

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Kanker Payudara (*Carcinoma mammae*)

Kanker payudara adalah suatu keganasan pada payudara karena adanya pertumbuhan abnormal sel-sel di jaringan payudara, pertumbuhan yang abnormal ini berasal dari epitel duktus maupun lobulus payudara yang pertumbuhannya tidak dapat dikendalikan, kanker payudara dapat bermetastasis ke bagian tubuh lainnya melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening (Rizka dkk, 2022).

Kanker payudara merupakan penyakit dengan mortalitas yang tinggi di Indonesia maupun di dunia (Kemenkes, 2022). Menurut data International Agency for Research on Cancer (*IARC*) pada tahun 2020, kanker payudara merupakan salah satu penyakit dengan mortalitas yang tinggi pada wanita begitu pentingnya penanganan untuk kanker payudara, baik dari segi pencegahannya ataupun dari bidang ilmu yang melakukan pemeriksaan terhadap spesimen tersebut agar diagnosis penyakit lebih akurat dan optimal.

2. Pembuatan Sediaan Histopatologi

Laboratorium patologi anatomik merupakan laboratorium yang melaksanakan pembuatan preparat histopatologi, pulasan khusus sederhana, pembuatan preparat sitologik, dan pembuatan preparat dengan teknik potong beku, menurut Permenkes RI nomor 411/Menkes/Per/iii/2010. Sebelum dilakukan identifikasi adanya sel ganas pada sediaan preparat jaringan yang dihasilkan, perlu dilakukan serangkaian proses yang mengolah jaringan pengangkatan dari pasien hingga menjadi sebuah sediaan siap baca. Rangkaian proses tersebut sering dinamakan dengan prosesing jaringan. Prosesing jaringan dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, salah satu metode yang masih banyak dipilih karena relatif murah biaya yang dibutuhkan dengan hasil cukup baik adalah prosesing jaringan metode parafin. Prosesing jaringan metode parafin ini memiliki prinsip melakukan pengerasan jaringan menggunakan parafin sehingga jaringan dapat dipotong dalam ukuran mikrometer untuk dapat dibuat sebuah sediaan jaringan guna diidentifikasi adanya kecurigaan terjadinya keganasan sel (Sumanto, 2014).

Spesimen pemeriksaan dalam prosesing jaringan dapat berupa jaringan yang didapat dengan cara berbeda, apabila spesimen merupakan jaringan yang diangkat dari pasien biasanya kiriman spesimen sudah dalam proses fixasi, artinya spesimen dikirim dalam larutan pengawet sebaliknya apabila spesimen pemeriksaan berasal dari hewan coba pada sebuah eksperimen, pekerjaan dimulai dengan langkah pengambilan jaringan pada hewan coba tersebut, tahapan utama dalam prosesing jaringan metode parafin adalah pengawetan jaringan (*fixating*), penghilangan kandungan air (*dehydrating*), penjernihan jaringan (*clearing*), penanaman jaringan (*impregnating – embedding*), *sectioning*, *afixing*, *mounting* dan *labelling* (Sumanto,2014).

a) Pematangan Jaringan

Pematangan jaringan adalah proses pengeluaran air dan larutan fiksatif yang ada di dalam jaringan, kemudian digantikan dengan media yang membuat jaringan menjadi kaku sehingga bisa dilakukan pemotongan terhadap jaringan dengan ketebalan yang sangat tipis. Di dalam histologi rutin, paraffin adalah media paling sering digunakan untuk menanam jaringan (Kristian,2017).

Pematangan jaringan terdiri dari beberapa tahapan, antara lain :

1) Dehidrasi (*Dehydration*)

Tahapan proses dehidrasi ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat di dalam jaringan. Jaringan yang terawetkan dengan larutan formalin menyebabkan bersifat aquosa karena formalin memiliki kelarutan dalam air. Keberadaan air dalam jaringan akan mengganggu proses penjernihan pada tahap prosesing selanjutnya sehingga harus dihilangkan. Prinsip penghilangan air ini harus dilakukan secara perlahan agar jaringan tidak mengkerut akibat kehilangan air yang tiba-tiba. Kandungan air harus digantikan larutan lain yang nantinya juga dapat menyatu dengan larutan clearing. Pilihan larutan untuk proses dehidrasi ini adalah larutan alkohol. Alkohol absolut yang benar-benar murni tanpa kandungan air tidak boleh langsung digunakan untuk proses ini namun harus diencerkan lebih dahulu dalam berbagai konsentrasi. Merendam jaringan ke dalam larutan alkohol dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi hingga absolut merupakan cara terbaik untuk menghilangkan kandungan air dalam jaringan

secara perlahan. Semakin kecil perbedaan konsentrasi setiap tahap dehidrasi akan semakin optimal dalam mengeluarkan air dari jaringan (Kristian,2017).

