

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Dasar Teori**

Pemeriksaan histopatologi merupakan pemeriksaan rutin yang dilakukan pada setiap jaringan yang dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi. Pengolahan jaringan yang baik pada pemeriksaan histopatologik akan memberikan kualitas hasil sediaan yang memuaskan. Hasil yang baik dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan dalam kondisi pada waktu masih hidup. Kualitas sediaan hasil pengolahan jaringan dipengaruhi oleh banyak faktor, terutama dari tahap-tahap pengolahan jaringan itu sendiri. (Srinivasan, Sedmak, & Jewell, 2002) (Ganjali, 2012) (Mescher, 2016)

##### **2.1.1. Pengolahan jaringan**

Pengolahan jaringan merupakan proses yang dilakukan serta dirancang untuk mengeluarkan zat-zat yang dapat dipisahkan oleh air dari jaringan kemudian mengganti dengan suatu media penyangga yang mampu memberikan kekakuan yang cukup agar jaringan parenkim tetap utuh, tidak rusak atau terdistorsi. Pengolahan jaringan terdiri dari beberapa proses yang dapat mengawetkan jaringan dari pembusukan, diantaranya fiksasi, dehidrasi, penjernihan/clearing, *embedding* dan pemotongan. (Peckham M. , 2014) (Suvarna, Layton, & Bancroft, 2013)

Fiksasi adalah tahap pertama dalam pengolahan jaringan. Proses fiksasi terdiri dari merendamkan jaringan di dalam zat kimia. Zat-zat kimia yang digunakan untuk memfiksasi jaringan disebut zat fiksatif. Beberapa zat fiksatif misalnya merkuri klorida, asam pikrat, formalin dan glutaraldehid. Fiksasi di dalam zat fiksatif sederhana atau campuran bertujuan untuk mengawetkan morfologi dan komposisi kimia jaringan, menghindari adanya pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri serta untuk melindungi struktur fisik. Potongan organ harus diperlakukan dengan tepat dan memadai sebelum atau secepat mungkin setelah jaringan didapat untuk proses fiksasi. Setelah hasil jaringan didapat dari proses fiksasi, proses selanjutnya yaitu dehidrasi. (Durachim & Mahmud, 2017) (Junqueira & Carneiro, 1991). (Johnson, 1994)

Dehidrasi merupakan proses pengeluaran air dan larutan fiksatif dari komponen jaringan. Spesimen jaringan diproses melalui serangkaian larutan yang mengandung alkohol dengan konsentrasi yang semakin meningkat. Larutan yang digunakan untuk dehidrasi adalah etanol, aseton etanol, metanol, isopropil, glikol dan alkohol terdenaturasi ( Suvarna, Layton, & Bancroft, 2019)

Sisa-sisa larutan alkohol dan air yang masih terdapat pada celah-celah jaringan perlu dibersihkan dengan menggunakan pelarut parafin. Tahap ini dinamakan *clearing*, bahan (*clearing agent*) yang biasa digunakan adalah xylol dan toluol. Tujuan proses *clearing* yaitu didapatkan potongan jaringan yang tampak jernih (*clear*) (Subowo, 2009)

Jika sudah didapatkan jaringan jernih dari proses clearing dengan menggunakan *clearing agent*, jaringan kemudian ditempatkan dalam lilin parafin hangat dalam suatu cetakan. Tahapan proses tersebut disebut *embedding*. *Embedding* dilakukan dalam oven dengan suhu 58-60° C dengan cara merendam potongan jaringan dalam parafin cair. Cetakan yang sudah berisi jaringan dalam lilin parafin cair dilakukan pendinginan sehingga lilin mengeras, irisan jaringan dapat dipotong menggunakan mikrotom dan dapat dilanjutkan pada proses selanjutnya yaitu *sectioning* atau proses pewarnaan (Peckham M. , 2014).

### **2.1.2. Pewarnaan**

Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat diamati menggunakan mikroskop. Prinsip dari pewarnaan adalah terjadinya afinitas antara jaringan dengan bahan pewarna, baik secara langsung maupun secara tidak langsung. Pewarna yang sering digunakan secara rutin adalah pewarna yang dapat memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) (Jusuf, 2009).

