

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### 2.1 Fiksasi

##### 2.1.1 Definisi Fiksasi

Tahapan fiksasi merupakan bagian terpenting dari semua teknik histologi dan sitologi dengan tetap memberikan warna yang alami, untuk mencegah terjadinya denaturasi protein yang berlanjut terdapat tiga metode, yaitu dengan koagulasi, membentuk senyawa aditif, atau gabungan dari koagulasi dan senyawa aditif (Ågerfalk, 2010).

Prinsip kerja dari fiksasi adalah mengawetkan bentuk sel dan organel sehingga mendekati bentuk fisiologinya. Cairan fiksatif mengubah komposisi jaringan secara kimiawi dan fisik. Secara kimiawi, protein sel diubah secara fungsional dan struktural dengan cara koagulasi dan membentuk senyawa aditif baru. Senyawa tersebut terbentuk dengan cara ikatan silang dari dua makromolekul yang berbeda, yakni cairan fiksatif dan protein sel. Hal ini menyebabkan sel resisten terhadap gerakan air dan cairan-cairan lainnya. Akibatnya, struktur sel menjadi stabil, baik didalam maupun diantara sel-sel. Selain itu, kebanyakan enzim didalam sel menjadi terinaktivasi, sehingga proses metabolisme sel tidak terjadi, dan mencegah adanya autolisis sel. Secara fisik membran sel awalnya hidrofilik, dilarutkan dengan cairan fiksatif, khususnya pada proses parafinisasi dan pewarnaan dimana zat-zat tersebut akan dapat masuk kedalam sel dan menempel dengan mudah (Waheed, 2012)

##### 2.1.2 Fiksasi Neutral Buffer Formalin (NBF)

Formaldehid ( $CH_2O$ ) adalah satu-satunya aldehid gas dan mengandung polimer larut yang akan mengalami depolimerisasi pada saat diencerkan. Formaldehid yang dilarutkan dalam air hingga mencapai saturasi pada 37% - 40% w/v umumnya disebut sebagai "formalin" atau "larutan formaldehid pekat". Untuk fiksasi, satu bagian formalin biasanya diencerkan dengan sembilan bagian air atau buffer. Ini menghasilkan larutan formalin 10% yang mengandung sekitar 4% formaldehid w/v, sebuah konsentrasi optimal untuk fiksasi. Formalin juga mengandung (Jurnal Kesehatan Andalas. 2018). sekitar 10 % metanol, yang ditambahkan oleh produsen untuk menghambat pembentukan polimer yang lebih tinggi. Para formaldehid, merupakan bentuk dengan polimer yang lebih tinggi dapat

disimpan sebagai endapan putih dalam solusi formaldehid pekat (Musyarifah & Agus, 2018).

Larutan fiksasi yang biasa digunakan dalam mengawetkan jaringan adalah Neutral Buffer Formalin 10% (NBF). Komposisi dari *Neutral Buffer Formalin 10%* yaitu aquades, formaldehid 37%, natrium dihidrogen fosfat ( $N_aHPO_4$ ) dan dinatrium hidrogen fosfat ( $N_aH_2PO_4$ ). Formaldehid merupakan karsinogen potensial, jika Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) atau tenaga medis terpapar formalin tingkat tinggi (jangka panjang) dapat menyebabkan penumpukan cairan di paru-paru, sesak napas yang parah, bronkitis dan detak jantung yang cepat, sedangkan paparan formalin tingkat rendah (jangka pendek) dapat mengiritasi dan membakar mata, hidung, tenggorokan dan kulit (Niswatin, 2021)

## 2.2 Stevia

*Stevia rebaudiana* merupakan tanaman asal Amerika Selatan yang budidayanya meningkat di seluruh dunia karena kandungan senyawa manisnya yang tinggi. Rasa manis *Stevia* terutama disebabkan oleh glikosida steviol, yang 250-300 kali lebih manis daripada sukrosa. Banyak penelitian menunjukkan manfaat ekstrak *Stevia* dibandingkan gula dan pemanis buatan, namun ekstrak *Stevia* masih belum populer sebagai pengganti gula.

*Stevia rebaudiana* Bertoni adalah tanaman dari family Compositae. Daunnya telah digunakan selama berabad-abad sebagai pemanis. Tanaman *stevia* merupakan tanaman semak yang tumbuh tegak hingga 65 cm. Daun berbentuk lonjong langsing sampai oval, bergerigi halus, terletak berhadapan, panjang 2-4 cm, lebar 1-5 cm, dan tulang daun menyirip.