2) Pembeningan (*Clearing*)

Reagen pembeningan bertindak sebagai perantara antara larutan dehidrasi dan infiltrasi. Reagen pembeningan larut dalam dua larutan tersebut dan kebanyakan berupa hidrokarbon dengan indeks bias yang mirip dengan protein. Jika agen dehidrasi telah digantikan semua dengan agen pembeningan, maka jaringan tersebut akan memiliki penampilan yang bening dan tembus cahaya. Agen pembeningan harus memiliki kemampuan penetrasi jaringan yang cepat, penghapusan agen dehidrasi cepat, mudah digantikan oleh agen infiltrasi, menimbulkan kerusakan jaringan yang minimal, sifat mudah terbakar yang rendah, toksisitas rendah dan murah (Kristian,2017).

Penjernihan merupakan tahapan membuat jaringan menjadi jernih dan transparan menggunakan pelarut organik seperti xilene atau toluene. Tahap ini bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan digantikan dengan parafin. Proses mengeluarkan alkohol dari jaringan ini sangat krusial karena bila didalam jaringan masih tertinggal sedikit alkohol maka parafin tidak bisa masuk kedalam jaringan sehingga jaringan tidak sempurna dalam proses blocking, pemotongan dan pewarnaan (Indrawati, 2017).

3) Infiltrasi

Infiltrasi merupakan suatu proses memasukkan materi/filtrat ke dalam jaringan sehingga jaringan tersebut dapat mengeras akibat filtrat tersebut di suhu ruang. Mekanisme masuknya filtrate ini kedalam sel adalah dengan menggantikan cairan pembeningan dengan tingkat kelarutannya. Parafin adalah filtrate yang paling banyak digunakan untuk infiltrasi dan embedding. Parafin yang digunakan tersedia dalam berbagai bentuk dengan berbagai suhu lelehnya dan zat penambahnya untuk bisa menghasilkan potongan jaringan yang berkualitas. Beberapa praktisi menganjurkan menggunakan parafin yang mempunyai titik leleh yang rendah dalam mempercepat proses infiltrasi. Reagen Infiltrasi mempertahankan fungsi dari sel dan komponen ultrastruktural selama proses pemotongan (Kristian, 2017).

b) Penanaman Jaringan

Setelah proses infiltrasi dengan paraffin cair, maka selanjutnya adalah tahap penanaman jaringan pada base mold. Jaringan diambil dari kaset dan ditempatkan pada *base mold*, kemudian dituangkan paraffin cair yang sejenis dengan paraffin yang digunakan pada proses infiltrasi. Tahap yang penting di dalam proses ini adalah mengorientasikan jaringan secara baik sehingga dapat mempermudah proses pemotongan jaringan. Jaringan dapat diorientasikan di tepi, di ujung atau di permukaan, tergantung pada jenis jaringan yang ditanam (Kristian,2017).

Pengeblokan yang benar akan menghasilkan blok paraffin jaringan yang kompak, tidak mudah retak saat ditekan. Selain itu jaringan benar-benar menyatu dengan paraffin sehingga pada saat dilakukan pemotongan jaringan akan ikut terpotong bersama dipotongnya blok paraffin. Hal yang perlu diperhatikan adalah jangan pernah melakukan intervensi terhadap blok jaringan yang belum benar-benar kering. Ketidaksabaran melakukan pengecekan dengan memijat blok jaringan yang belum padat dapat merusak blok jaringan itu sendiri (Sumanto,2014).

1) Pemotongan blok dengan mikrotom

Sectioning adalah proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom. *Sectioning* bertujuan untuk mendapatkan sediaan jaringan yang tipis dengan ketebalan 3-5 nm, rata serta tidak melipat ataupun terputus saat diletakkan pada gelas obyek (Jusuf, 2013).

