

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Histoteknik

a. Definisi

Teknik histopatologi suatu disiplin ilmu dan seni yang dilaksanakan dengan mendapatkan potongan jaringan yang memiliki hasil kualitas tinggi dan memungkinkan adanya tindakan lanjut laboratorium atau keberadaan dan ketiadaan suatu kelainan, indikasi lainnya. Histopatologi merupakan mekanisme yang dilakukan pada setiap sampel jaringan yang terdapat di laboratorium patologi anatomi (Hasyimi *et al.*, 2012).

Histoteknik meliputi semua tahap dalam pembuatan preparat histologi dari tahapan pemotongan sampai menjadi preparat sediaan yang bisa diamati dengan keadaan struktur sel baik. Dari berbagai spesimen yang digunakan sampai dapat dibaca di bawah lapang pandang mikroskop. Dalam serangkaian tahapannya dapat membantu penegakan diagnosa histopatologi jaringan dengan tujuan menjaga kondisi jaringan dengan baik tanpa ada kerusakan atau munculnya kotoran pada jaringan (Purwani, 2024). Agar mendapatkan jaringan yang tidak rusak untuk digunakan, harus diambil dalam kondisi utuh dan segar. Jika

jaringan sudah mengalami kerusakan yang tidak dapat dibentuk, maka pada proses histoteknik tidak menghasilkan hasil yang baik. Sediaan dapat dikatakan baik yaitu memberikan gambaran kondisi jaringan sel masih sama seperti di dalam tubuh. Menggunakan tahapan tahapan dari tindakan histoteknik jaringan atau sel akan terhindar dari kerusakan (Fatarani *et al.*, 2023). Pada tahapannya meliputi; proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *blocking*, pemotongan blok preparat, dan pewarnaan.

b. Tahapan Histoteknik

Tahapan atau proses yang terdapat dalam histoteknik meliputi:

1) Fiksasi (*fixation*)

Proses pertama sesudah sampel didapatkan. Fiksasi bertujuan mempertahankan kondisi jaringan dan struktur sel sesuai pada saat ketika masih hidup. Pada bentuk dan ukuran tetap sesuai morfologinya baik akibat proses yang terjadi didalam tubuh seperti pencernaan oleh enzim maupun bakteri. Tahap ini butuh waktu untuk penyerapan bahan fiksasi ke dalam jaringan, biasanya dipotong sampai terbentuk fragmen kecil yang dapat mempermudah dan menjamin pengawetan jaringan semakin baik (Sari *et al.*, 2019).

2) Dehidrasi (*Dehydration*)

Tahapan ini melalui larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat dengan diakhiri konsentrasi paling tinggi karena dapat

membuang air dalam selang waktu tertentu hingga proses akhir dari jaringan paling efektif (Tutik & Sayekti, 2023). Penggunaan blok paraffin untuk pembuatan blok preparat, namun tidak dapat terkandung air maka harus direndam dalam bahan kimia yang dinamakan dehydrator (penarik air) sehingga air tertarik keluar dari dalam jaringan (Purwani, 2024). Dehidrasi juga dapat menjadi terlalu keras hingga rapuh kalau dalam kadar yang berlebihan serta tidak sesuai ketentuan.

3) Pembeningan (*Clearing*)

Pada jaringan pasti didapati komponen - komponen yang mengganggu proses pewarnaan. Cairan alkohol yang tertinggal juga menyebabkan pemotongan jaringan menjadi tidak tepat atau sulit untuk sesuai ukuran. Tahap ini yang dapat dipahami penghilangan alkohol agar dapat digantikan dengan larutan yang mampu berikatan dengan paraffin. Larutan clearing yang dapat bekerja dengan cepat yaitu xylene/xylol (Putri & Sofyanita, 2023).