#### **2.1.2.1. Pewarnaan Hematoksilin Eosin**

Hematoksilin merupakan zat yang diambil dari ekstrak getah pohon *Haematoxylon campechianum*. Bahan ini afinitasnya sangat kecil terhadap jaringan, untuk meningkatkan afinitasnya perlu dikombinasikan dengan bahan lain sehingga dapat mempercepat proses pewarnaan terhadap inti sel. Hematoksilin bekerja sebagai pewarna basa dan akan mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoksilin

mewarnai inti menjadi biru karena inti sel mempunyai sifat asam sehingga akan menarik zat warna yang bersifat basa. Agar pewarnaan pada inti sel tampak lebih jelas, maka perlu diberikan warna pewarna pembanding (*counter stain*) yaitu pewarna sitoplasma. Eosin bersifat asam sehingga akan mewarnai komponen asidofilik jaringan seperti sitoplasma menjadi warna merah muda. Eosin Y digunakan sebagai zat warna pembanding (*counter stain*) pada metode pewarnaan Hematoksilin Eosin (Setiawan, 2016)(Sudiana, 2005).

Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) telah digunakan selama berabad-abad sejak tahun 1905 dan masih digunakan sebagai teknik diagnostik primer di laboratorium histopatologi untuk mengevaluasi morfologi suatu jaringan. Proses pewarnaan Hematoksilin dan Eosin memerlukan beberapa tahapan diantaranya deparafinasi untuk mengeluarkan sisa parafin dari jaringan, rehidrasi untuk memasukkan kembali air ke dalam jaringan, pemulasan dengan pewarna utama hematoksilin, differensiasi dengan larutan asam alkohol 0,1%, bluing dengan larutan ammonium carbonate atau lithium carbonate, pewarnaan pembanding dengan eosin Y, dehidrasi sediaan, penjernihan, mounting dengan ditetesi entelan atau canada balsam dan ditutupi cover glass untuk mencegah terbentuknya gelembung. Setelah proses tersebut, sediaan pewarnaan jaringan dapat diamati dibawah mikroskop. Dari serangkaian proses pewarnaan sediaan jaringan, salah satu tahap awal yang penting dilakukan adalah proses deparafinisasi. (Bancroft & Gamble, 2008) (Fieldman & Delia, 2014) (Brown & Lurie, 2012)

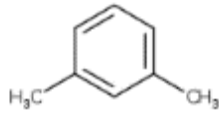
### 2.1.3. Deparafinisasi

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 ( Mansoura, Chatila, Bejjani, Dagher, & Faour, 2014).

Parafin yang bersifat nonpolar dalam jaringan harus dihilangkan karena dengan adanya parafin, air tidak dapat masuk pada jaringan. Terdapat beberapa faktor yang mengakibatkan kegagalan proses deparafinisasi diantaranya adalah pemilihan suhu, proses yang tidak sesuai prosedur, penggunaan reagen yang tidak teratur dan tidak tepat sehingga proses pewarnaan terganggu karena air tidak dapat masuk ke dalam jaringan untuk mewarnai komponen sel. (Miranti, 2010) (Bancroft & Gamble, 2008) (Fieldman & Delia, 2014).

Oleh karena itu, proses penggantian parafin (deparafinisasi) menjadi salah satu tahapan penting dalam pewarnaan sediaan jaringan. Salah satu sifat parafin yaitu tidak dapat larut dalam air (hidrofobik) sehingga parafin harus larut menggunakan pelarut nonpolar. Pelarut nonpolar yang banyak digunakan dalam proses deparafinisasi adalah xylol (Akmalia, 2018).

