

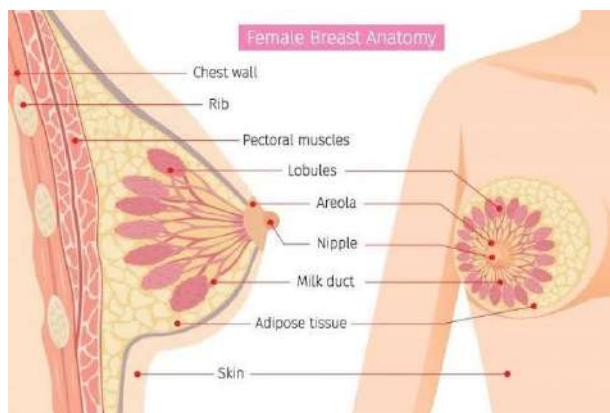
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Kanker Payudara

Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel tubuh yang tidak normal dan progresif. Penyakit ini terjadi karena adanya mutasi pada DNA, yang menyebabkan sel mengalami gangguan fungsi normal. Sel-sel kanker dapat menyerang jaringan dan organ sekitarnya dan menyebar kebagian tubuh yang lain melalui aliran darah atau sistem limfatis (Triansyah, 2023).



Sumber : (Triansyah, 2023)
Gambar 2.1 Jaringan payudara

a. Faktor Risiko

Ada beberapa faktor yang memengaruhi kejadian kanker payudara, yaitu:

1) Usia

Usia adalah salah satu faktor risiko yang signifikan terjadinya kanker payudara. Berdasarkan data epidemiologi, wanita yang berusia diatas 50 tahun memiliki kemungkinan lebih tinggi terkena kanker payudara (Ashariati, 2019).

2) Hormonal

Faktor hormonal seperti menstrual *history* mempunyai risiko lebih tinggi. Penggunaan hormon estrogen yang lama (lebih dari 8-10 tahun), telah terbukti dapat meningkatkan risiko timbulnya kanker payudara. Usia hamil pertama kali diatas 35 tahun, yang meningkatkan risiko 1,5-

4 kali lebih besar. Sedangkan tidak memiliki anak (*nulliparity*) yang meningkatkan risiko 1,3-4 kali lebih besar berisiko terkena kanker payudara (Ashariati, 2019).

3) Keturunan (*family history*)

Keturunan merupakan salah satu faktor risiko dengan kanker payudara, terutama ibu atau saudari, memiliki risiko 3 kali lebih tinggi untuk terkena kanker payudara, terutama pada usia premenopause. Selain itu, pria dengan *sindrom Klinefelter* juga memiliki risiko yang tinggi untuk terkena kanker payudara (Ashariati, 2019).

4) Gaya hidup

Kebiasaan mengonsumsi makanan tidak sehat juga dapat berperan dalam memengaruhi terjadinya kanker payudara. Penelitian pada binatang percobaan menunjukkan bahwa konsumsi lemak dapat mempengaruhi pertumbuhan kanker payudara. Selain itu, penelitian lain juga menemukan bahwa mengonsumsi alkohol dapat meningkatkan risiko kanker payudara pada wanita, karena alkohol dapat meningkatkan produksi estrogen (Ashariati, 2019).

b. Pendekatan Diagnosis

1) Anamnesis

- a) Adakah keluhan pada payudara berupa adanya benjolan? Yang pada umumnya benjolan ini tidak disertai dengan rasa nyeri;
- b) Atau apakah ada luka, *nipple discharge*, kulit jeruk, puting yang tertarik, dan adanya keluhan-keluhan organ target *metastasis* contohnya seperti nyeri tulang, keluhan paru, atau liver, ataupun otak;
- c) Kapan terjadinya adanya keluhan;
- d) Bagaimana menstruasinya (*premenopause* atau *sudah postmenopause*);
- e) keluarga yang menderita kanker.

2) Pemeriksaan Fisik

- a) Status lokalis pada payudara kanan dan kiri
 - Memeriksa perubahan kulit dan benjolan pada payudara.

- Adanya benjolan? (ukuran, tunggal-multiple, tidak bisa digerakkan, nyeri tekan)
 - *Discharge* puting (apakah berupa darah?)
 - Puting masuk kedalam
- b) Status *node limfe aksila, supraklavikula*, leher sisi kanan – kiri.
- c) Memeriksa organ target metastasis seperti liver, paru, tulang, otak, dan organ lain untuk menentukan adanya metastasis.
- d) Penyakit penyerta seperti tanda klinis penyakit ginjal, liver, jantung, paru, serta riwayat alergi (Ashariati, 2019).
- 3) Pemeriksaan Radiologi (*imaging*)
- a) Utama: USG payudara/ kelenjar aksila, mamografi, foto toraks, USG *liver, Bone Scan*.
 - b) MRI payudara (khusus untuk kemoterapi neoajuvan)
 - c) MRI otak untuk kasus secara klinis ada dugaan metastasis
 - d) CT Scan, PET Scan (kondisi tertentu) (Ashariati, 2019).
- 4) Pemeriksaan Laboratorium

Laboratorium darah : DL, SGOT/PT/Bilirubin, Alkali fosfatase, serum kalsium, gula darah, BUN/Scr.