4) Pembenaan (*Impregnasi*)

Proses perendaman menggunakan paraffin dengan menghilangkan larutan pembeningan. Di tahap ini sisa pembeningan sangat mempengaruhi jaringan mendapati kondisi mengkristal dan struktur menjadi sangat lunak mudah hancur saat proses pemotongan menggunakan mikrotom. Pengolahan proses

ini harus diperhatikan sampai benar – benar jaringan terlepas dari larutan pembedahan yang membuat proses tahapan selanjutnya tidak baik (Apriani *et al.*, 2023). Sifat pada paraffin beragam tergantung pada titik leleh yang dipakai. Bahan yang sering digunakan terdiri dari campuran hidrokarbon muatan rantai panjang. Pada mekanismenya bahan akan meresapi jaringan dan saat suhu dingin cepat keras atau membeku. Jika kesulitan pada proses pemotongan bisa karena kondisi paraffin berada di titik leleh yang tinggi. Jika titik leleh rendah, dapat membantu pembuatan jaringan saat pemotongan namun hanya sedikit struktur jaringan yang dipertahankan (Jusuf, 2009).

5) Pengecoran (*Blocking*)

Bahan paraffin dimasukkan kedalam cetakan logam yang sudah berisi jaringan berbentuk blok keras dengan posisi dituangkan pada cetakan tersebut. Bertujuan untuk membantu proses pemotongan mudah di atur ketebalan dan hasil potongan yang baik (Tutik & Sayekti, 2023).

6) Pemotongan jaringan (*Sectioning*)

Tahapan ini menggunakan alat berupa slide atau kaca objek yang digunakan untuk perekatan sesudah jaringan terdapat didalam blok paraffin. Dapat menggunakan mikrotom dengan kesesuaian ketebalan yang di dipakai (Sari *et al.*, 2019). Proses ini

membutuhkan hasil yang sesuai agar melanjutkan tahap histoteknik berikutnya.

7) Pengapungan (*Floating*)

Setelah perekatan jaringan, dilakukan proses meletkkan pita jaringan pada suhu 60°C di dalam waterbath dengan bertujuan proses penempelan pita jaringan dalam posisi rekat pada kaca objek (Juliati *et al.*, 2017).

8) Pewarnaan (*Staining*)

Setelah proses perekatan pita jaringan dapat dilakukannya tahapan ini dengan mekanisme alur memberi warna jaringan. Untuk pembacaan dan pengamatan pada karakter warna atau bentuk dari sel atau jaringan. Pewarnaan yang digunakan yaitu Hematoksilin Eosin (HE). Pewarnaan tersebut memiliki daya kerja afinitas terhadap struktur asam sel pada bagian nukleat dan inti sel. Pada eosin merupakan pewarna asam yang akan berikatan dengan sitoplasma sel. Hematoksilin akan memberi warna biru pada inti dan eosin memberi warna merah pada sitoplasma(Sofyanita, 2022).

9) Perekatan (*Mounting*)

Proses ini menggunakan entelan yang akan diberikan pada jaringan yang telah diwarnai. Diarahkan untuk pengawetan sediaan dan mengurangi faktor kerusakan akibat sel lain seperti jamur pada penyimpanan waktu jangka lama. Setelah diberi entelan dibutuhkan *deck glass* untuk menutup jaringan. *Mounting* jaringan

harus dalam keadaan basah karena jika kondisi kering dapat memberi bintik hitam yang sukar dibedakan dengan kotoran yang mengganggu saat pengamatan(Putri & Sofyanita, 2023).

10) Pelabelan (*Labelling*)

Tahapan *labeling* ini sudah melewati semua proses histoteknik yakni proses akhir. Sediaan yang sudah selesai perekatan harus ditulis tanda menggunakan label yang jelas, berupa identitas sampel dengan kode, tanggal waktu pengambilan pemeriksaan sampel dan identitas pasien serta sesuai kebijakan tertentu dari lembaga (Sumanto, 2014).

2. Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Teknik pewarnaan HE ini memiliki susunan prinsip dasar yaitu asam basa suatu larutan yang berikatan dengan komponen jaringan yang menunjukkan kecenderungan terhadap sifat asam atau basa tersebut. Pewarnaan merupakan teknik pemberian warna pada jaringan sampai bisa menghasilkan tingkatan warna yang baik agar dapat membedakan antara suatu sel dengan jaringan lainnya. Dalam histoteknik pewarnaan ini menjadi pewarna *gold standart*. Dengan prinsip dasar yang terjadi adanya proses mewarnai unsur asam khususnya pada inti sel DNA/RNA menjadi biru tua dari terbentuknya suatu ikatan dari hematein dengan asam dari inti sel. Karena sifat Hematoksilin yang basa inilah hematein adalah bentuk oksidasi dari hemaktoksilin kemudian terbentuk dari proses *ripening*(Purwani, 2024).

Prinsip dasar Eosin bersifat asam, sehingga memiliki daya mewarnai pada unsur basa dari sitoplasma menjadi merah muda dengan memberikan corak pada jaringan. *Counterstaining* di pewarnaan Hematoksilin menggunakan Eosin karena keduanya memiliki tingkat kontras yang baik dan jelas. Kemampuan eosin akan semakin meningkat bila diberi zat tambahan lainnya. Larutan counterstaining eosin terdiri dari larutan stok (eosin Y, *water solute*, *distilled water*, alkohol 96%) dan larutan kerja (*eosin stock solution*, alkohol 80%, asam asetat glasial (Sukeksi *et al.*, 2022).

Pada komponen sitoplasma yang terwarnai tidak selalu dapat dibedakan dengan jelas namun nukleusnya akan terpulas warna baik yaitu biru tua kehitaman. Sediaan yang diwarnain menggunakan hematoksilin dan eosin (H&E), sitoplasma hepatosit biasanya bersifat eosinofilik karena banyaknya mitokondria. Hepatosit adalah sel polyhedral besar yang memiliki inti sferis besar nucleus (Sari *et al.*, 2019).

Bagian dari mikroskopis yang dapat dilihat yaitu sitoplasma dengan ribosom yang tampak berwarna biru tua disebut basofilik. Sedangkan eosin akan mewarnai sitoplasma sel karena pewarna asam menghasilkan warna merah muda. Hal tersebut disebabkan banyaknya daerah basa di sitoplasma namun pada kondisi tertentu sitoplasmanya berwarna merah muda yang disebut ada unsur asidofilik (Sofyanita, 2022).

a. Mekanisme pewarnaan Hematoxylin dan Eosin

- 1) Deparafinisasi, yaitu proses melarutkan paraffin yang ada pada preparat, larutan yang digunakan adalah xylol. Proses ini dilakukan selama 3 menit.
- 2) Rehidrasi, yaitu proses menghilangkan xylol dengan menggunakan alkohol bertingkat masing-masing selama 2 menit.
- 3) Pencucian menggunakan aquades
- 4) Hematoxylin digunakan untuk mewarnai inti sel. Proses ini dilakukan selama 7 menit.
- 5) Pencucian dengan air mengalir
- 6) Diferensiasi, yaitu proses untuk menghilangkan warna pada sitoplasma dan mengurangi warna pada inti.
- 7) Blueing, yaitu proses memperjelas warna biru pada pada inti sel.
- 8) Pencucian dengan air mengalir.
- 9) Pewarnaan sitoplasma menggunakan eosin selama 30 detik.
- 10) Dehidrasi menggunakan alkohol untuk mengeluarkan air.
- 11) Clearing, yaitu proses penjernihan menggunakan xylol.

b. Mekanisme Pewarnaan Hematoksilin dan Ekstrak Etanol Kayu Secang konsentrasi 50%

- 1) Deparafinisasi, yaitu proses menghilangkan paraffin pada jaringan, larutan yang digunakan adalah xylol dilakukan selama 3 menit.
- 2) Rehidrasi, yaitu proses menghilangkan xylol dengan menggunakan alkohol bertingkat masing-masing dilakukan selama 2 menit.
- 3) Pencucian menggunakan aquades.
- 4) Hematoxylin digunakan untuk mewarnai inti sel. Proses ini dilakukan selama 7 menit.
- 5) Pencucian dengan air mengalir.
- 6) Diferensiasi, yaitu proses untuk menghilangkan warna pada sitoplasma dan mengurangi warna pada inti.
- 7) Blueing, yaitu proses memperjelas warna biru pada pada inti sel.
- 8) Pencucian dengan air mengalir.
- 9) Sitoplasma diwarnai dengan ekstrak etanol kayu secang konsentrasi 50% selama 30 detik.
- 10) Dehidrasi menggunakan alkohol untuk mengeluarkan air.

