

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Histologi yaitu ilmu yang mempelajari tentang jaringan dan teknik pada bidang mikroteknik atau histoteknik (Fatarani *et al.*, 2023). Diagnostik atau sitologi klinis merupakan studi tentang melihat normal atau ada tidaknya dari sel yang diperoleh. Sediaan histologi dikatakan baik maka kualitas dari persiapan materi sampai dijadikan sediaan wajib diketahui dengan benar dari persiapan, pengecatan, dan interpretasi dari sediaan tersebut (M. S. Hidayat & Dewi, 2024).

Histoteknik adalah serangkaian proses yang memiliki metode yang bahan spesimennya berasal dari pembuatan sediaan specimen tertentu sehingga menjadi sediaan yang dianalisis (Yulanda, 2023). Spesimen hewan banyak tidak memiliki warna, maka pada tahap pewarnaan memiliki tujuan utama untuk mewarnai jaringan yang transparan dengan pigmen warna. Pewarnaan ada ikatan antar molekul dengan komponen jaringan yaitu keduanya akan menyatu dan menghasilkan warna tersebut (Purwani, 2024).

Pewarnaan histologi merupakan proses memperjelas struktur dan komponen spesifik dalam jaringan. Pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE) menjadi salah satu teknik pewarnaan yang paling banyak digunakan. Proses pembuatan preparat sediaan histologi memiliki beberapa tahap yaitu fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembersihan (*clearing*),

pembenaman (*embedding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*), dan pelabelan (*labeling*). Komponen jaringan dengan muatan negative (*anionik*) lebih mudah dipulas dengan pewarna basa yakni basofilik(Sukeksi *et al.*, 2022) .

Hematoxylin menjadi pewarna basa yang mewarnai unsur basofilik menjadi warna biru pada jaringan. Pada pewarnaan histologi metode yang digunakan untuk warna organel seluler tersebut, dapat memudahkan pengamatan dibawah mikroskop. Tujuan pewarnaan yaitu meningkatkan visibilitas diferensiasi serta elemen jaringan yang terlihat pada bawah mikroskop. Proses pewarnaan Hematoxylin Eosin menjadi salah satu pewarnaan yang sering digunakan(Jumardi *et al.*, 2023).

Eosin mengandung senyawa asam fluoresen yang terbentuk dari bromin dan fluorescein. Eosin termasuk pewarna dalam kelompok xanthene berjenis sintetis. Pada jaringan ikat dan sitoplasma menjadi warna oranye kemerahan merupakan kemampuan dari eosin. Eosin memiliki kemampuan untuk mengikat molekul protein bermuatan positif di sitoplasma serta jaringan ikat yang berarti termasuk golongan zat asam. Eosin dapat merubah sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah muda (Soesilawati, 2020).

Prinsip pewarnaan yaitu terjadinya afinitas antara jaringan dan bahan pewarna, dengan adanya bahan cat berikatan dengan jaringan secara langsung ataupun tidak langsung kecuali diberikan bahan perantara yang biasa yang disebut mordant (Tutik & Sayekti, 2023). Ketika afinitas eosin

bekerja, maka sitoplasma sel dan jaringan akan terwarnai merah muda (Mescher, 2016). Sifat yang dimiliki yaitu ketika media asam berubah menjadi warna merah dan pada media basa akan berubah menjadi biru serta ungu.

Eosin memiliki sifat karsinogenik apabila digunakan dapat menjadi potensi efek negative pada tubuh jika dikonsumsi yang timbul iritasi pada saluran pencernaan, ataupun kontak langsung dengan kulit serta terhirup menyebabkan iritasi dan sianosis maka diperlukan bahan alternative (Fatarani *et al.*, 2023). Menurut jurnal IARC, 2020 bahwa pewarna Eosin merupakan bahan kimia yang termasuk sebagai zat kimia yang memiliki sifat karsinogenik IARC kelas – 3, dimana kurang adekuat yang memiliki sifat karsinogen terhadap lingkungan, manusia, dan hewan. Sehingga dapat dikatakan kurang ramah lingkungan jika tidak hati – hati penanganannya.

Penggunaan bahan alami sebagai pengganti *counterstain* harus melalui proses pembuatan untuk mendapatkan cairan atau serbuk yang digunakan untuk pewarnaan. Proses ekstraksi menjadi salah satu metode untuk memperoleh ekstrak etanol kayu secang. Ekstraksi ialah suatu proses pemisahan bahan padat atau cair yang akan disertai bahan cair lain disebut pelarut. Dapat diartikan suatu kegiatan pemisahan berasal dari bahan utamanya. Pelarut yang digunakan berdasarkan kandungan kelarutan terhadap komponen lainnya menjadi campuran (Khatimah *et al.*, 2022). Memanfaatkan kayu secang yang mengandung beberapa senyawa yang mendukung pigmen warnanya yaitu senyawa tannin, resin, resorsin,

brazilin, brazilein, asam galat, dan asam tanat. Pada kesamaan pH dengan eosin berasal dari pigmen brazilin mampu menghasilkan warna merah cerah dengan pH netral ($\text{pH} = 6-7$). Kandungan warna merah kayu secang ini bagus dimanfaatkan di pewarnaan histologi menjadi pewarna alami(Purwani, 2024).