2) Floating

floating atau penempatan pita jaringan pada air hangat sebelum ditempelkan pada kaca objek. Proses ini bertujuan untuk membantu mengurangi lipatan pada pita jaringan. Pada proses ini pastikan air yang digunakan bersih, suhu air tidak terlalu panas dan tidak terlalu lama dibiarkan mengambang diatas air karena dapat menimbulkan artefak pada jaringan. Setelah pita menempel pada kaca objek, hal yang selanjutnya dilakukan adalah mengeringkan sediaan untuk menghilangkan sisa air yang masih terperangkap dibawah pita jaringan. Proses pengeringan bias dilakukan didalam oven atau diatas hotplate. Suhu pemanasan harus dijaga tidak terlalu panas, cukup pada titik leleh paraffin. Suhu yang terlalu panas dapat menyebabkan adanya perubahan struktur pada jaringan. Pengeringan untuk

berbagai jaringan juga dianjurkan dilakukan pada 37°C selama satu malam. Sediaan yang telah benar-benar kering dapat dilanjutkan dengan pewarnaan sesuai dengan kebutuhannya masing-masing (Kristian, 2017).

c) Pewarnaan Sediaan

Pewarnaan jaringan sangat diperlukan untuk mewarnai komponen-komponen jaringan yang transparan setelah melalui proses pematangan jaringan. Pewarnaan dapat memperlihatkan struktur dan morfologi jaringan, keberadaan dan prevalensi sel-sel jaringan tertentu. Pewarnaan rutin yang biasanya digunakan untuk histopatologi adalah pewarnaan Hematoxylin Eosin (Khristian, 2017).

Pewarnaan Hematoxylin Eosin ini didasarkan pada prinsip sederhana, yaitu sifat asam basa dari larutan yang kemudian akan berikatan dengan komponen jaringan yang mempunyai kecenderungan terhadap sifat asam ataupun basa tersebut sehingga terjadilah ikatan antara molekul zat warna dengan komponen jaringan. Pewarnaan hematoxylin akan mewarnai inti sel menjadi warna biru dan pewarnaan eosin mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah (Khristian, 2017).

1) Deparafinisasi

Deparafinisasi merupakan proses untuk menghilangkan parafin sebelum proses pewarnaan. Reagen yang dipakai adalah xylol, toluen, benzol atau kloroform. Bagian jaringan harus dilakukan proses deparafinisasi terlebih dahulu dengan xylol dan kemudian dicuci dalam pengenceran etanol bertingkat untuk menghilangkan pelarut organik dan parafin yang ada dalam jaringan (Sumanto, 2014).

2) Dehidrasi

Dehidrasi adalah pengeluaran air bebas tidak terikat dan larutan fiksatif. Dehidrasi harus dilakukan secara lambat. Spesimen diproses melalui proses peningkatan konsentrasi kadar alkohol secara bertingkat. Dehidrasi berlebihan dapat menyebabkan objek terjadi kerusakan jaringan menjadi keras, rapuh dan menyusut, reagen yang digunakan untuk dehidrasi adalah etanol, aseton etanol, methanol, isopropil, glikol dan alcohol terdenaturasi (Suvarna & dkk, 2013)

3) Clearing Agent

Clearing agent merupakan proses yang dilakukan setelah dehidrasi. Pada clearing agent berfungsi untuk membuat jaringan menjadi jernih dan transparan. Medium penjernih ini akan menjernihkan atau mentransparankan jaringan agar bisa terlihat jernih dan terwarnaidengan baik dan juga dapat memperlihatkan warna sesuai dengan pewarnanya dan juga sebagai perantara masuknya jaringan kedalam paraffin (Mukawi, 1989)

4) Penutupan Sediaan (*Mounting*)