11) Clearing, yaitu proses penjernihan menggunakan xylol.

3. Eosin

Pewarna Eosin sampai saat menjadi *gold standard* dan golongan pewarna sintesis dalam golongan xanthene dan merupakan counterstain yang dapat mewarnai sitoplasma dan jaringan ikat bercorak merah cerah. Dalam reaksinya didapati ikatan molekul protein pada sitoplasma yang bermuatan positif dan jaringan ikat. Eosin mampu memulas inti sel yang telah melewati hematoxylin dengan ada perubahan warna yang dari biru menjadi warna ke unguan. Eosin termasuk pada pewarnaan anion, dimana akan berikatan dengan protein-protein yang mengandung ion positif (kation) pada contoh gugus amino (Li & Histopatologi, 2018).

Eosin merupakan zat warna turunan bromin dari fluorescein yang di dalamnya terdapat dua zat warna kuat berkaitan dengan Eosin kekuningan (Eosin Y) dan Eosin kebiruan (Eosin B). Eosin yang biasa digunakan yaitu eosin Y sering dipakai pemeriksaan mikroskopis. Dengan sifat eosin yang karsinogenik sehingga terdaftar sebagai karsinogen Kelas 3. Limbah eosin juga tergolong sulit untuk terurai menyebabkan bahaya sampai memicu adanya kebakaran dan menjadikan tidak ramah lingkungan. (Rizki *et al.*, 2023). Penggunaan sesuai kebutuhan eosin lumayan banyak tergolong mahal dan membuka jalan untuk menggunakan bahan alami untuk alternatif sebagai pengganti eosin.

4. Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*)

Klasifikasi Pohon Secang

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Resales
Suku	: Caesalpiniaceae
Marga	: <i>Caesalpinia</i>
Jenis	: <i>Caesalpinia sappan L.</i>



Gambar 1. Serutan Kayu Secang
Sumber : (Purwani, 2024)

a. Deskripsi Umum Secang

1) Morfologi

Secang (*Caesalpinia sappan L.*) tumbuhan familiar yang banyak digunakan masyarakat untuk pagar di tempat sampai ketinggian 1000 m. Batangnya berkayu, bulat, dan berwarna hijau kecokelatan. Dari batang sampai cabang-cabangnya terdapat duri yang menempel. Daun secang

memiliki bentuk menyirip ganda. Bunga secang bentuknya malai, seperti mahkota bunga berbentuk tabung berwarna kuning. Akar secang adalah akar tunggang berwarna coklat dan biasanya panen kayu dilakukan saat umur 1-2 tahun (Kimia & Industri, 2017). Dari pemanfaatan kayu secang sebagai pewarna namun tergolong tanaman obat-obatan. Tanaman ini baik tumbuh di tanah berlempung dan mengandung pasir baik di dataran tinggi maupun dataran rendah namun tidak cocok di tanah yang basah. Tanaman secang tumbuh di berbagai daerah dengan nama penyebutan masing-masing. Namun banyak tumbuh di tanah Jawa (A. N. Hidayat & Prastantri, 2013). Untuk penggunaan penelitian biasanya pada kayu secang yang terdiri dari beberapa kandungan senyawa pigmen berwarna merah gading muda yang mirip dengan eosin dengan beragam manfaat. Disamping banyaknya digunakan penelitian, juga dapat menjadi pewarna kain tekstil, minuman, bahan anyaman atau sebagai tinta.