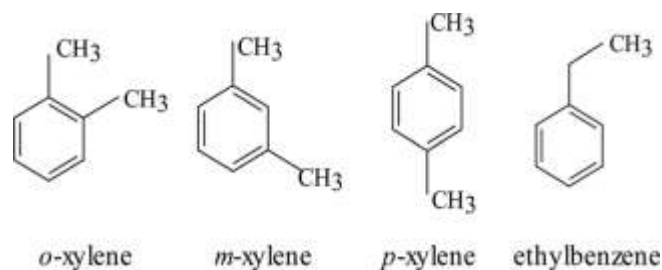
### 2.1.4. Xylol



Sumber: (Hazardous Substances Data Bank, 2007)

**Gambar 2.1.** Struktur molekul xylol

Nama xylol/xylene (*dimethylbenzena*) dengan rumus kimia  $C_6H_4(CH_3)_2$ , berasal dari bahasa latin “wood xulon” karena xylol dapat diperoleh dari hasil destilasi kayu tanpa adanya oksigen yang terdapat secara alami dalam minyak bumi atau diproduksi di industri kimia dari minyak bumi. Xylol memiliki struktur aromatik hidrokarbon dengan enam cincin karbon pusat dan dua gugus metil yang terikat pada substituen. Xilol memiliki isomer di mana gugus metil yang bervariasi pada cincin benzene diantaranya *meta-* xylene, *ortho-* xylene, dan *para-*xylene (m-, o-, dan p-xylene). (Ananthaneni, et al., 2014; Reena, Raghavendra, & Rajasekharan, 2010; Hazardous Substances Data Bank, 2007)



Sumber : (Zhou Y, Wu, & Lemmon, 2012)

**Gambar 2.2.** Struktur isomer xylol

Kegunaan xylol terutama pada laboratorium terdiri dari m-xylene (40-65%), p-xylene (20%) dan o-xylene(20%). Xylol adalah cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar dengan bau manis. Xylol digunakan sebagai *clearing agent* pada prosesi 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. Dengan struktur dan rumus kimia khas yang dimiliki xylol menyebabkan terdapat beberapa sifat seperti sifat kimia dan fisika. (Jacobson & McLean, 2003) (Myers & Richard, 2007) (Buesa & Peshkov, Histology Without Xylene, 2009)

**Tabel 2.1.** Sifat Fisika dan Kimia Xylol

Mixed Xylene (Chemical formula of $C_6H_4(CH_3)_2$ )				
Property	Mixed xylene	m-Xylene	o-Xylene	p-Xylene
Synonyms/trade name	Dimethylbenzene	1,3-Dimethylbenzene	1,2-Dimethylbenzene	1,4-Dimethylbenzene
CAS number	1330-20-7	95-47-6	108-38-3	106-42-3
Molecular weight g/mol	106.16	106.16	106.16	106.16
Color	Clear	Colorless	Colorless	Colorless
Physical state	Liquid	Liquid	Liquid	Liquid
Melting point	No data	-47.8 °C	-25.2 °C	13.2 °C
Boiling point	137-140 °C	139.1 °C	144.5 °C	138.4 °C
Viscosity (20°C)	No data	0.62 cP	0.812 cP	0.34 cP
Density (20°C)	0.864 g/cm <sup>3</sup>	0.864 g/cm <sup>3</sup>	0.880g/cm <sup>3</sup>	0.880g/cm <sup>3</sup>
Odor	Sweet	Sweet	Sweet	Sweet
Flash point	29 °C	27 °C	32 °C	27 °C
Conversion Factors in Air	0.0045 mg/L (1.0 ppm)	0.05 ppm	0.05 ppm	0.05 ppm
Solubility: Water at 25 °C	106 mg/L	161 mg/L	178 mg/L	162 mg/L
Organic solvent(s)	Misciblewith alcohol and Ether	Misciblewith alcohol, ether, and other solvents	Misciblewith alcohol and ether	Solublein alcohol, ether, and other organic solvents
Partition coefficient: Log $K_{ow}$	No data	3.2k	3.12k	3.15k
Log $K_{oc}$	No data	2.22	2.11	2.31
Vapour pressure	16.72 mmHg at 21 <sup>o</sup> c	8.29 mmHg 25 <sup>o</sup> c	16.61 mmHg 25 <sup>o</sup> c	18.84 mmHg 25 <sup>o</sup> c