Proses mounting memerlukan sebuah kaca penutup yang biasanya dibuat dari bahan fiberglass tipis dan perekat. Perekat sekaligus bahan pengawet sediaan jadi ini dapat dipilih salah satu antara canada balsam atau entelan. Kedua jenis bahan perekat ini sama baiknya dan memiliki kelarutan dalam larutan xylol. Proses mounting harus dilakukan dalam kondisi sediaan basah larutan xylol agar perekat benar-benar menyatu dengan jaringan. Pemberian perekat dalam kondisi sediaan kering akan menyebabkan timbulnya bintik-bintik kehitaman yang dapat mengganggu tampilan mikroskopis sehingga sediaan berkesan banyak kotoran. Setelah kaca penutup terpasang sedemikian rupa menutup jaringan dengan sempurna, sediaan dapat difixasi sebentar pada hotplate untuk lebih merekatkan penutupan. Apabila waktu yang tersedia sangat longgar disarankan untuk membiarkan saja sediaan kering di suhu ruang (Sumanto,2014)

d) Pelabelan (*Labeling*)

Pelabelan sediaan yang jadi menjadi sangat penting karena tanpa adanya label sebuah sediaan sebaik apapun tidak akan dapat dibaca hasilnya karena tidak diketahui hasilnya untuk siapa. Pemberian label dapat ditulis secara jelas identitas pasien atau hanya dengan kode saja tergantung kebijakan manajemen lembaga pemeriksa. Kelengkapan identitas pada label juga dapat berbeda sesuai kebutuhan, misalnya nama atau kode spesimen, alamat, bahan, tanggal pengambilan spesimen dan lainnya(Sumanto, 2014).

3. Xylol

Xylol adalah hidrokarbon aromatik yang terdiri dari cincin benzena dengan dua substituen metil. Nama lain dari xylol antara lain xylene, dan dimetilbenzene, xylol memiliki berat molekul 106,17 gram/mol dengan komposisi karbon (C)

sebesar 90,5% dan hidrogen (H) 9,5%, xylol merupakan cairan tidak berwarna yang diproduksi dari minyak bumi atau aspal cair dan sering digunakan sebagai pelarut dalam industry (Jacobson,2003).

Kegunaan xylol terutama pada laboratorium digunakan sebagai *clearing agent* pada prosesing jaringan serta pewarnaan. Penggunaan xylol juga sering digunakan sebagai pelarut dalam industry, pelarut pembersih lantai, pengharum ruangan dan dalam dunia kesehatan salah satunya histopatologi sebagai agen deparafinisasi (Jacobson, 2003).

a) Fungsi Xylol

Dalam bidang histopatologi atau pada pembuatan sediaan jaringan digunakan untuk pembuatan sediaan kualitas preparat pada proses clearing, Fungsi xylol adalah untuk menarik alkohol, mempersiapkan bagian organ untuk pembedahan (memasukkan parafin) karena xylol menyebabkan sitoplasma kosong dan hanya terdiri bagian padat saja,yang perlu diperhatikan adalah perendaman tidak boleh terlalu lama pada xylol karena dapat memberikan warna kehitaman pada bagian organ (Nerissa, 2009).

b) Paparan Xylol

Paparan terhadap xylol dapat terjadi melalui penghirupan, menelan, kontak mata atau kulit.Ini terutama dimetabolisme di hati oleh oksidasi kelompok metil dan konjugasi dengan glisin untuk menghasilkan asam metil hippuric, yang diekskresikan dalam urin.Jumlah yang lebih kecil dihilangkan tidak berubah di udara yang dihembuskan.Ada potensi akumulasi yang rendah.Xylol menyebabkan efek kesehatan dari paparan akut <14 hari dan juga kronis >365 hari.Jenis dan tingkat keparahan efek kesehatan tergantung pada beberapa faktor, termasuk jumlah bahan kimia yang terpapar dengan Anda dan lama waktu Anda terpapar. Individu juga bereaksi berbeda terhadap berbagai tingkat paparan (Kandyala dkk,, 2010).

Tabel 2.1 Bahaya Paparan Xylol Terhadap Kesehatan

No.	Sistem	Efek
1.	Sistem Saraf	100–200 ppm → mual dan sakit kepala 200–500 ppm → pusing, lemah dan muntah 800–10.000 ppm → pusing, bingung, bicara tidak jelas, kehilangan keseimbangan, dan bunyi berdengung >10.000 ppm → kantuk, kehilangan kesadaran, dan kematian
2.	GIT (Gastrointestinal Track)	Mual, muntah, dan ketidaknyamanan lambung
3.	THT (Telinga Hidung Tenggorokan)	Iritasi dan kerusakan mata (percikan tidak disengaja)
4.	Otot	Mengurangi daya tahan dan mengurangi kekuatan otot di ekstremitas
5.	Kulit	Iritasi, dermatitis, kekeringan, dan mengelupas dan pecah-pecahnya kulit
6.	. Kanker	Karsinogenik pada hewan
7.	Reproduksi	Osifikasi yang tertunda dan mengkontaminasi ASI
8.	Paru-paru	Iritasi, nyeri dada, dan sesak napas (200 ppm) Edema paru (kondisi ekstrem)
9.	Hati dan Ginjal	Cedera luka