2) Brazilin

Warna merah yang terdapat pada kayu secang berasal dari senyawa brazilin. Brazilin ($C_{16}H_{14}O_5$) di dalam struktur kimianya mempunyai senyawa antioksidan katekol. Asam tidak mempengaruhi larutan brazilin dimana eter dan alkohol

menimbulkan warna kuning pucat dan brazilin akan cepat membentuk warna merah jika terkena sinar matahari disebabkan terbentuknya brazilien. Namun saat teroksidasi akan menghasilkan senyawa brazilien berwarna merah kecoklatan dan dapat larut dalam air (Khatimah *et al.*, 2022). Robinson, (1995) menyatakan brazilin termasuk senyawa flavonoid yang secara struktur. Pigmen brazilien warna merah tajam dan cerah didapat pada kondisi pH netral (pH 6-7). Warna ini akan bergeser ke arah merah keunguan jika semakin meningkatnya pH. Sebaliknya, pada pH rendah (pH 2-5) brazilien berwarna kuning (Suraini & Sophia, 2022). Pada pelarut juga mempengaruhi kadar pH kayu secang namun secara umum kayu secang memiliki pH netral yakni bisa disamakan dengan eosin.

3) Pigmen Zat Alami Kayu Secang

Pada pigmen lain yaitu terdiri antara lain tannin, flavonoid, kuinon, klorofil, minyak atsiri dan lain lain. Untuk paling banyak pigmen pada kayu/batang tumbuhan diperkirakan yaitu tannin dan flavonoid (Suraini & Sophia, 2022). Kandungan pigmen didalam tanaman ini dapat memanfaatkan batang/kayu nya. Komponen brazilin yang paling utama dan terbesar di dalam kayu secang. Pada sifat

kimia nya larut dalam air dan etanol(A. N. Hidayat & Prastantri, 2013).

4) Ekstraksi

Ekstraksi yaitu metode yang dilakukan untuk mendapatkan senyawa kimia dari bahan bahan alami tentunya pada proses menambahkan pelarut yang digunakan untuk dapat mengekstrak senyawa didalamnya. Pada proses pemisahan bahan padat maupun cair memiliki komposisi yang bermanfaat yang bermanfaat dari suatu bahan alam dapat diproduksi. Berdasarkan jenis proses tahapan – tahapannya, dapat digolongkan ada 2 yaitu ekstraksi dingin dan ekstraksi panas. Proses aplikasi ekstrak dingin yaitu dengan maserasi dan perkolasi, sedangkan ekstraksi panas yaitu pada metode refluks, soxhlet dan destilasi(Kimia & Industri, 2017).

Pada tahap – ekstraksi meliputi hal yang terlibat yaitu pencampuran bahan yang diekstrak dengan pelarut akan menimbulkan reaksi pemisahan ekstrak dari rifanat (sisir atau ampas dari bahan yang diekstrak). Dari hal tersebut, terjadi penguapan dari bahan pelarut, maka setelah itu ekstrak dapat digunakan untuk dioleh lebih lanjut dengan hasil yang dipekatkan(A. N. Hidayat & Prastantri, 2013).

Proses pembuatan diawali pengeringan kayu secang kemudian digiling sampai halus sehingga terbentuk serbuk. Ekstraksi menggunakan serbuk secang sebanyak 1kg dan dimasukkan botol kaca dan ditambahkan pelarut etanol 70% lalu dilakukan pengadukan sampai dilakukan penyaringan hingga didapatkan maserat. Setelah itu ampas di maserasi kembali dengan prosedur yang sama dilanjutkan penggabungan semua maserat dan dimasukkan ke alat penguap vakum putar untuk proses penguapan dengan diatur temperature $\pm 40^{\circ}\text{C}$ untuk mdapat ekstrak etanol yang kental. Kemudian untuk tahap pewarnaan dilakukan pengenceran menggunakan aquades untuk memperoleh konsentrasi 25% dan 50%(Chandra *et al.*, 2023).