Sumber : (Hazardous Substances Data Bank, 2007)

Meskipun penggunaan xylol sangat berguna, tetapi terdapat dampak yang mengarah pada bahaya kesehatan. Bahaya paparan xylol berupa uap dapat dengan cepat diserap melalui paru-paru dan perlahan melalui kulit. Selain itu, pemaparan xylol dalam jangka waktu lama juga dapat menyebabkan dampak yaitu terjadi akumulasi di dalam jaringan terutama jaringan adiposa dan otot. Studi menyebutkan 21 dari 125 wanita pekerja laboratorium dan peneliti yang terpapar xylol mengalami potensi 13 kali lebih tinggi terjadinya malformasi pada janin akibat adanya paparan xylol. Setelah tahun 1970, adanya bahaya xylol yang tidak dapat terbantahkan, semakin banyak data lainnya yang menunjukkan bahaya xylol terhadap kesehatan (Buesa & Peshkov, *Histology Without Xylene*, 2009; T.Rajan & N.Malathi, 2014).

**Tabel 2.2** Bahaya Paparan Xylol terhadap kesehatan

No.	Sistem	Efek
1.	Sistem Saraf	100–200 ppm → mual dan sakit kepala 200–500 ppm → pusing, lemas 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: (Kandyala, SC, & Rajasekharan ST, 2010)



Penggunaan xylol oleh pekerja dalam suatu kelompok tertentu berisiko lebih tinggi terpapar xylol dengan konsentrasi tinggi. Banyaknya dampak dari bahaya paparan xylol tersebut maka beberapa lembaga internasional telah menentukan nilai ukuran toksisitas untuk xylol. Kementrian tenaga kerja menetapkan nilai ambang batas sebesar 434 mg/m<sup>3</sup> selama 8 jam. Nilai ambang batas (NAB) merupakan konsentrasi dari zat, uap, atau gas dalam udara yang dapat dihirup selama 8 jam per hari selama 5 hari/minggu, tanpa menimbulkan gangguan kesehatan yang berarti dari penggunaan xylol tersebut. Upaya lain yang dapat dilakukan yaitu dengan mengganti larutan pengganti xylol sebagai agen deparafinisasi yang lebih aman. (Imamkhasani, 1992; Reena, Raghavendra, & Rajasekharan, 2010)

#### **2.1.5. Larutan Pengganti Xylol**

Salah satu larutan pengganti xylol sebagai agen deparafinisasi yang lebih aman tanpa mengganggu kualitas hasil pemeriksaan yaitu larutan pencuci piring dengan hasil pemeriksaan yang memadai untuk diagnosis dalam lebih dari 95% uji coba. Keberhasilan penelitian dalam penggunaan larutan pencuci piring sebagai agen deparafinisasi dibuktikan pertama kali oleh Falkeholm *et al.* di tahun 2001. (Raj, Divya, & Kumar, 2018) (Falkeholm, Grant, & Möller, 2001).

Kemudian dilanjutkan pembaharuan oleh Ankle *et al.* pada tahun 2011 dengan menggunakan sistem penilaian terhadap beberapa parameter kualitas Pewarnaan Hematoxilin Eosin, diantaranya yaitu kualitas pada pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma sel, kejelasan pewarnaan, keseragaman pewarnaan dan kerenyahan pewarnaan. Setiap parameter diamati dan dinilai oleh ahli patologi secara objektif,

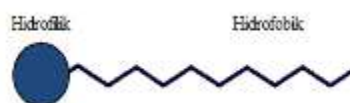
nilai 1 untuk hasil yang memadai dan nilai 0 untuk hasil yang tidak memadai. Penilaian ini kemudian dijadikan sebagai penilaian standar untuk para peneliti selanjutnya (Ankle & Joshi, 2016)

Dalam perkembangannya, penelitian mengenai penggunaan larutan pencuci piring sebagai agen deparafinisasi banyak dilakukan untuk hasil yang lebih memuaskan dan pemanfaatan yang lebih optimal. Salah satu perbedaan yang ditemukan dari beberapa penelitian yang sudah dilakukan yaitu konsentrasi larutan pencuci piring.