Status histopatologi : Ukuran tumor (pT), derajat *diferensiasi (grade)*,

- Status kelenjar aksila yang terinvansi (pN).
- Invasi pembuluh darah, saraf.

2. Histologi

Histologi merupakan kata berasal dari bahasa Yunani, histos yang memiliki arti jaringan dan logos yang artinya ilmu pengetahuan. Istilah kata histologi sendiri telah dipakai oleh Mayer sejak tahun 1819. Histologi adalah suatu cabang anatomi jaringan tumbuhan dan hewan, histologi dalam arti yang luas merupakan sinonim bagi anatomi mikroskopik, hal ini disebabkan karena bukan hanya struktur jaringan saja sebagai bahan pembahasannya melainkan mencakup organ, sel dan sistem organ. Hingga saat ini berbagai teknik telah dikembangkan, agar se bisa mungkin untuk menyerupai keadaan alami ketika masih hidup, langkah yang diperlukan mencakup fiksasi, dehidrasi,

pembeningan, pemberaman, pemotongan, pelekatan dan pewarnaannya, sehingga pada pemeriksaan secara mikroskopis dibawah mikroskop berbagai unsur jaringan tersebut dapat dibedakan (Gartner & Hiatt, 2007).

3. Pembuatan Sediaan Histopatologi

Sediaan ideal untuk histologi yang akan di periksa secara mikroskopis harus dibuat sedemikian rupa agar jaringan pada sediaan tersebut terjaga, dan tetap memiliki struktur serta komposisi molekul yang menyerupai seperti didalam tubuh. Ada beberapa tahapan yang perlu dilakukan terhadap jaringan sebelum diperiksa dibawah mikroskop antara lain :

a) Fiksasi

Fiksasi merupakan tahapan pertama pengolahan jaringan dalam proses pembuatan sediaan histopatologik. Fiksasi biasanya dilakukan dengan menggunakan larutan formalin 10%, dengan tujuan umum untuk menjaga adanya komponen sel dan jaringan, ketika sel itu masih dalam kondisi hidup, menjaga struktur dan komponen kimiawi, mengeraskan Sel dan Jaringan, serta menempelkan sel ke kaca objek (Khristian & Dewi, 2017).

b) Pematangan Jaringan

Pematangan jaringan merupakan suatu proses yang dilakukan terhadap jaringan untuk pengeluaran air dan larutan fiksatif yang terdapat di dalam jaringan, lalu akan di gantikan dengan mediayang menyebabkan jaringan tersebut menjadi kaku, dan jaringan tersebut dapat dilakukan pemotongan dengan ukuran yang ketebalannya sangat tipis. Media yang sering di gunakan untuk menanam jaringan adalah (Khristian & Dewi, 2017).

Pematangan jaringan melibatkan beberapa langkah, diantaranya termasuk:

1) Dehidrasi (*Dehydration*)

Dehidrasi merupakan tahap pertama yang dilakukan saat pematangan jaringan, tujuan nya untuk menghilangkan adanya kandungan air dalam jaringan dapat mengganggu proses pengawetan dan penjernihan. Larutan formalin yang digunakan untuk pengawetan jaringan memiliki sifat aquosa, sehingga air dalam jaringan perlu dihilangkan secara perlahan untuk mencegah jaringan mengkerut secara spontan. Larutan yang digunakan pada

proses ini yaitu menggunakan larutan alkohol, alkohol yang digunakan adalah alkohol yang sudah dilakukan pengenceran dengan beberapa konsentrasi. Dehidrasi yang baik dengan alkohol dimulai dari konsentrasi yang rendah ke konsentrasi tinggi secara perlahan. Semakin kecilnya perbedaan konsentrasi pada tahap dehidrasi maka semakin optimal air yang akan keluar (Khirstian & Dewi, 2017).

2) Pembeningan (*Clearing*)

Pembeningan adalah suatu cara yang digunakan agar jaringan menjadi jernih dan transparan. Tahap ini bertujuan untuk mengeluarkan cairan dehidrasi seperti alkohol lalu menggantinya dengan larutan yang dapat berikatan dengan media infiltrasi seperti parafin. Pada tahap ini cukup krusial karena apabila didalam jaringan tersebut masih terdapat alkohol maka parafin tersebut tidak bisa masuk kedalam jaringan, hal ini dapat menyebabkan jaringan tidak sempurna dalam proses blocking, pemotongan dan juga proses pewarnaan. Reagen yang digunakan untuk pembeningan akan bertindak sebagai perantara larutan dehidrasi dan infiltrasi. Proses pembeningan dilakukan dengan menggunakan agen pembeningan. Ada beberapa macam pembeningan yang rutin digunakan antara lain: xilol, toluen, kloroform, xilol substitusi, dan citrus Fruit Oil (Khristian & Dewi, 2017).