5. Faktor yang Mempengaruhi Pewarnaan

Pada seluruh proses pewarnaan histoteknik memiliki beberapa pertimbangan dan pengaruh untuk hasil akhir sediaan. Salah satunya di tahap yang disebut deparafinisasi, sebelum proses pewarnaan jaringan harus melalui paraffin sampai hilang dan luruh terlebih dahulu. Kondisi reagen alkohol untuk penarikan air di proses rehidrasi juga berpengaruh. Kondisi ketidaksempurnaan proses saat menghilangkan paraffin(Sukeksi *et al.*, 2022).

- a. Adanya hasil tidak maksimal dengan sempurna saat proses penghilangan paraffin.

- b. Jumlah waktu saat pewarnaan tidak adekuat
- c. Proses penghilangan warna terlalu berlebihan dengan intensitas tinggi.
- d. Proses *Sectioning* atau pemotongan jaringan terlalu tebal atau tipis.
- e. Pengaturan pH yang tidak tepat

Proses pemotongan jika mengalami ketebalan akan sangat mempengaruhi karena ideal nya setebal 4-6 μ m untuk proses seluruh tahap pewarnaan. Pengaturan pH sebaiknya di pH netral sekitar 6-8. Adanya keasaman dari fungsi *buffering* menyangga cairan fiksatif tersebut dapat mempengaruhi pembentukan pigmen formalin-heme yang muncul dengan warna hitam dalam jaringan (A. Sriwahyunizah, 2018).

6. Histomorfologi

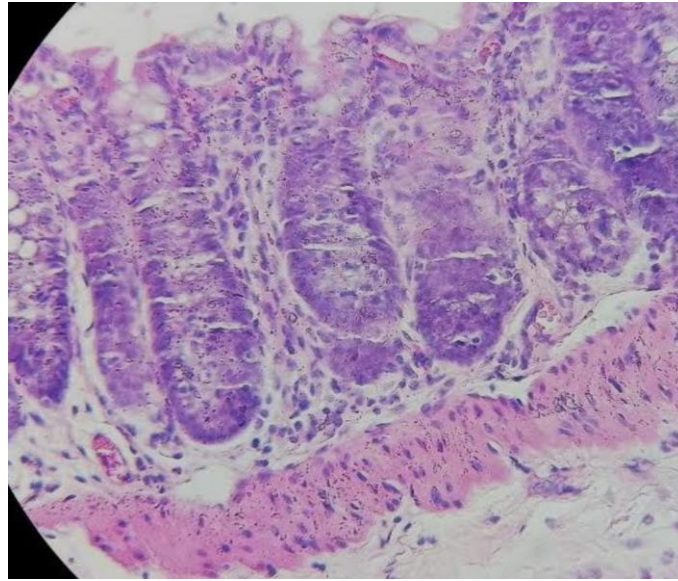
Histomorfologi adalah suatu ilmu yang terdiri dari adanya cara menelaah dan memantau saat pengamatan, mempelajari suatu ukuran organ, jaringan dan beberapa bagian jaringan. Struktur jaringan sangat terperinci maka menggunakan bantuan alat mikroskop yang dapat melihat dari bagian rindi yang paling kecil (A. Sriwahyunizah, 2018).

7. Mencit (*Mus musculus*)



Gambar 2. Mencit (*Mus musculus*)
Sumber : (Hasyimi *et al.*, 2012)

Hewan uji coba yang sering digunakan adalah mencit (*Mus musculus*). Sekitar 80% hewan uji coba laboratorium adalah mencit karena memiliki variasi sifat yang tinggi, hidup yang singkat dan jumlah angka kelahiran banyak dan anatomi fisiologisnya terdeskripsi dengan baik. Terdapat perbedaan antara mencit betina dan pada mencit jantan tidak terpengaruhi oleh hormonal yaitu hormone esterogen, dan perubahan kondisi hormonal dibanding mencit betina. Selain itu tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi karena menjadi faktor pengganggu saat uji coba berlangsung (Hasyimi *et al.*, 2012). Meskipun mencit memiliki kesamaan histologis dan fisiologis dengan manusia ada perbedaan sangat besar dalam ukuran, kecepatan metabolisme dan kebiasaan makan. Tidak jarang penelitian menggunakan mencit sangat beragam dengan hasil yang nantinya dihubungkan dengan kondisi pada manusia. Pemilihan penggunaan mencit disarankan kelamin jantan karena memiliki metabolisme yang cepat dan kondisi biologis lebih stabil daripada mencit betina. Paling banyak menyumbang lebih dari 95% dari spesies mamalia yang digunakan, dalam hal ini mencit mempunyai struktur anatomi dan fisiologi yang mirip dengan mamalia.