#### 2.1.5.1. Larutan Pencuci Piring sebagai Agen deparafinisasi

Larutan pencuci piring merupakan deterjen cair yang digunakan sebagai pembersih gelas, piring, panci dan beberapa peralatan dapur lainnya. Penggunaan larutan pencuci piring yang diencerkan sebagai agen deparafinisasi ini memiliki komponen utama yaitu adanya campuran beberapa surfaktan. (Pandey, Dixit, Tanwar, Sharma, & Mittal, 2014).

##### A. Surfaktan



Sumber : (Farn, 2006)

**Gambar 2.3.** Struktur molekul surfaktan

Surfaktan berasal dari kata *surface active agent* adalah molekul-molekul yang mengandung gugus hidrofilik (suka air) dan lipofilik (suka minyak/lemak) pada molekul yang sama dengan kemampuan dapat mempengaruhi sifat permukaan (*surface*) dan antarmuka (*interface*). Struktur surfaktan terbagi menjadi

dua bagian yaitu kepala dan ekor. Gugus lipofilik terdapat di bagian ekor (non polar) dan Gugus hidrofilik berada di bagian kepala (polar) . (Sheats & Foster, 1997) (Warren S, 1998)

Bagian polar molekul surfaktan dapat bermuatan positif, negatif atau netral. Umumnya bagian non polar (lipofilik) adalah rantai alkil yang panjang, sementara bagian yang polar (hidrofilik) mengandung gugus hidroksil.

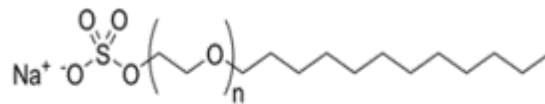
Berdasarkan gugus hidrofiliknya, surfaktan dikelompokkan kedalam beberapa jenis, diantaranya:

- a. Surfaktan kationik adalah senyawa yang bermuatan positif pada bagian aktif permukaan (surface-active) atau gugus antar muka hidrofobiknya (hydrofobic surface-active).
- b. Surfaktan nonionik adalah surfaktan yang tidak bermuatan atau tidak terjadi ionisasi molekul tetapi turunannya dapat larut dalam air dari gugus polar yang tinggi.
- c. Amfoterik (zwitterionic) yaitu molekul paduannya bermuatan positif dan negatif, dimana muatannya bergantung kepada pH. Pada pH tinggi dapat menunjukkan sifat anionik dan pada pH rendah dapat menunjukkan sifat kationik.
- d. Surfaktan anionik adalah senyawa yang bermuatan negatif dalam bagian aktif permukaan (surface-active).

Contoh: karboksil ( $\text{RCOO}^- \text{M}^+$ ), sulfonat ( $\text{RSO}_3^- \text{M}^+$ ), sulfat ( $\text{ROSO}_3^- \text{M}^+$ ), atau fosfat ( $\text{ROPO}_3^- \text{M}^+$ ). (Myers D. , 1987)

Surfaktan dari kelompok anionik adalah yang paling sering digunakan sebagai bahan pencucian, terutama pada larutan pencuci piring. Selain surfaktan ionik, terdapat surfaktan jenis lain diantaranya yaitu: Lauril Eter Sulfat (SLES), Sodium lauryl sulfate (SLS), Sodium Alkilbenzena sulfonat linier (LAS) dan Kokamidopropil Betain (CAPB). (Taufik, 2006) (Pandey, Dixit, Tanwar, Sharma, & Mittal, 2014)

### 1. Sodium Lauril Eter Sulfat (SLES)



Sumber : (Leo F.W,dkk, 2017)