3) Infiltrasi

Proses infiltrasi merupakan langkah memasukkan materi atau filtrat tertentu ke dalam jaringan, yang menyebabkan jaringan tersebut mengeras pada suhu ruang. Tujuan dari reagen infiltrasi adalah untuk menjaga fungsi sel dan komponen ultrastruktural selama proses pemotongan. Parafin adalah bahan infiltrasi dan embedding yang paling sering digunakan. Parafin tersedia dalam berbagai jenis dengan titik leleh yang berbeda-beda serta zat aditif untuk menghasilkan potongan jaringan berkualitas tinggi. Beberapa ahli menyarankan penggunaan parafin dengan titik leleh yang lebih rendah untuk mempercepat proses infiltrasi (Khristian & Dewi, 2017).

4) Penanaman Jaringan

Setelah pematangan jaringan, langkah selanjutnya adalah menanam jaringan pada base mold. Jaringan diambil dari kaset dan ditempatkan pada base mold, kemudian dituangkan parafin cair yang sama dengan yang digunakan pada proses infiltrasi. Tahap penting pada proses ini adalah menyesuaikan jaringan dengan baik untuk memudahkan proses pemotongan. Jaringan dapat letakkan pada ujung, tepi, atau permukaan, tergantung pada jenis jaringan yang ditanam. Pengeblokan yang baik dapat dilihat dari blok parafin jaringan yang kompak, tidak mudah retak, dan jaringan yang menyatu dengan parafin. Hal ini memungkinkan jaringan untuk ikut terpotong bersama dengan blok parafin saat pemotongan. Perlu diingat bahwa tidak boleh melakukan intervensi seperti memijat blok jaringan yang belum padat, karena dapat merusak blok jaringan itu sendiri (Khristian & Dewi, 2017).

5) Pemotongan Blok Menggunakan Mikrotom

Tahapan pemotongan yang perlu dilakukan secara berurutan untuk memperoleh pita jaringan yang berkualitas meliputi pemotongan kasar dan pemotongan halus. Kedua tahap ini harus dilakukan dengan hati-hati agar tidak menimbulkan artefak pada pita jaringan, yang dapat menyulitkan proses pengamatan.

a) Potong Kasar (*Trimming*)

Proses potong kasar (*trimming*) adalah langkah awal dalam memotong blok jaringan. Tujuannya adalah untuk menghilangkan kelebihan parafin yang menutupi jaringan, sehingga permukaan jaringan terbuka dan siap untuk dipotong lebih lanjut. Pemotongan kasar ini dilakukan dengan ketebalan sekitar 15-30 mikrometer. Proses ini memerlukan ketelatenan dan kehati-hatian, karena salah potong dapat menyebabkan blok jaringan pecah dan merusak jaringan di dalamnya (Khristian & Dewi, 2017).

b) Potong Halus

Potong halus (*trimming*) adalah proses potong halus untuk menghasilkan pita jaringan yang tipis dengan ketebalan 3- 4 μ m, sebelum dilakukan pemotongan halus blok jaringan tersebut harus didinginkan terlebih dahulu supaya dapat memberikan suhu yang stabil pada blok paraffin dan jaringan. Hasil pemotongan yang ideal harus saling menempel dan membentuk pita dengan ketebalan yang seragam (Khristian & Dewi, 2017).

6) Floating

Proses floating atau penempatan pita jaringan pada air hangat sebelum dipasang pada kaca objek bertujuan untuk mengurangi lipatan pada pita jaringan. Setelah pita jaringan menempel pada kaca objek, langkah berikutnya adalah mengeringkan sediaan untuk menghilangkan sisa air yang masih tertinggal di bawah pita jaringan (Mayangsari, 2019).

Setelah pita jaringan menempel pada kaca objek, langkah selanjutnya adalah mengeringkan sediaan untuk menghilangkan sisa kelembaban. Proses pengeringan dapat dilakukan di oven atau hotplate dengan suhu yang terkendali, karena suhu yang terlalu tinggi dapat merusak struktur jaringan. Suhu ideal adalah 37°C selama satu malam. Setelah kering, sediaan dapat dilanjutkan dengan proses pewarnaan sesuai kebutuhan. (Khristian & Dewi, 2017).

7) Pewarnaan Sediaan

Pewarnaan sediaan sangat penting untuk memvisualisasikan komponen jaringan yang transparan setelah proses pematangan. Dengan pewarnaan, struktur dan morfologi jaringan dapat terlihat lebih jelas, dan keberadaan sel-sel jaringan tertentu akan terlihat. Pewarnaan rutin yang sering digunakan untuk histopatologi adalah pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) (Khristian & Dewi, 2017). Prinsip sederhana pewarnaan ini memiliki sifat asam-basa larutan, yang akan berikatan dengan komponen jaringan sesuai dengan sifat asam atau basanya. Yang akan terbentuk ikatan antara molekul zat

warna dan komponen jaringan. Pewarnaan HE terjadi karena adanya ikatan antara molekul pewarna dan komponen jaringan. Hasilnya, inti sel akan berwarna biru karena pewarnaan hematoxilin, sedangkan sitoplasma dan kolagen akan berwarna merah karena pewarnaan eosin (Khristian & Dewi, 2017).