Beberapa kelebihan *stevia* antara lain:

1. *Stevia* adalah produk alami dan bukan sintetis: pemanis *stevia* (steviosida) tidak mengandung kalori,
2. Daun *stevia* sebagai pemanis dapat digunakan langsung secara alami sehingga dalam jumlah kecil dapat digunakan untuk berbagai kebutuhan
3. Tidak beracun

4. Daun serta ekstrak steviosidamurni dapat dimasak langsung
5. Stabil bila dipanaskan hingga 2000C
6. Non-fermentasi
7. Memiliki nilai rasa tinggi, dan
8. Teruji secara klinis dan sering digunakan oleh manusia tanpa ada pengaruh negatif. (Raini, Mariana., 2012).

Sukrosa akan terhidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa lalu dalam suasana asam akan berubah menjadi aldehide yang kemudian akan berikatan silang dengan asam amino pada jaringan dan memfiksasinya. Hal ini sesuai dengan mekanisme fiksasi yang dilakukan oleh formaldehyde (Pratiwi et al., 2019).

### 2.2.1 Kandungan Stevia

Menurut Buchori (2007), daun Stevia berisi glycoside yang mempunyai rasa manis tapi tidak menghasilkan kalori. Stevioside dan rebaudioside merupakan konstituen utama dari glycoside dengan gabungan dari molekul gula yang berbeda seperti yang terdapat pada tanaman stevia. Glycoside yang digunakan secara komersial dinamakan stevioside yang memberikan rasa manis 250-300 kali dari gula. Daun stevia selain mengandung pemanis glycoside (stevioside, rebauside, dan dulcosida) juga mengandung protein, fiber, karbohidrat, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, natrium, besi, vitamin A, vitamin C, dan juga minyak. Rasa manis pada stevia disebabkan karena dua komponen yaitu stevioside (3-10% berat kering daun) dan rebaudioside (1-3%) yang dapat dinaikkan 250 kali manisnya dari sukrosa. Stevioside mempunyai keunggulan dibandingkan pemanis buatan lainnya, yaitu stabil pada suhu tinggi (100°C), range pH 3-6, dan tidak menimbulkan warna gelap pada waktu pemasakan.



Gambar 2. 1 Stevia

Sumber : [www.farmacitorrent.com](http://www.farmacitorrent.com)

### 2.2.2 Klasifikasi Stevia

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Asterales
Famili	: Compositae
Genus	: <i>Stevia</i>
Spesies	: <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni

### 2.3 Tikus Putih (*rattus norvegicus* )

#### 2.3.1 Definisi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba karena mempunyai respon yang cepat serta dapat memberikan gambaran secara ilmiah, yang mungkin terjadi pada manusia maupun hewan lain. Dalam kode etik penelitian kesehatan dicantumkan bahwa salah satu prinsip dasar riset biomedis, dimana manusia sebagai subjek harus memenuhi prinsip ilmiah yang telah diakui dan harus didasarkan atas eksperimen laboratorium dan hewan percobaan yang memadai, serta berdasarkan pengetahuan yang lengkap dari literatur ilmiah. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) termasuk hewan nokturnal dan sosial. Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan baik ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembaban. Temperatur yang baik untuk tikus putih (*Rattus norvegicus*), yaitu 19°C–23°C, sedangkan kelembaban 40-70% (Pustaka, 2013).



Gambar 2. 2 Tikus Wistar

Sumber : <https://smkabdurrahman.sch.id>

Menurut Pujiatiningsih (2014), penggunaan tikus putih jantan sebagai binatang percobaan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus putih betina. Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibanding tikus betina.

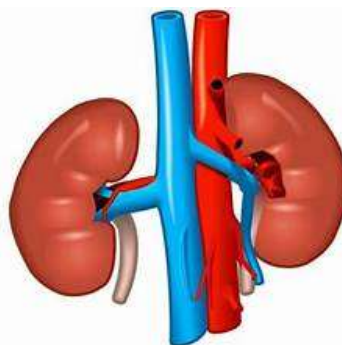
## 2.4 Ginjal

### 2.4.1 Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan organ yang berada di rongga abdomen, berada di belakang peritoneum, dan terletak di kanan kiri columna vertebralis sekitar vertebra T12 hingga L3. Kedua ginjal dibungkus oleh dua lapisan lemak yaitu lemak pararenal dan lemak perirenal yang dipisahkan oleh sebuah fascia yang disebut fascia gerota. Dalam potongan frontal ginjal, ditemukan dua lapisan ginjal di distal sinus renalis, yaitu korteks renalis (bagian luar) yang berwarna coklat gelap dan medulla renalis (bagian dalam) yang berwarna coklat terang. Di bagian sinus renalis terdapat bangunan berbentuk corong yang merupakan kelanjutan dari ureter dan disebut pelvis renalis. Masing-masing pelvis renalis membentuk dua atau tiga kaliks mayor dan masing-masing kaliks mayor tersebut akan bercabang lagi menjadi dua atau tiga kaliks minor (Sugiarto, 2016).