Gambar 3. Histopatologi usus mencit lapisan mukosa pewarnaan HE
Sumber : (Hasyimi *et al.*, 2012)

Organ usus atau intestinal mencit (*Mus musculus*) mempunyai system pencernaan yang terdiri saluran pencernaan serta adanya hubungan antar kelenjar pencernaan. Pencernaan yang pertama dilalui yakni rongga mulut dilanjut ke esophagus-lambung-intestinum(Duodenum-jejunum-illeum)-kolon-rektum-dan berakhir di anus. Kelenjar saliva yang disebut kelenjar pencernaanya yaitu *seromucoid* dengan satu tipe pada kelenjar saliva submaksilari pada mencit yang di ekskresikan, hepar dan pankreas(Supiyani *et al.*, 2023).

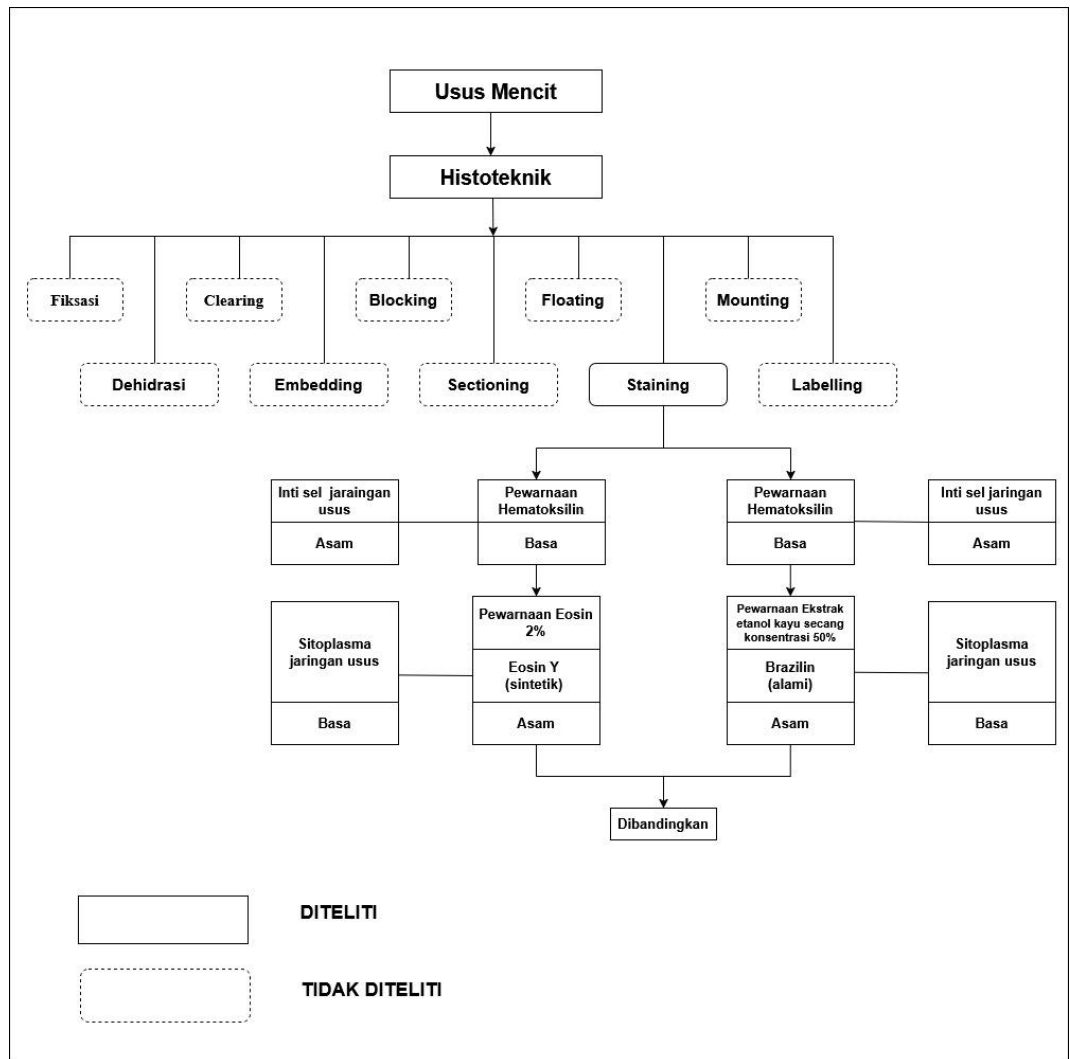
Kerusakan usus juga sering ditemui karena faktor mikroorganisme, sekresi pencernaan dan makanan begitupun dampak radikal bebas. Bentuk perubahan yang ditemui munculnya pendarahan (hemoragi) dan nekrosis. Terdapat satu sel yang memiliki peran untuk mencegah semua kerusakan yaitu sel goblet yang menghasilkan mucus. Fungsinya berperan