Prosedur pewarnaan HE meliputi dari beberapa tahapan, yaitu sebagai berikut:

1) Deparafinisasi

Tahapan pertama yaitu deparafinisasi suatu proses yang dilakukan untuk melarutkan parafin sebelum dilakukan pewarnaan pada preparat jaringan. Biasanya tahapan ini menggunakan xylol sebagai pelarut organic (Mayangsari et al., 2019).

2) Rehidrasi

Rehidrasi adalah tahap selanjutnya setelah defarafinisasi proses ini merupakan proses yang dilakukan untuk penarikan air dan memasukan alkohol dengan penurunan konsentrasi alkohol dari yang tertinggi hingga yang terendah (Khristian & Dewi, 2017)

3) Pewarnaan Inti

Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) ini mempunyai prinsip sederhana, yaitu pewarnaan ini memiliki sifat asam basa yang terdapat dari larutan lalu akan berikatan dengan komponen- komponen jaringan yang mempunyai kecenderungan terhadap sifat dari asam maupun basa tersebut, sehingga dapat menyebabkan ikatan antara komponen jaringan dengan molekul zat warna yang terdapat didalamnya (Khristian & Dewi, 2017). Hematoxilin merupakan zat warna yang akan mewarnai inti sel sehingga dapat memberikan warna biru kehitaman, serta menunjukkan hasil detail intranuklear yang cukup jelas (Bancroft & Layton, 2018).

4) Pencucian

Pencucian dilakukan dengan menggunakan air mengalir secara perlahan- lahan, hingga warna yang didapatkan dari pewarna sebelumnya tersebut tidak luntur dan tidak mengganggu tahap berikutnya (Khristian & Dewi, 2017).

5) Blueing

Tahap berikutnya yaitu Blueing, tahap ini diperlukan untuk mengubah pewarnaan inti dari ungu kemerahan menjadi warna biru atau ungu jernih. Yang mana agen bluing bersifat basa dengan pH kisaran optimal 7,5-9,0. Cara kerja bluing ini yaitu dengan meningkatkan pH, lalu mengurangi H⁺ pada larutan yang berefek pada struktur dari hematoxylin, lalu juga mampu menghilangkan H⁺ dari struktur ring (Khristian & Dewi, 2017).

6) Pewarnaan Sitoplasma

Eosin mempunyai sifat asam, dan dengan kemampuan diferensiasi yang baik untuk membedakan antara sitoplasma dengan berbagai macam jenis sel, serat dan juga matriks jaringan ikat. Berbeda dari hematoksilin, eosin merupakan zat warna yang akan mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah (Bancroft & Layton, 2018).

7) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan Proses ini bertujuan untuk mengeluarkan air bebas yang tidak terikat serta larutan fiksatif. Dehidrasi harus dilakukan secara bertahap, di mana spesimen diproses melalui peningkatan konsentrasi alkohol secara bertingkat seperti alkohol 70%, 80%, dan 90% (Khristian & Dewi, 2017).

8) Penjernihan (*Clearing Agent*)

Pada tahap ini dilakukan dengan menggunakan xylol 1, dan xylol 2. Clearing agent merupakan proses yang dilakukan setelah dehidrasi dengan tujuan menjadikan jaringan lebih jernih dan transparan. Tahap ini berfungsi untuk menjernihkan jaringan agar tampak jelas, terwarnai dengan baik, serta menampilkan warna sesuai dengan pewarna yang digunakan. Selain itu, clearing agent juga berperan sebagai perantara dalam penetrasi jaringan ke dalam paraffin (Prasetya, 2022).

9) Penutupan Sediaan (*Mounting*)

Pada proses mounting dilakukan dengan menggunakan deck glass berupa kaca penutup. Proses *mounting* (perekatan atau penutupan) merupakan proses perekatan sampel atau spesimen yang diletakkan pada permukaan kaca objek kemudian ditutup dengan kaca penutup

(*cover glass*) menggunakan bahan perekat atau *mountant*. *Mountant* merupakan suatu zat yang mengisi antara sediaan preparat dengan kaca penutup (*cover glass*). Proses *mounting* harus dilakukan saat sediaan masih basah oleh larutan xylol, sehingga perekat dapat menyatu dengan jaringan secara optimal (Novita, 2023).

10) Pelebelan (*Labelling*)

Pelebelan sediaan merupakan tahap akhir yang harus diperhatikan pemberian label secara lengkap serta akurat. Label diisi dengan identifikasi pasien, tanggal, dan juga sumber spesimen yang digunakan tersebut. Pelabelan dilakukan dengan menggunakan pensil tebal untuk label slide, jangan gunakan stiker label (Khristian & Dewi, 2017).