Sumber: (Kandyaladkk.,2010)

4. Minyak Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*)

Gandapura merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri jika diolah dengan serangkaian proses akan menghasilkan minyak gandapura dan tanaman ini masuk dalam daftar Komoditi Binaan Direktorat Jenderal Perkebunan berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian nomor 511/kpts/pd.310/9/2006. Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) dapat tumbuh pada dataran tinggi, 1300-3300 meter dpl (Kusumo, 2015).

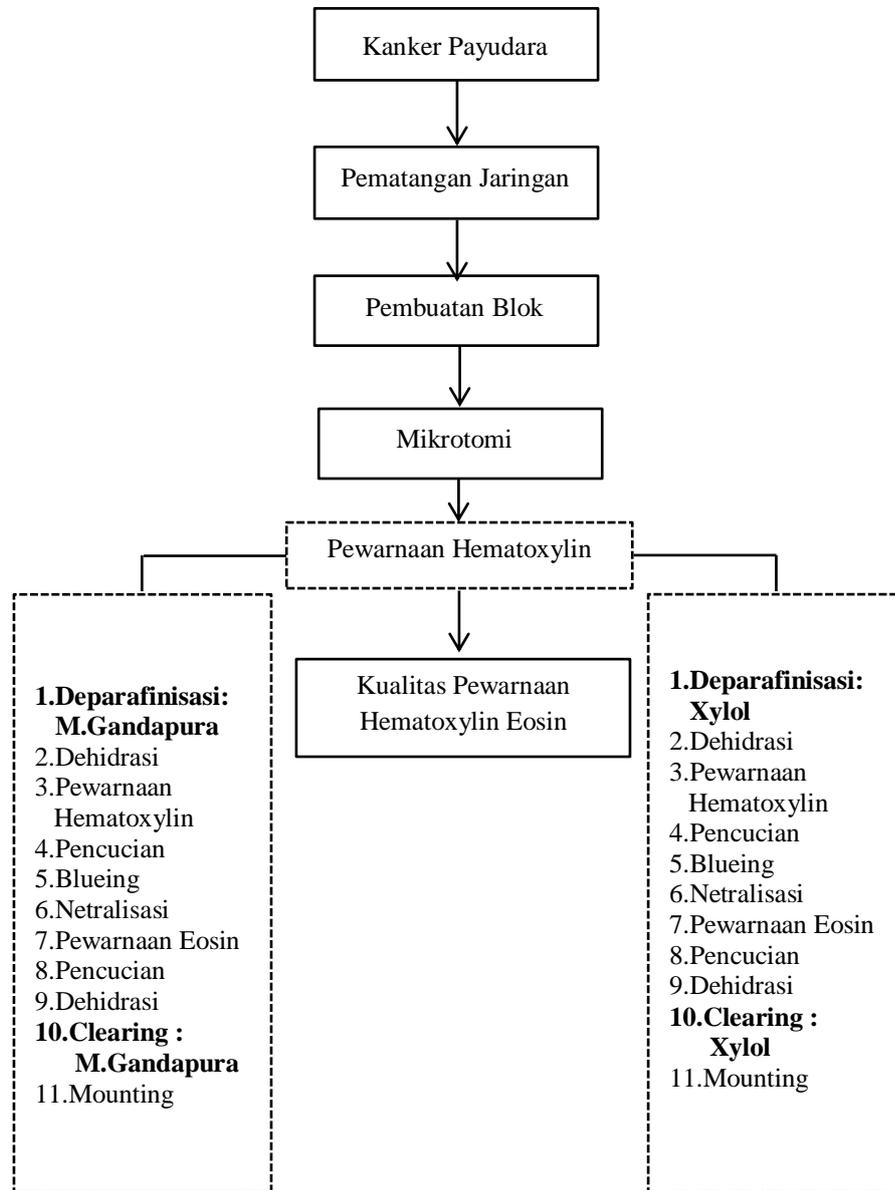
Minyak gandapura diperoleh melalui proses penyulingan dari daun dan gagang tanaman gandapura. Minyak gandapura dalam perdagangan internasional dikenal dengan istilah *wintergreen oil*. Komponen utama minyak gandapura adalah senyawa metil salisilat yang banyak digunakan dalam industri obat-obatan, bahan pewangi, serta industri makanan dan minuman. Kandungan metil salisilat dalam minyak gandapura mencapai 93-98%. Metil salisilat merupakan turunan dari asam salisilat yang berwarna kuning dengan bau menyengat seperti salep. Sifatnya tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkohol dan eter (Sulistyo, 2015).