melindungi mukosa usus dari kerusakan unsur kimia serta menjadi penghubung molekul melalui membrane. Maka jika terjadi peningkatan proliferasi sel goblet menjadi terindikasi adanya jumlah banyak infeksi (Permatasari *et al.*, 2017).

Susunan jaringan dari usus mencit yang dapat terlihat pada pewarnaan yaitu jaringan yang memiliki susunan jaringan epitel. Epitel sangat berdekatan dan tersusun dengan kandungan sel berisi dan polygonal. Fungsinya sebagai pelindung permukaan dan sebagai alat absorpsi pada usus. Di dalam saluran pencernaan biasanya terdapat sel epitel selapis silindris yang membuat percepatan penyerapan zat gizi proses pencernaan (Hasyimi *et al.*, 2012).

Jaringan ikat yang terdapat di susunan usus mencit. Setiap jaringan memiliki saraf – saraf yang saling terhubung satu sama lain. Saraf perifer yang meliputi di dalam jaringan ikat. Pembungkus saraf perifer terdapat epinerium (jaringan ikat fibrosa), perinerium (jaringan ikat padat kolagen), endonerium (jaringan ikat longgar). Pengamatan pada sediaan yaitu nukleus yang terwarnai dan dapat dilihat susunannya. Nucleus merupakan organel terbesar didalam sel eukariot. Pada sel prokariot terdapat badan inti, namun tidak dijumpai nukleus. Mengandung kromosom dengan bentuk jaringan-jaringan kromatin yang mengandung protein dan DNA linier. Nucleus merupakan tempat dimana ribosom ber sintesis (Soesilawati, 2020).

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori
Sumber : (Jumardi *et al.*, 2023)

C. Hubungan Antar Variabel

Variabel bebas yaitu pewarnaan ekstrak etanol kayu secang konsentrasi 50% dan pewarnaan Hematoxylin Eosin yang memiliki faktor dapat dikontrol oleh peneliti untuk melihat pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel terikat yaitu histomorfologi usus mencit (*Mus musculus*) yang menjadi hasil dari variabel bebas untuk diamati hasilnya. Sehingga dengan adanya ekstrak etanol kayu secang yang menjadi pengganti eosin pada pewarnaan Hematoxylin tersebut dapat menjadi pengganti eosin yang mewarnai histomorfologi usus mencit.

D. Pernyataan Penelitian

Pewarnaan menggunakan Ekstrak Etanol Kayu Secang ini dapat memberi referensi baru terkait bahan alami sebagai *counterstain* hematoksilin dengan konsentrasi 50%. Dapat menunjukkan hasil sediaan histomorfologi organ usus *Mus musculus* dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin.