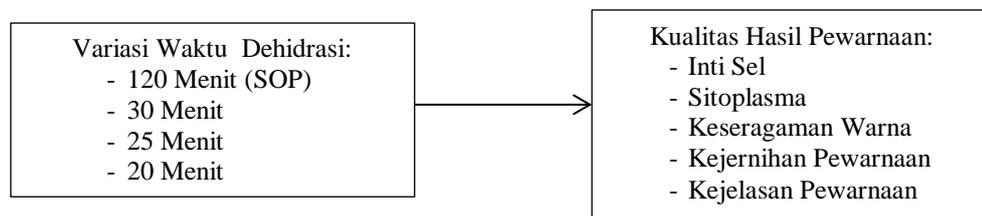
Menurut BPMPPPI ada 16 standar yang dilihat salah satunya ada standar pulasan dan mounting. Pada standar pulasan dan mounting terdapat 5 parameter salah satunya adalah kontras warna *Hematoxylin Eosin* cukup jelas yang diberikan skor maksimal 5. Untuk menilai sediaan skor akan dijumlahkan keseluruhannya dari 16 standar. Skor 95-100 dinilai sesuai standar karena sediaan dapat dibaca dan berkualitas sempurna, skor 94-70 dinilai perlu peningkatan karena sediaan dapat dibaca tetapi dengan hambatan pembacaan, dan skor <70 dinilai perlu bimbingan karena sediaan kurang/tidak layak dibaca (BPMPPPI, 2020).

Pada tabel 2.1 untuk nilai kualitas pewarnaan dengan parameter penilaian pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, keseragaman warna, kejernihan pewarnaan dan kejelasan pewarnaan dikatakan baik akan diberikan skor 1 dan dikatakan tidak baik akan diberikan skor 0. Nilai skor yang diberikan pada 5 parameter total ada 5 skor.

Tabel 2.1 Penilaian Kualitas Pewarnaan

No.	Parameter Penilaian	Skor
1.	Pewarnaan Inti Sel	
	a. Baik	1
	b. Tidak Baik	0
2.	Pewarnaan Sitoplasma	
	a. Baik	1
	b. Tidak Baik	0
3.	Keseragaman Warna	
	a. Baik	1
	b. Tidak Baik	0
4.	Kejernihan Pewarnaan	
	a. Baik	1
	b. Tidak Baik	0
5.	Kejelasan Pewarnaan	
	a. Baik	1
	b. Tidak Baik	0

B. Kerangka Konsep



C. Hipotesis

H0: Tidak ada perbedaan kualitas pewarnaan *Hematoylin Eosin* sediaan jaringan kolon mencit variasi waktu dehidrasi 30 menit, 25 menit, dan 20 menit dibandingkan SOP 120 menit pada proses pematangan jaringan.

H1: Ada perbedaan kualitas pewarnaan *Hematoylin Eosin* sediaan jaringan kolon mencit variasi waktu dehidrasi, 30 menit, 25 menit, dan 20 menit dibandingkan SOP 120 menit pada proses pematangan jaringan.