Minyak gandapura yang bersifat non polar dapat melarutkan lemak yang terkandung dalam jaringan sehingga pori-pori jaringan terbuka dan energi kinetik dari molekul tingkat difusi jaringan menurun. Dengan penurunan tersebut maka cairan dehidrasi yang telah masuk ke dalam sel akan larut sehingga dapat tergantikan oleh lilin parafin yang berfungsi untuk memadatkan jaringan (Kristian,2018).

Minyak gandapura tidak berbahaya jika terkena kulit karena kandungan dari minyak ini tidak bersifat toksik bahkan dapat menjadi minyak gosok untuk menghangatkan tubuh seperti yang sudah diperjual belikan dipasaran, tidak ada efek samping yang dilaporkan akibat penggunaan minyak gandapura, namun jika terjadi efek samping segera hentikan penggunaan minyak gandapura (Shiva dkk, 1996). Salah satu bahaya dari penggunaan minyak gandapura adalah aromanya yang sangat menyengat yang apabila dihirup oleh orang yang belum terbiasa akan mengakibatkan alergi karena aromanya yang menyengat (Kristian, 2018)

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Erick Khristian pada tahun 2018 mengenai “Potensi Minyak Gandapura Sebagai Pengganti Xylol Dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit” Penggunaannya dilakukan ditahap pematangan dan pewarnaan dan Hasil penelitian menunjukkan penggunaan minyak gandapura secara deksripsi tidak berbeda dalam sediaan jaringan. Minyak gandapura disinyalir dapat merubah tingkat keasaman sel menuju basa yang ditandai dengan menurunkan intensitas inti dan meningkatnya intensitas sitoplasma.Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan kualitas pewarnaan yaitu penilaian secara mikroskopis agar kualitas pewarnaan dapat diketahui lebih akurat.

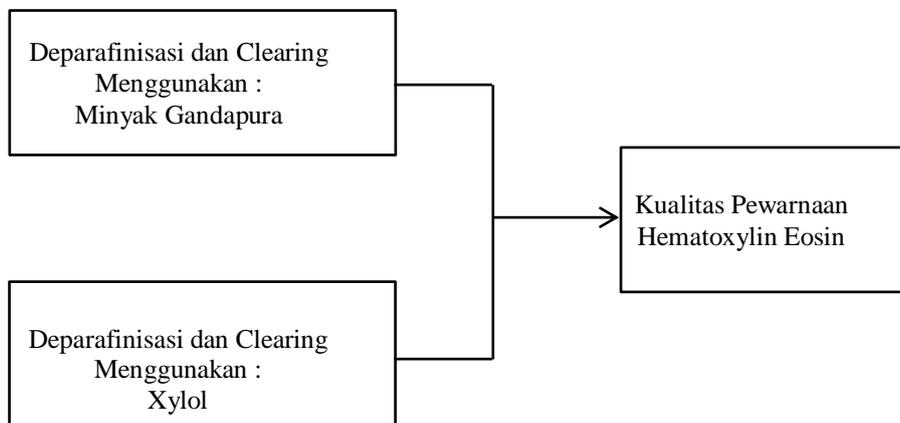
B. KERANGKA TEORI



Keterangan

- = Diteliti
 = Tidak diteliti

C. KERANGKA KONSEP



D. HIPOTESIS

- H0 : Tidak ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara diproses *Deparafinisasi* dan *clearing agent* menggunakan minyak gandapura dengan xylol
- H1 : Ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara diproses *Deparafinisasi* dan *clearing agent* menggunakan minyak gandapura dengan xylol