4. Eosin

Eosin adalah pewarna sintetis golongan xanthene yang bersifat asam. Eosin mengikat protein yang bermuatan positif di sitoplasma dan juga jaringan ikat, dan dapat terwarnai dengan nuansa merah dan oranye. Selain itu, eosin juga dapat mengubah warna inti sel yang telah diwarnai oleh hematoxilin dari biru menjadi ungu. Eosin terdiri dari beberapa jenis di antaranya terdapat Eosin B (Eosin kebiruan, eritrosin B), Eosin S (Etil eosin, larut dalam alkohol), dan Eosin Y (Eosin berwarna kekuningan dan larut didalam air). Namun diantara ketiga eosin tersebut yang paling sering digunakan dan juga di gabungkan dengan hematoxilin adalah Eosin Y (Khristian & Inderiati, 2017).

Eosin merupakan salah satu zat warna yang digunakan untuk mewarnai jaringan, tentunya hal ini akan sangat membantu untuk pengamatan sediaan jaringan dibawah mikroskop tentunya hal tersebut dapat mempermudah proses diagnosa yang dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi (Khristian & Inderiati, 2017).

a) Fungsi Eosin

Di dalam saat pembuatan sediaan jaringan, eosin akan sangat berguna pada proses pewarnaan, Fungsi eosin adalah untuk mengikat molekul dari protein yang memiliki muatan positif. Eosin mampu mewarnai sitoplasma jaringan ikat sehingga memiliki nuansa yang berwarna merah dan oranye.

Selain itu juga Eosin mampu mewarnai inti sel yang sebelumnya telah terwarnai oleh hematoxilin dari berwarna biru hingga menjadi warna ungu (Khristian & Dewi, 2017).

b) Paparan Eosin

Eosin merupakan Pewarna sintetis, yang diproduksi dari batu bara, dapat membahayakan kesehatan dan lingkungan. Paparan singkat terhadap pewarna ini dapat menyebabkan iritasi kulit, mata, dan selaput lendir, serta dapat memicu dermatitis dan stomatitis. Pewarna sintetis mengandung bahan kimia berbahaya seperti klorat hidrat, asam pikrat, potassium dikromat, dan lainnya yang bersifat karsinogenik bagi tubuh Eosin merupakan zat warna yang terbuat dari bahan kimia yang memiliki sifat karsinogenik (Rahmawati, 2023).

Penggunaan eosin bersifat karsinogenik apabila digunakan dalam jangka panjang. Efek negatif dari penggunaan dapat menyebabkan kanker dan sisa limbah dapat merusak (Jumardi, 2023).

5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kestabilan Ekstrak

Stabilitas dapat didefinisikan sebagai kemampuan suatu bahan untuk dapat bertahan dalam batas yang ditetapkan selama periode masa simpan dan penggunaan agar kualitas dan karakteristiknya masih sama seperti pada saat awal pembuatan. Stabilitas suatu senyawa sangat dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan dari bahan yang mengandung senyawa tersebut. Kerusakan ekstrak pewarna pada saat penyimpanan biasanya disebabkan oleh beberapa faktor, pH awal dan suhu selama penyimpanan. Suhu akan mempercepat reaksi antara zat warna dengan oksigen bebas sehingga proses oksidasi akan semakin cepat berlangsung (Perdisen, 2021). Suhu penyimpanan berpengaruh terhadap kerusakan antioksidan, penyimpanan pada suhu rendah mampu menghambat aktivitas enzim dan reaksi – reaksi kimia serta menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroba. Tujuan penyimpanan suhu rendah (10°C) adalah untuk mencegah kerusakan tanpa mengakibatkan perubahan yang tidak diinginkan dan memperlambat kecepatan reaksi – reaksi metabolisme seperti terjadinya pembusukan

(Wulansari, 2020).Kualitas kandungan bahan aktif dalam tanaman dapat dipengaruhi oleh cara penyimpanan dan pemanasan. (Peloan, 2020).

6. Tumbuhan Jati (*Tectona grandis*)

Tanaman jati yang masih berada dihutan sekarang ini tidaklah terlepas adanya budi daya hutan. Pohon jati dapat tumbuh optimal didaerah dengan curah hujan 1.200-2000 mm/tahun dan suhu 27-36°C, baik di dataran rendah maupun tinggi. Tanah dengan pH 6-8 sangat cocok untuk pertumbuhan jati, meskipun dapat tumbuh di pH 4,5. Pohon jati dapat mencapai ketinggian 30-40 m dengan struktur batang yang berkayu, berbalur, dan tidak teratur, berwarna cokelat keabu-abuan dengan alur memanjang yang terpecah-pecah. Menurut ilmu botani, taksonomi dan klasifikasi tumbuhan jati adalah sebagai berikut : (Sumarna, 2015).