Vaskularisasi ginjal berasal dari arteri renalis yang merupakan cabang dari aorta abdominalis di distal arteri mesenterica superior. Arteri renalis masuk ke dalam hilus renalis bersama dengan vena, ureter, pembuluh limfe, dan nervus kemudian bercabang menjadi arteri interlobaris. Memasuki struktur yang lebih kecil, arteri interlobaris ini berubah menjadi arteri interlobularis lalu akhirnya menjadi arteriola aferen yang menyusun glomerulus

Ginjal mendapatkan persarafan melalui pleksus renalis yang seratnya berjalan bersama dengan arteri renalis. Impuls sensorik dari ginjal berjalan menuju korda spinalis segmen T10-11 dan memberikan sinyal sesuai dengan level dermatomnya. Oleh karena itu, dapat dimengerti bahwa nyeri di daerah pinggang (flank) bisa merupakan nyeri alih dari ginjal .



Gambar 2. 3 Ginjal

Sumber : <https://www.pasiensehat.com>

#### 2.4.2 Histologi Ginjal

Unit fungsional setiap ginjal adalah tubulus uriniferus mikroskopik. Tubulus ini terdiri atas nefron (nephronum) dan duktus koligens (ductus coligens) yang menampung curahan dari nefron. Jutaan nefron terdapat di setiap korteks ginjal. Nefron, selanjutnya terbagi lagi menjadi dua komponen yaitu korpuskulum ginjal (corpusculum renale) dan tubulus ginjal (renal tubules) (Sugiarto, 2016).

Terdapat dua jenis nefron yaitu nefron kortikal (nephronum corticale) yang terletak di korteks ginjal, sedangkan nefron jukstamedularis (nephronum juxtamedullare) terdapat di dekat perbatasan korteks dan medulla ginjal. Korpuskulum ginjal merupakan segmen awal setiap nefron yang terdiri atas kumpulan kapiler yang disebut glomerulus serta dikelilingi oleh dua lapis sel. Tubulus Kontortus Proksimal Kapsula Bowman Glomerulus Tubulus Kontortus Distal 12 epitel yang disebut kapsul glomerulus (capsula glomerularis Bowman). Stratum viseral atau lapisan dalam (pars internus) kapsul terdiri atas sel epitel khusus bercabang, yaitu podosit (podocytus) yang berbatasan dan membungkus kapiler glomerulus.

Dua jenis tubulus mengelilingi korpuskulum ginjal. Kedua tubulus ini adalah tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Bagian tubulus ginjal yang berawal dari korpuskulum ginjal sangat berkelok atau melengkung sehingga disebut tubulus kontortus proksimal (tubulus proximalis pars convolute). Tubulus kontortus proksimal terbentuk dari satu lapisan sel kuboid dengan sitoplasma bergranula eosinofilik, mitokondria memanjang, dan memperlihatkan

lumen kecil tidak rata dengan brush border serta banyak lipatan membrane sel basal yang dalam. Adanya mikrovili (limbus microvillus) di sel tubulus kontortus proksimal meningkatkan luas permukaan dan mempermudah absorpsi bahan yang terfiltrasi. Batas sel tubulus kontortus proksimal juga tidak jelas karena interdigitasi membran lateral dan basal yang luas dengan sel-sel di sekitarnya (Sugiarto, 2016).

## 2.5 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pewarnaan Hematoxylin Eosin merupakan pewarnaan standar untuk mengetahui struktur umum sel maupun jaringan dalam suatu organ. Hematoksilin didapatkan dari ekstrak pohon *Haematoxylon campechianum* Linnaeus yang berasal dari Amerika. Saat ini hematoksilin yang dijual sudah dicampur dengan eosin untuk mempermudah pewarnaan. Pada awalnya hematoksilin memberikan warna merah baik pada sel maupun jaringan, untuk melihatnya disarankan untuk menggunakan etanol 95 % yang memiliki Ph normal, agar jaringan dapat dilihat dengan mikroskop (Wahyu Baskoro, 2018).

Hematoxylin, sering digunakan dalam pewarnaan histotechnical, adalah ekstrak dari pohon *Hematoxylon Campechianum*, penduduk asli Campeche, Meksiko, tetapi sekarang dibudidayakan di Karibia. Hematoxylin diekstraksi dari log dengan air panas dan kemudian diendapkan dari larutan berair dengan urea. Produk oksidasi utama adalah hematein, yaitu pewarna alami yang bertanggung jawab terhadap sifat warna.