Jenis pelarut yang dapat digunakan pada proses meserasi zat warna, yakni etanol dan aquades yang mempunyai sifat polar yang kemiripannya sesuai dapat menyato dengan pigmen zat warna brazilin(Tutik & Sayekti, 2023). Karakteristiknya brazilin memiliki kandungan yang larut tinggi dalam air sangat baik sehingga penggunaanya sebagai pewarna alami pada pewarnaan jaringan. Pada pembuatan ekstrak etanol kayu secang menggunakan metode maserasi yang menggunakan pelarut etanol 70%.

Senyawa paling berperan yaitu polifenol dan senyawa organik flavonoid. Salah satunya kadar pH yang menjadi factor pengaruh warna pada antosianin. Pada pH asam antosianin akan berwarna merah atau ungu, pada pH basa akan berwarna hijau atau kuning, dan pH netral akan berwarna biru(Suraini & Sophia, 2022).

Penelitian ini menggunakan organ intestinal pada hewan coba mencit (*Mus Musculus*) karena menurut (Kalorbobir & Watuguly, 2017) struktur anatomi, fisiologi dan genetika mencit memiliki kemiripan dengan anatomi fisiologi manusia dan juga termasuk hewan percobaan yang gampang digunakan dan ditemukan. Mencit (*Mus musculus*) termasuk

mamalia memiliki ciri fisiologi dan biokimia yang kemiripannya paling menyerupai manusia. Serta memiliki kemampuan yang khas yaitu mampu meloncat hingga 25cm(Putri & Sofyanita, 2023).

Hewan uji coba mencit ini memiliki reproduksi, pernapasan, dan peredaran darah yang sangat serupa dengan manusia. Sehingga system reproduksinya yang singkat dan keturunan yang dihasilkan banyak menjadi keuntungan(Hasyimi *et al.*, 2012). Kriteria mencit yang dapat dijadikan objek yaitu yang sehat, berjenis kelamin jantan, usia 1-3 bulan serta memiliki berat badan berkisar 20-30gram (Sari *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian Wulandari *et al.*, (2019), ekstrak kayu secang dapat mewarnai beberapa jenis sel, seperti sel epitel pada preparat *buccal smear* dengan hasil pewarnaan yang cenderung pudar karena komponen selnya sukar diamati. Pada penelitian yang dilakukan oleh Bali (2024) proses pembuatan ekstrak daun jati dipotong kecil kemudian dikeringkan selama 1 minggu. Setelah itu dihaluskan dan dimaserasi menggunakan campuran aquades yang terdapat asam sitrat 10% lalu disaring dengan corong Buchner. Hasil ekstrak yang diperoleh lalu dipekatkan hingga pelarut menguap dan ekstrak berubah menjadi kental. Lalu bisa dibuat ekstrak pada konsentrasi 20%, 30%, dan 40% menggunakan etanol 96%.

Penggunaan bahan alami untuk diproduksi karena diperoleh dari bagian tumbuhan. Pada bagian - bagian tumbuhan tertentu memiliki pigmen berwarna menarik sebagai zat utama alami. Salah satu contoh zat warna

yaitu brazilin yang dapat di ekstrak dari kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) memiliki potensi tinggi terhadap warna merah yang cerah. Selain itu, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (2021) mengatakan kayu secang merupakan tanaman yang mudah diperoleh untuk penggunaan pemanfaatannya (Caesalpinia & Katun, 2022).

Penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak kayu secang dapat digunakan sebagai alternative pewarna alami pengganti pewarna sintetis. Hasil penelitian Sari & Harlita, (2020) menyebutkan bahwa ekstrak secang dapat digunakan untuk mewarnai preparat maserasi tulang, namun hasilnya kurang baik karena hanya pekat pada beberapa komponen sel saja. Kedua penelitian tersebut tidak menyantumkan mengenai konsentrasi, selain itu hasil pewarnaan juga cenderung pudar. Dapat dilanjutkan berdasarkan besaran dosis atau konsentrasi.

Beberapa penelitian dalam penggunaan ekstrak etanol secang dikatakan baik atau efektif tergantung pada jumlah atau tingkatan konsentrasi tertentu yang dapat mewarnai jaringan atau sel. Diantaranya penelitian yang dilakukan oleh (Sukeksi *et al.*, 2022) yang berjudul Pengaruh Waktu Pengecatan Menggunakan Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap Warna Sel Eritrosit Pada Sediaan Hapusan Darah Tepi (SADT) dapat disimpulkan bahwa kayu secang pada penggunaan pengenceran aquadest 1:1 yakni konsentrasi 50% memiliki hasil baik dengan perbandingan waktu 15 menit dan 20 menit. Kayu secang menghasilkan pigmen brazilien yang berwarna merah yang diharapkan bisa

sebagai pengganti larutan *counterstain* yaitu eosin. Sehingga Peneliti tertarik untuk memanfaatkan ekstrak kayu secang sebagai pewarna pengganti pada eosin dalam pewarnaan Hematoksilin Eosin menggunakan histomorfologi organ mencit.

B. Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) konsentrasi 50% dapat menjadi pengganti eosin sebagai *counterstain* pada pewarnaan Hematoxylin Eosin?

C. Tujuan Penelitian

Ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) konsentrasi 50% dapat dijadikan sebagai pewarna pengganti eosin pada pewarnaan hematoksilin.

D. Ruang Lingkup Penelitian

1. Lingkup Keilmuan

Penelitian ini merupakan bidang Teknologi Laboratorium Medis khususnya tentang pemeriksaan histomorfologi jaringan menggunakan organ usus mencit dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin.

2. Materi

Materi penelitian ini tentang Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Dengan Konsentrasi 50% Sebagai Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Hematoxylin Sediaan Histomorfologi Usus Mencit (*Mus musulus*).

E. Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti

Untuk pengetahuan peneliti serta keterampilan pada bidang sitohistoteknologi dan menambah pemanfaatan bahan alami untuk alternatif pengganti bahan sintesis khususnya penggunaan ekstrak etanol kayu secang sebagai pengganti eosin dalam proses pewarnaan HE.

2. Bagi Institusi Pendidikan

Pada penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi serta informasi baru dalam lingkungan Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Yogyakarta pada bidang sitohistoteknologi, khususnya untuk pemanfaatan bahan alami sebagai pengganti eosin.

3. Bagi Masyarakat

Dapat memberikan referensi tentang penggunaan ekstrak kayu secang sebagai bahan alami untuk laboratorium.

F. Keaslian Penelitian

Peneliti telah melakukan penelusuran dan kajian pustaka, bahwa penelitian mengenai Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Dengan Konsentrasi 50% Sebagai Pengganti Eosin Pada Pewarnaan Hematoxylin Sediaan Histomorfologi Usus Mencit (*Mus musculus*) yang dilakukan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Kementrian Kesehatan Yogyakarta belum pernah diteliti sebelumnya, Berikut berbagai penelitian sejenis yang telah dilakukan :

1. Penelitian oleh Sujono, E.A.F., Prabandari, S.A., & Pramonojati, F., yang berjudul “Pemanfaatan Larutan Kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) Sebagai Counterstain Pada Pengecatan Gram *Escherichia coli* ATCC 25922”. Hasil dari penelitian tersebut terdapat larutan kayu secang dapat digunakan sebagai counterstain pada pengecatan Gram *Escherichia coli* ATCC 25922. Larutan kayu secang menghasilkan intensitas warna dan keseragaman warna terbaik, sedangkan perlakuan K1 (larutan aquades-secang metode pewarnaan langsung) menghasilkan jumlah artifak kecil dan keseragaman warna terbaik.
2. Penelitian oleh Sukeksi, A., Isworo, T.J., & Putri, T.A.D., yang berjudul “Pengaruh Waktu Pengecatan Menggunakan Ekstrak

Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Terhadap Warna Sel Eritrosit Pada Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT)”. Hasil dari penelitian tersebut terdapat tidak ada pengaruh perbedaan secara makroskopis pada sediaan apusan darah tepi (SADT) menggunakan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) variasi waktu pengecatan 15 menit dan 20 menit.

3. Penelitian oleh Purwani, Y., yang berjudul “Formulasi Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Dengan Mordan Besi (III) Klorida (FeCl_3) Sebagai Alternatif Pewarnaan Histologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus Linnaeus, 1758*)”. Hasil dari penelitian tersebut terdapat 3 formulasi pewarna alternative terbaik yang memiliki komposisi bahan penyusun dari; 1) ekstrak kayu secang + mordan FeCl_3 . 2) ekstrak kayu secang + mordan FeCl_3 + asam asetat glasial, 3) ekstrak kayu secang + mordan FeCl_3 + simplokos) dengan hasil pewarnaan ungu kemerahan mirip hematoksilin eosin sebagai alternative pengganti pewarnaan dasar Hematoksilin Eosin pada histologi ikan nila.
4. Penelitian oleh Azahra, A. A., yang berjudul “Efektivitas Ekstrak Metanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Dengan Variasi Konsentrasi Pewarnaan Histopatologi”. Hasil dari penelitian tersebut terdapat 3 konsentrasi ekstrak metanol kayu secang sebagai alternatif pewarnaan histopatologi : Konsentrasi

50%, 75%, 100% secara keseluruhan dapat menggantikan pewarnaan standar pewarnaan histopatologi yaitu hematoxylin dan eosin, namun diantara ketiga konsentrasi tersebut mempunyai hasil terbaik pada konsentrasi 100% dan 75%.