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Superdivisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Subkelas	:	Asteridae
Ordo	:	Lamiales
Famili	:	Verbenaceae
Genus	:	Tectona
Spesies	:	<i>Tectona grandis</i>

Daun jati memiliki bentuk tajuk tidak beraturan, struktur pangkal dan ujungnya meruncing,pertulangan menyirip dan permukaannya kasar.Daun berbentuk bulat telur terbalik,berukuran besar dan herhadapan dengan tangkai yang amat pendek dan memiliki ukuran 60-70 cm x 80-100 cm. Permukaan bawah daun ditumbuhi bulu-bulu halus serta memiliki rambut kelenjar.Serta daun muda yang berwarna kemerahan (Purwanta, 2015)



Sumber : (Rosyida, 2014)
Gambar 2.2 Daun Jati (*Tectona Grandis*)

Daun jati (*Tectona grandis*) termasuk tanaman dalam famili *Verbenaceae* yang bisa dijadikan sebagai pewarna alami karena mengandung pigmen antosianin (Khasanah, 2014). Daun jati (*Tectona grandis Linn.*) mengandung senyawa metabolit sekunder, antosianin merupakan senyawa yang berperan sebagai pigmen alami berwarna merah. Kandungan antosianin ini terutama terdapat pada daun jati muda dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan tersebut berkaitan erat dengan struktur kimia antosianin; semakin banyak gugus hidroksil fenolik yang dimiliki, maka semakin tinggi pula kemampuan antioksidannya (Rahmadani, 2024).

7. Metabolit Sekunder dan Fitokimia pada daun jati

a. Fenolik

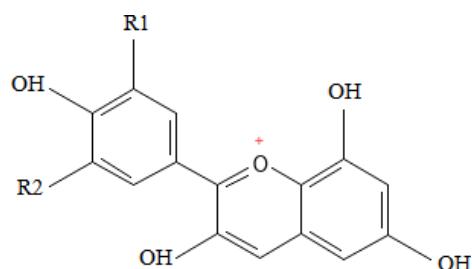
Senyawa fenolik dicirikan dengan adanya paling tidak sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat dengannya. Ada beberapa pendekatan dalam pengelompokan senyawa fenol. Di antaranya dibedakan berdasarkan jumlah gugus hidroksil pada cincin aromatiknya, di mana ada 1-, 2-, atau polyatomic fenol. Selain itu ada pengelompokan berdasarkan jumlah cincin aromatik dan jumlah atom karbon pada rantai samping (Agung dan Nugroho, 2017).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan polifenol yang terdiri dari 15 atom karbon, dengan dua cincin aromatik (cincin A dan cincin B) yang terhubung melalui sebuah jembatan dengan tiga atom karbon (cincin C), seperti terlihat pada Gambar 2.10. Gugus hidroksil umumnya hadir pada posisi

atom no 4, 5, dan 7. Gula sangat umum hadir terikat dengan flavonoid membentuk senyawa glikosida. Keberadaan gugus hidroksil dan gula meningkatkan polaritas dan kelarutan pada air (Agung dan Nugroho, 2017).

- c. Saponin adalah terbentuknya busa ketika dimasukkan dalam air. Pada umumnya saponin ditemukan dalam bentuk glikosida sebagai amphipatic glycoside, yaitu glikosida yang memiliki sifat hidrofilik (suka air) maupun lipofilik (suka minyak), seperti sifat pada sabun atau sampo. Aglicone atau struktur tanpa gula dari saponin dinamakan sapogenin. Sapogenin mengandung steroid atau triterpene lain sebagai fitur organik utama. Steroid merupakan komponen organik yang terdiri dari empat cincin yang tersusun unik (Agung dan Nugroho, 2017).
- d. Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom nitrogen dalam struktur kimianya. Alkaloid merupakan golongan metabolit sekunder yang memiliki jenis yang paling banyak. Paling tidak ada sekitar 15.000 jenis alkaloid yang telah diketahui. Meskipun asam nukleat, asam amino peptida, protein, nukleotida, amina, dan antibiotik adalah beberapa senyawa yang mengandung nitrogen, tetapi mereka tidak disebut sebagai alkaloid (Agung dan Nugroho, 2017).
- e. Antosianin

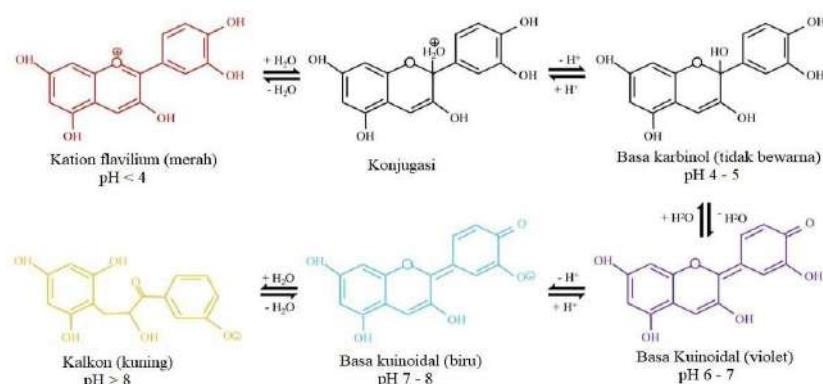


Gambar 2.3 Struktur kimia antosianin

Sumber : (Ifadah, 2022)