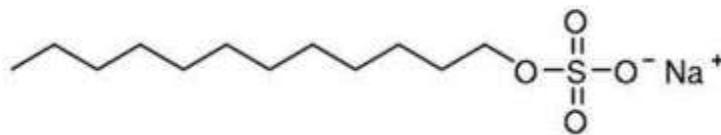
**Gambar 2.4.** Struktur molekul SLES

Sodium Lauril Eter Sulfat (SLES) adalah surfaktan anionik yang paling banyak digunakan dalam kosmetika atau produk-produk perawatan diri. SLES memiliki pH antara 7-9, senyawa yang mudah mengental dengan garam dan memiliki kelarutan dalam air yang baik. Kesesuaian SLES terhadap kulit dan mata dapat diterima pada kebanyakan penggunaannya yang dapat ditingkatkan melalui kombinasi dengan surfaktan sekunder yang tidak terlalu kuat. (Spiess, 1996)

SLES memiliki rumus formula  $C_{12}H_{26}Na_2O_5S$  yang memiliki bentuk pasta kental berwarna putih atau kuning cerah, tidak berbau, hampir tidak larut dalam air, praktis larut dalam aseton, praktis larut dalam etanol dengan

berat molekul 328,38 gmol, berat jenis 1,03 gr/cm<sup>3</sup> (20°C), PH 7,5 - 8,5 pada 10% dalam air, titik didih 100°C. .Dengan nama lain Fattyalkohol (C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub>) eter sulfat; Lauril eter sulfat, biasanya digunakan dalam deterjen cair seperti cairan pencuci piring, sampo, sabun mandi cair, cairan pencuci piring. (Shipp, 1996)

## 2. Sodium lauryl sulfate (SLS)



Sumber : (Calvero, 2006)

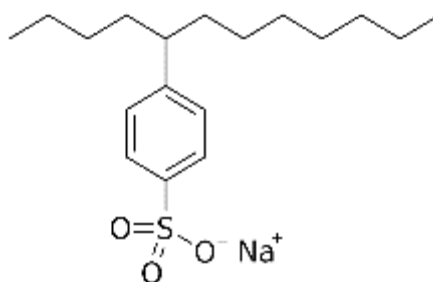
**Gambar 2.5.** Struktur molekul SLS

Sodium lauryl sulfat (SLS) adalah salah satu surfaktan anionik dengan rumus kimia C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>SO<sub>4</sub>Na, juga dikenal sebagai sodium laurilsulfate atau sodium dodecyl sulfate, adalah surfaktan anionik yang biasa digunakan sebagai zat pembersih pengemulsi dalam produk pembersih rumah tangga (deterjen, pembersih semprot, dan deterjen pencuci piring). Konsentrasi SLS yang ditemukan dalam produk konsumen bervariasi menurut produk dan pabrikan tetapi biasanya berkisar antara 0,01% hingga 50% dalam produk kosmetik dan 1% hingga 30% dalam produk pembersih. (CIR, 1983) (CIR, 2005) (Bondi, Marks , Wroblewski , & Raatikainen, 2015)

### 3. Alkilbenzena sulfonat linier (LAS)

Alkilbenzena Sulfonat Linier (LAS) adalah campuran sangat kompleks yang mengandung rantai alkil mulai dari 10 hingga 13 unit karbon (C10-C13). Kelompok surfaktan anionik ini umumnya digunakan dalam deterjen dan produk pembersih dalam bentuk garam natrium untuk keperluan rumah tangga dan industri. (Santi, 2009) (Wolf & Feijtel, 1998)

Sifat-sifat LAS sangat berbeda tergantung pada panjang rantai alkil dan posisi pada kelompok benzena sulfonat. Salah satu jenis surfaktan ini yaitu Sodium Dodecyl Benzene Sulfonate (SDBS).



Sumber : (USDA, 2017)

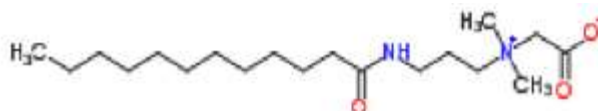
**Gambar 2.6.** Struktur molekul SDBS

Sodium Dodecyl Benzene Sulfonate (SDBS) merupakan jenis surfaktan anionik yang mempunyai gugus nonpolar berupa rantai alkil panjang dan gugus benzena yang bermuatan negatif dan bersifat hidrofobik. Gugus benzena yang juga bersifat nonpolar mempunyai sifat yang stabil sehingga sulit untuk terdegradasi (Graziano , 1999) (Britton, 1998)

Sifat surfaktan ini tidak berwarna dengan rumus  $C_{12}H_{25}C_6H_4$ . SDBS umumnya merupakan salah satu komponen campuran senyawa dengan

Panjang rantai alkil mulai dari C10-C16 yang populer digunakan dalam deterjen. (USDA, 2017)

#### 4. Kokamidopropil Betain (CAPB)



Sumber : chemspider

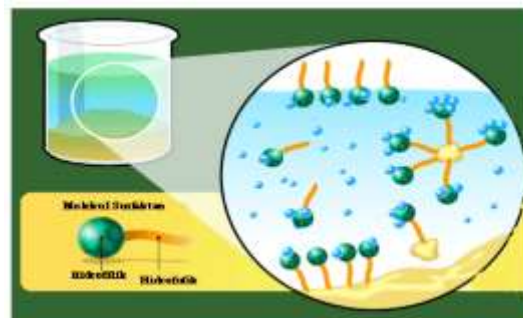
**Gambar 2.7.** Struktur molekul CAPB

Alkil betain merupakan turunan N-tri alkil asam amino ( $(R_1R_2R_3)N^+CH_2COOH$ ), diklasifikasikan sebagai kationik karena menunjukkan muatan positif permanen. Karena betain juga mempunyai kelompok fungsional bermuatan negatif dalam kondisi pH netral dan basa, maka disebut sebagai surfaktan amfoterik. Muatan positif betain berasal dari nitrogen kuartener sedangkan situs anioniknya berasal dari karboksilat (betaine), sulfat (sulfobetaine atau sultaine), atau fosfat (phosphobetaine atau phostaine). (Paye, Barel, & Maibach, 2006)

Sedangkan betain menurut Barel dkk. (2009) merupakan surfaktan dengan sifat pembusa, pembersih dan pengemulsi yang baik, khususnya dengan keberadaan surfaktan anionik. Betain memiliki efek iritasi yang rendah pada mata dan kulit, dengan adanya betain ini dapat menurunkan efek iritasi surfaktan anionik. Hal ini terbukti dari penelitian Teglia dan Secchi (1994), cocamidopropyl betaine dapat menurunkan iritasi dengan efek yang mirip dengan wheat protein ketika ditambahkan ke dalam

larutan sodium lauryl sulfate. Baik wheat protein maupun cocamidopropyl betaine dapat melindungi kulit dari iritasi. (Barel, Paye, & Maibach, 2009) (Teglia A, 1994)

## B. Mekanisme Kerja Surfaktan



Sumber : (Wilson, 2008.)

**Gambar 2.8** Mekanisme Kerja Surfaktan

Larutan pencuci adalah senyawa yang jika larut dalam air, akan bersifat surfaktan (Surface Active Agent) yaitu menurunkan tegangan permukaan air karena adanya proses pematahan ikatan hydrogen pada lapisan permukaan. Hal ini terjadi sebagai akibat adanya perbedaan sifat antara gugus molekul . gugus hidrofobik sabun akan menempel pada kotoran/minyak dan gugus hidrofilik menempel pada air. (Ghaim & Volz, 1995) (Fessenden & Fessenden, 1992)

Kehadiran gugus hidrofobik dan hidrofilik yang berada dalam satu molekul menyebabkan surfaktan cenderung berada pada antar muka antara fasa yang berbeda derajat polaritas dan ikatan hidrogen seperti minyak dan air. Bila surfaktan yang telah mengikat zat pengotor atau



lemak terkumpul, maka bagian yang bersifat non polar akan mengikat kotoran tersebut dan akan membentuk kelompok (50 – 150 molekul) yang disebut micelle. Micelle ini terbentuk sebagai akibat dari peningkatan antara gugus hidrofobiknya berada pada bagian luar atau permukaan micell tergantung konsentrasi surfaktan yang terdapat pada larutan. (Fessenden & Fessenden, 1992) (Georgiou et al, 1992)