Antosianin merupakan salah satu senyawa yang termasuk dalam kelompok flavonoid, dengan struktur dasar berupa dua cincin aromatik benzena (C_6H_6) yang saling terhubung melalui rantai tiga atom karbon yang membentuk cincin heterosiklik. Struktur antosianin tersusun atas

aglikon (disebut antosianidin) yang terkonjugasi dengan satu atau lebih gugus gula (glikon). Hingga saat ini, telah diidentifikasi sekitar 600 jenis antosianin yang berasal dari berbagai spesies tumbuhan. Keberagaman struktur antosianin ditentukan oleh jumlah dan posisi gugus hidroksil serta jenis dan lokasi keterikatan gugus gula pada molekulnya. Gugus gula yang umumnya ditemukan pada antosianin meliputi glukosa, ramnosa, galaktosa, dan arabinosa, baik dalam bentuk monosakarida maupun disakarida. Selain itu, gugus gula tersebut dapat mengalami asilasi dengan asam fenolat atau asam alifatik, sehingga memperkaya kompleksitas struktur antosianin. Secara umum, antosianin di alam terkonsentrasi dalam enam bentuk utama antosianidin, yaitu sianidin (Cy), pelargonidin (Pg), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt), dan malvidin (Mv), dengan proporsi distribusi masing-masing sebesar 50% (Cy), 12% (Pg), 12% (Pn), 12% (Dp), 7% (Pt), dan 7% (Mv) (Khoo et al., 2017). Berdasarkan jumlah dan posisi gugus glikosida yang terikat, antosianin diklasifikasikan ke dalam empat kelompok, yaitu 3-monosida, 3-biosida, 3,5-diglikosida, dan 3-glikosida. Dari berbagai bentuk tersebut, sianidin 3-glikosida diketahui merupakan bentuk yang paling dominan ditemukan di alam (Ifadah, 2022).



Gambar 2.4 Gambar 2. Bentuk kesetimbangan antosianin
Sumber : (Ifadah, 2022)

Stabilitas antosianin dapat ditingkatkan melalui mekanisme ko-pigmentasi. Proses ko-pigmentasi ini juga dapat terjadi dengan adanya ion

logam bervalensi dua atau tiga, seperti magnesium (Mg^{2+}) dan aluminium (Al^{3+}), yang mampu membentuk kompleks dengan antosianin sehingga menghasilkan warna biru yang lebih stabil. Pembentukan kompleks ini berkontribusi terhadap peningkatan kestabilan molekul antosianin. Terdapat dua mekanisme utama dalam proses ko-pigmentasi. Pertama, melalui interaksi intramolekuler berupa ikatan kovalen antara gugus aglikon pada antosianin dengan senyawa lain seperti asam organik, senyawa aromatik, flavonoid, maupun kombinasi dari ketiganya. Kedua, melalui interaksi intermolekuler yang melibatkan pembentukan ikatan hidrofobik lemah antara antosianin dan flavonoid (Ifadah, 2022).

8. Kualitas Pewarnaan Preparat

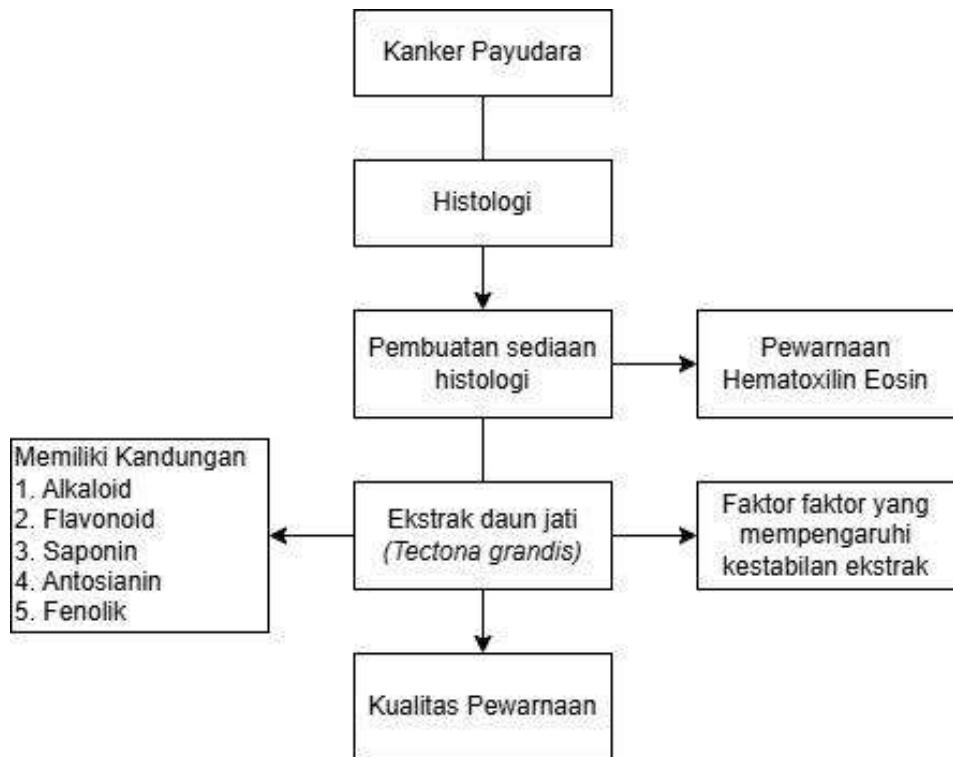
Menurut BPMPI, penilaian kualitas pewarnaan preparat jaringan kanker payudara nantinya akan dinilai oleh dokter spesialis patologi anatomi berdasarkan dengan penilaian skoring. Skor maksimum yang mungkin diperoleh untuk satu kasus dengan mempertimbangkan keempat faktor. Sediaan dinilai baik apabila rerata skor antara 7-8 dan tidak baik dengan skor 4-6. Adapun parameter penilaian dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2.1 Kriteria penilaian kualitas pewarnaan