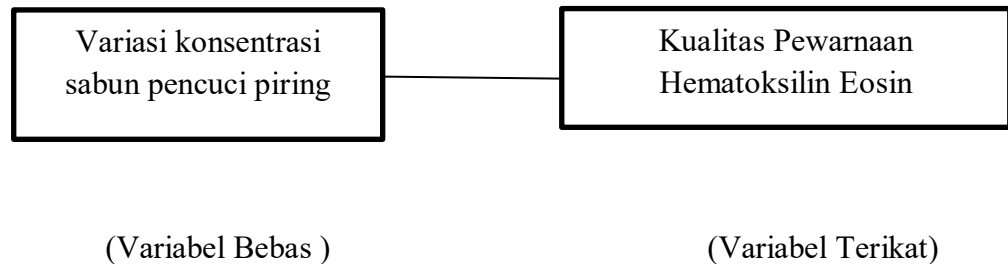
### **C. Konsentrasi Larutan**

Konsentrasi larutan adalah komposisi yang menunjukkan dengan jelas perbandingan jumlah zat terlarut terhadap pelarut yang akan menentukan sifat-sifat suatu larutan. Larutan pencuci piring yang tersedia di pasaran memiliki konsentrasi yang sudah diatur sebaik mungkin oleh pabrik sehingga aman untuk digunakan dengan berbagai komposisi yang beragam, salah satunya terhadap kandungan konsentrasi surfaktan. (Ramaswamy & Dayasagar, 2017) (Khikmah, 2015)

Konsentrasi surfaktan dalam larutan dapat diketahui dari penentuan Konsentrasi Kritis Misel (KKM) (hendayana). Pada konsentrasi Kritis Misel menunjukkan perubahan sifat fisik pada konsentrasi tertentu yang ditandai adanya pembentukan agregat atau penggumpalan dari beberapa molekul surfaktan menjadi satu. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi nilai KKM diantaranya yaitu suhu dan konsentrasi. Sifat surfaktan bersama dengan suhu tinggi 90°C pada penggunaan larutan pencuci piring dapat mengurangi tegangan permukaan sehingga

membantu melarutkan lilin dalam proses *deparafinisasi* (Hendayana, 1994) (Adamsons, 1982)

## 2.2. Kerangka Konsep



**Gambar 2.9** Bagan Kerangka Konsep

## 2.3. Definisi Operasional

### 1. Variasi konsentrasi larutan pencuci piring

Berbagai jumlah larutan pencuci piring dalam bentuk % (persen) yang diperoleh dari hasil pengenceran dengan air sebagai bahan pelarut.

### 2. Kualitas Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Ukuran baik atau buruknya pewarnaan pada sediaan dengan melakukan penilaian terhadap parameter yang telah ditentukan.

- a. Pewarnaan Inti : Kemampuan zat warna mewarnai jaringan. Inti sel yang bersifat asidofilik akan terwarnai oleh pewarna basa (Hematoksilin) sehingga berwarna biru .
- b. Pewarnaan Sitoplasma : Kemampuan zat warna mewarnai jaringan. Sitoplasma sel yang bersifat basofilik akan terwarnai oleh pewarna asam (eosin) sehingga berwarna merah .

- c. Kejelasan Pewarnaan : Keadaan sediaan hasil pewarnaan Hematoksilin Eosin yang tampak jernih dan tidak bercampur dengan bahan pengotor
- d. Keseragaman Pewarnaan : Keadaan sediaan hasil pewarnaan Hematoksilin Eosin yang tampak sama terhadap kesesuaian bentuk dan warna yang tersebar rata pada setiap komponen jaringan yang terwarnai
- e. Kerenyahan Pewarnaan : Keadaan sediaan hasil pewarnaan Hematoksilin Eosin yang tampak utuh dan kering tanpa sisa cairan zat pewarna.