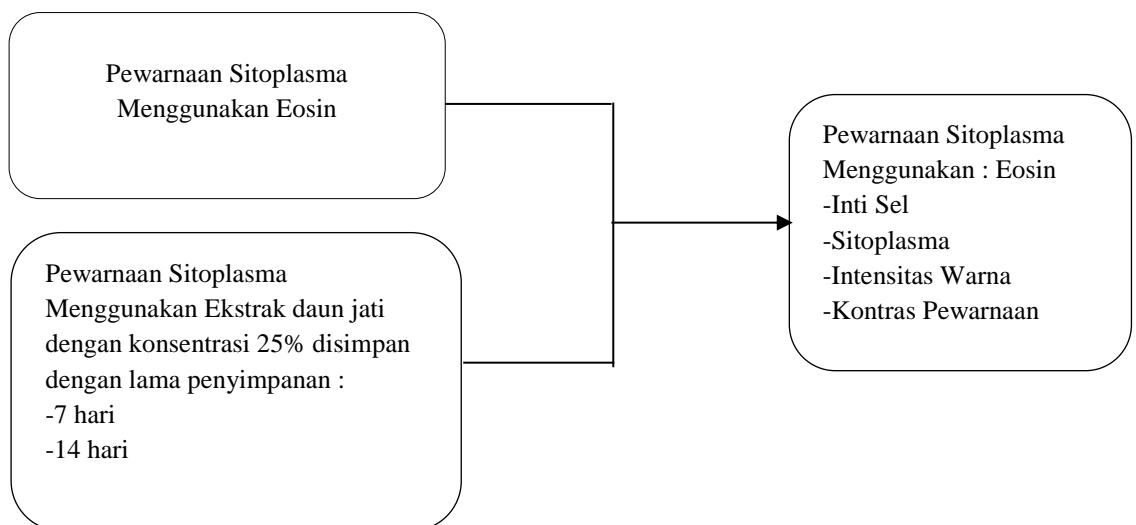
No.	Parameter Penilaian	Deskripsi	Skor
1	Inti sel	Warna ungu kebiruan pada inti sel kurang	1
		tampak jelas Warna ungu kebiruan pada intisel terlihat dengan jelas	2
2	Sitoplasma	Warna merah muda pada sitoplasma terlihat	1
		kurang jelas Warna merah muda pada sitoplasma terlihat jelas	2
3	Intensitas pewarnaan	Tingkat kejelasan warna dari pewarnaan yang tampak lemah/pudar Tingkat kejelasan warna dari pewarnaan yang tampak kuat atau padat.	1
			2
4	Kontras pewarnaan	Tidak ada perbedaan kontras yang jelas antara warna ungu kebiruan pada inti sel dan merah muda pada sitoplasma Ada perbedaan kontras yang jelas antara warna ungu kebiruan pada intisel dan merah muda pada sitoplasma	1
			2

Sumber : (Sravya, 2018) dari modifikasi BPMPI

B. Kerangka Teori



C. Kerangka konsep :



D. Hipotesis

Ho: Tidak ada perbedaan kualitas pewarnaan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara pada proses Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) menggunakan pewarna eosin dan ekstrak daun jati dengan variasi waktu 7 hari dan 14 hari dengan konsentrasi 25% .

H1: Terdapat perbedaan kualitas pewarnaan sediaan histopatologi jaringan kanker payudara pada proses Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) menggunakan pewarna eosin dan ekstrak daun jati dengan variasi waktu 7 hari dan 14 hari dengan konsentrasi 25% .